

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**

**CENTRO MEDICO NACIONAL 20 DE
NOVIEMBRE**

**Determinación de Her-2/neu: Concordancia entre
Inmunohistoquímica (IHQ) e Hibridación in Situ con
Fluorescencia en casos de Carcinoma de Mama Negativos por
IHQ, tanto para Her-2/neu, como para Receptores de
Estrógenos y Progesterona.**

T E S I S

Que para obtener el título de

**ESPECIALISTA EN
ANATOMÍA PATOLÓGICA**

P R E S E N T A :

DRA. GABRIELA FRANCISCA GARZA SOLÍS

DRA. MARÍA TERESA GORRÁEZ DE LA MORA.
Profesora titular del curso de especialización y Asesora de tesis.



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

AUTORIZACIÓN DE TESIS

Determinación de Her-2/neu: Concordancia entre Inmunohistoquímica (IHQ) e Hibridación in Situ con Fluorescencia en casos de Carcinoma de Mama Negativos por IHQ, tanto para Her-2/neu, como para Receptores de Estrógenos y Progesterona.

Dra. Marcela G. González de Cossio Ortiz
Subdirectora de Enseñanza e Investigación

Dra. María Teresa Gorráez de la Mora
Profesora titular del curso de especialización en Anatomía Patológica y
Asesora de Tesis

Dra. Gabriela Francisca Garza Solís
Autora de la Tesis

INDICE

1. Antecedentes	5
2. Planteamiento del problema	7
3. Justificación	8
4. Hipótesis	9
5. Objetivos	10
6. Material y métodos	11
7. Resultados	14
8. Discusión	15
9. Referencias bibliográficas	17
10. Anexos:	
• 1. Formato A para la recolección de datos	19
• 2. Formato B para la recolección de datos	22
• 3. Método para la evaluación del grado histológico	23
• 4. Tablas y gráficos	24

RESUMEN

Objetivo: Determinar la concordancia entre Inmunohistoquímica (IHQ) e Hibridación in situ con fluorescencia (FISH) en la evaluación de Her-2/neu en carcinomas de mama que no expresen receptores de estrógenos o progesterona ni sobreexpresen Her-2/neu mediante IHQ (triple negativos) y definir las características histopatológicas de los mismos.

Métodos: Los casos estudiados proceden de distintos hospitales. Se realizó FISH a los casos triple negativos y a un grupo testigo que expresara receptores hormonales y/o Her-2/neu. Se evaluó la concordancia entre ambas pruebas y se calculó la sensibilidad, especificidad y valores predictivos en ambos grupos.

Resultados: De 99 casos estudiados, 15.5% fueron triple negativos (IC 95% 8.7-23.7), al evaluar sobreexpresión de Her-2/neu, la concordancia entre IHQ y FISH fue de 100% tanto en el grupo problema como en el testigo, calculándose para la IHQ en esta aplicación, una especificidad de 100% (IC 95% 78.2-100). 7 casos (46.5%) fueron grado 2, y 7 más grado 3, dos de los cuales correspondieron a variante medular.

Conclusiones: La IHQ es altamente específica para evaluar Her2/neu en casos triple negativos, los cuales constituyen una proporción importante de los carcinomas mamarios. Los datos obtenidos pueden servir como antecedente para el desarrollo de estudios clínicos, terapéuticos y genéticos, así como para la planeación de insumos a mediano y largo plazo.

ANTECEDENTES

El cáncer de mama es la segunda neoplasia maligna más frecuentemente diagnosticada y la segunda causa de muerte por cáncer en mujeres en edad reproductiva de nuestro país, con un comportamiento ascendente en los últimos 20 años teniendo por tanto, a nivel nacional y mundial, importantes repercusiones socioeconómicas.

Se han identificado factores pronósticos y predictivos de esta neoplasia. Los primeros relativos al comportamiento esperado de la enfermedad y los segundos referentes a la respuesta probable al tratamiento. Entre éstos últimos destaca la expresión en células tumorales, de receptores hormonales de estrógenos y progesterona (RE y RP) y la sobreexpresión del receptor Her-2/neu, los cuales cobran particular importancia cuando dado el estadio avanzado de la enfermedad, sólo es posible ofrecer prevención terciaria, fenómeno que ocurre en nuestro país, donde la mayor parte de los casos están en estadio III o IV al momento del diagnóstico.^{1,2.}

Para todas las pacientes con carcinoma invasor independientemente del estadio, y para algunas pacientes con carcinoma in situ, se recomienda la hormonoterapia si las células tumorales expresan receptores nucleares para estrógenos y/o progesterona, que como es sabido, pertenecen a la familia de receptores de hormonas esteroideas cuyo papel fundamental en la glándula mamaria tanto normal como neoplásica consiste en el crecimiento y proliferación celular. Así mismo, en los últimos años, se ha aprobado también el uso de anticuerpos monoclonales contra Her-2/neu, en pacientes con enfermedad sistémica cuyos tumores expresen esta proteína transmembrana, miembro de la familia de receptores de factores de crecimiento epidérmico (EGFR por sus siglas en inglés) que no sólo inicia su actividad de tirosina cinasa por un ligando (probablemente heregulina) sino también por la interacción con otros EGFR activados entre sí o por ligandos diferentes al receptor del factor de crecimiento, culminando en la alteración del ciclo y diferenciación celulares.^{2,3,4.}

La expresión de estos tres biomarcadores (RE, RP y Her-2/neu) en tumores mamarios ha sido ampliamente estudiada, al igual que su relación con el grado y subtipo histológico del tumor, lo que podría resumirse como sigue:

- Entre el 60 y 70% de los carcinomas mamarios expresan RE, RP o ambos, mientras que un 20-35% expresan Her-2/neu. La expresión de los primeros se asocia con un grado histológico bajo (tumores bien diferenciados) y con respuesta favorable a tratamiento con antagonistas estrogénicos hasta en un 70% de las pacientes. Por otra parte, la sobreexpresión de Her-2/neu, se ha relacionado con tumores de alto grado (poco diferenciados), con alto índice de proliferación celular, ganglios positivos, pronóstico desfavorable, y aún predecir la respuesta a algunos agentes quimioterapéuticos siendo blanco potencial para terapia sistémica inmuno-específica.^{4,5,6.}
- Se podría esperar por lo anterior, que cuando un tumor es de bajo grado, exprese RE y/o RP, pero rara vez Her-2/neu, y que ocurra lo contrario cuando es de alto grado, (sobreexpresión de Her-2/neu, y

ausencia de receptores hormonales) es decir, se espera que la mayor parte de tumores expresen al menos 1 de los 3 biomarcadores.

- Aún así, se estima que entre 20 y 30% de los carcinomas mamarios, son negativos tanto para receptores hormonales como para Her-2/neu (“triple negativos”) y se les relaciona con alto grado histológico, mayor número de ganglios positivos, mutación de los genes BRCA 1 y 2 y menores periodos de vida libres de enfermedad.^{7,8.}

Estos casos serán el centro de esta investigación, encontrarlos es perfectamente posible desde el punto de vista biológico, pero también es posible que el tejido no sea apto para la inmunomarcación por defectos en su procesamiento y/o conservación.

A este respecto debo mencionar que más de 50% de los tejidos correspondientes a carcinoma de mama que se procesan con inmunorreacciones en nuestro laboratorio, se reciben provenientes de otros hospitales institucionales o privados, y ya incluidos en bloques de parafina, esto es: no podemos asegurar que hayan sido conservados y procesados con los mismos métodos llevados a cabo en nuestro servicio y que permiten de manera ordinaria optimizar la recuperación de antígenos para inmunomarcación. Surge entonces una pregunta:

¿Se pueden encontrar problemas en la recuperación de antígenos, aunque el tejido no muestre cambios por mal procesamiento detectables en el corte histológico examinado con microscopio de luz?

Se ha demostrado que la inmunohistoquímica (IHQ), es el procedimiento de elección para determinar la expresión de receptores hormonales en tumores de mama, y aunque con un *adecuado procesamiento del tejido*, control de calidad y volúmenes altos de casos evaluados por año, se consigue una concordancia muy alta (98%) entre la IHQ y la Hibridación in situ con fluorescencia (FISH por sus siglas en inglés), *ésta es el estándar de oro para la evaluación de Her-2/neu* (actualmente, la técnica de FISH se recomienda sólo para casos “no concluyentes” por inmunohistoquímica; esto es, positivos (2+), biopsias por trucut o tejido mal fijado).^{2,9,10,13.}

Considerando todo lo anterior, ¿Es confiable un diagnóstico histopatológico que determine negatividad para Her-2/neu, en casos triple negativos, únicamente con base en la evaluación por inmunohistoquímica?

Finalmente estamos hablando de las alternativas de tratamiento de un paciente; es entonces primordial asegurar que estos casos no son falsos negativos, lo cual se conseguiría comparando los resultados obtenidos con ambas técnicas.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

¿ Es necesario realizar la evaluación de Her-2/neu por medio de hibridación in situ con fluorescencia , en casos de carcinoma de mama que muestren negatividad por inmunohistoquímica tanto para Her-2/neu, como para receptores de estrógenos y de progesterona ?

JUSTIFICACIÓN

El cáncer de mama es actualmente la 2da causa de muerte por neoplasia en población femenina de nuestro país, su tasa de mortalidad se ha incrementado 64% en los últimos 20 años, siendo en 1997 de 10.2/100,000 mujeres mayores de 15 años. Los datos anteriores semejan cada vez más a los observados en países industrializados.¹ Tan sólo en nuestro hospital, de 9,500 biopsias que se revisan en promedio cada año, alrededor de 300 corresponden a tejido mamario con carcinoma.

La edad de presentación es predominantemente en mayores de 50 años, sin embargo, estudios más acuciosos de detección oportuna en grupos de riesgo revelan un mayor número de casos en población económicamente activa. En países desarrollados, 80% de los tumores malignos de la mama se diagnostican en estadios tempranos (I ó II), en México, lamentablemente sólo 30% se identifican en esta etapa, por lo que las pacientes tienen menores expectativas en cuanto a sobrevivencia y calidad de vida.

La detección temprana y tratamiento oportuno aumentan la tasa de sobrevivencia a 5 años hasta en un 80%, disminuyendo notablemente los costos, y particularmente, para el caso de la quimioterapia adyuvante, el tratamiento para mujeres con tumores con receptores estrogénicos positivos es de 3 a 5 veces menos costoso que para mujeres con tumores que no los expresan. Por otra parte, las pacientes con tumores de mama “triple negativos” son particularmente difíciles de tratar, ya que suelen responder mal a los agentes quimioterapéuticos habituales.^{1,4,7.}

No encontramos hasta la fecha estudios semejantes al presente en nuestro país y tanto por las implicaciones pronósticas para cada paciente en particular, como por la planeación de insumos diagnósticos y terapéuticos en general, es decisivo detectar casos falsos negativos y estimar la frecuencia con la que debemos esperar que se presenten casos triple negativos.

HIPÓTESIS

Los carcinomas de mama que son negativos tanto para receptores de estrógenos y progesterona como para Her-2/neu por medio de inmunohistoquímica, sí sobreexpresan Her-2/neu, cuando son evaluados por medio de Hibridación in situ con fluorescencia.

OBJETIVOS

Objetivo General:

Determinar la concordancia entre IHQ y FISH en la evaluación de Her-2/neu en casos de carcinoma de mama que muestren negatividad por IHQ tanto para Her-2/neu como para receptores de estrógenos y progesterona.

Objetivos Específicos:

1. Detectar casos falsos negativos a la sobreexpresión de Her-2/neu.
2. Sugerir, si los resultados apoyan nuestra hipótesis, la prueba de FISH para la determinación de Her-2/neu, y aún para RE y RP, en casos negativos por inmunohistoquímica para los 3 biomarcadores.
3. Estimar la frecuencia con la que podemos esperar que se presenten estos casos y las características histopatológicas asociadas (subtipo y grado).
4. Insistir en la estandarización de métodos para la conservación y proceso técnico de especímenes.
5. Contribuir a la mejor caracterización del cáncer de mama en nuestro medio, lo que ulteriormente podría ser útil tanto en el desarrollo de estudios clínicos, como en la planeación de insumos diagnósticos y terapéuticos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Tipo de estudio: Descriptivo, comparativo y abierto.

Muestra: La implementación de estudios de inmunohistoquímica en el servicio de Anatomía Patológica de este Centro Médico Nacional, inició en el año 2002, sin embargo, la evaluación sistemática con los 3 biomarcadores en estudio (receptores de estrógenos, progesterona y HER-2/neu) en biopsias de mama, se consolidó hasta mediados del año 2004, por lo cual decidimos para esta investigación, seleccionar los casos diagnosticados a partir de el 01 de enero de 2005 y hasta el 31 de julio de 2006.

Partiendo del número promedio de biopsias correspondientes a carcinoma de mama, en relación con el total de biopsias recibidas por año en nuestro servicio, se calculó una muestra para comparar proporciones binomiales, la cual arrojaría un poder estadístico mayor de 0.98, si estuviese constituida por lo menos con 100 casos;¹¹ se aplicó entonces el muestreo sistemático, partiendo de un universo de 372 casos, tomados del registro de solicitudes de inmunohistoquímica de nuestro laboratorio, completando una muestra de 124.

Criterios de inclusión: Casos de carcinoma de mama que cuenten con inmunotinciones para Her-2/neu, así como para receptores de estrógenos y de progesterona.

Criterios de exclusión:

- Que el tejido presente cambios por autólisis o por tratamiento previo que modifiquen su morfología e impidan su evaluación histopatológica con microscopio de luz.
- Que la neoplasia sea in situ.
- Que el caso estudiado corresponda a tejido neoplásico metastásico sin identificar tumor primario.
- Que el tejido tumoral sea insuficiente para definir el grado y/o subtipo histológico.

Criterios de eliminación: Que no se cuente con tejido disponible en parafina.

Grupo problema: Casos que por estudio de inmunohistoquímica no expresen RE, RP ni Her-2/neu.

Grupo testigo: Casos que por estudio de inmunohistoquímica expresen RE, RP y/o Her-2/neu.

Cédula de recolección de datos:

Se utilizaron 2 formatos para este propósito:

- En el primero se registraron los 124 casos que comprendía la muestra, describiendo de cada uno la edad de la paciente, el grado y subtipo histológico del tumor y la expresión de Her-2/neu y receptores hormonales en células tumorales. Anexo 1.
- En el segundo, se concentraron sólo los casos del grupo problema (triple negativos), y un número semejante de casos, seleccionados aleatoriamente, que presentaran positividad al menos para uno de los 3 biomarcadores (grupo testigo), su grado histológico, el resultado de la evaluación de Her-2/neu por medio de IHQ y mediante FISH. Anexo 2.

Descripción general de el estudio:

- De cada caso de nuestro universo, se determinará la variante y el grado histológicos, evaluado por microscopía de luz y aplicando los criterios de la OMS para dicho propósito (escala de Scarff Blomm Richardson modificada por Elston y Ellis)¹², tal como estipula la NOM-041-SSA2-2002. Ver Anexo 3.
- Para la inmunomarcación de receptores de estrógenos y de progesterona se utilizan en nuestro laboratorio, anticuerpos de la clona 1D5, isotipo IgG1, kappa, y de la clona 1A6, isotipo IgG1 (Dako Corp), respectivamente. La inmunomarcación de Her-2/neu se lleva a cabo con el sistema HercepTest® (Dako Corp).
- Se considera POSITIVA la expresión de receptores de estrógenos y progesterona si se identifica inmunoreacción nuclear en cualquier número de células tumorales siempre y cuando se disponga de testigos tisulares adecuados.¹³
- Para efectos de correlación entre la expresión de receptores hormonales con otras variables, se considerará caso positivo, si el tumor expresa receptores de estrógenos y/o receptores de progesterona.
- La evaluación de la sobreexpresión de Her-2/neu, es según la recomendación del fabricante del sistema HercepTest® como se resume a continuación, en base a la inmunorreacción de membranas de células neoplásicas:
 - Negativo: Menos de 10% de las células.
 - Negativo (1+): Más de 10% de las células con inmunorreacción débil en una parte de la membrana.
 - Positivo (2+): Más de 10% de las células con inmunorreacción débil a moderada en toda la membrana.
 - Positivo (3+): Más de 10% de las células con inmunorreacción intensa en toda la membrana.
- Se definirá el grupo problema y, de forma aleatoria, del mismo universo, un número de casos similar, pero que expresen alguno de los 3 biomarcadores mencionados .

- El investigador asociado, en este caso profesor titular y asesor de tesis, fungirá como segundo observador.
- Se recabará el material en parafina correspondiente a los casos de los grupos antes mencionados y se enviará al laboratorio externo* para determinación de Her-2/neu por medio de FISH, técnica llevada a cabo en cortes desparafinados, utilizando sonda dual fluoresceinada de Her-2 neu/centrómero 17 (Her FISH/Dako Cytomation®); las preparaciones se observan en microscopio de fluorescencia, son digitalizadas y revisadas en un analizador de imágenes.
- La amplificación genética es determinada por la proporción existente entre el número de señales que resultan de la hibridación del gen Her2 y el que resulta de la hibridación del centrómero del cromosoma 17, utilizado como referencia. Se considera que existe amplificación del gen Her-2, si la proporción antes descrita es mayor de 2.2 y/o un número de copias del gen Her-2 mayor de 4 por célula.

Análisis de datos: Una vez recabados los datos y contando con los resultados de la prueba de Hibridación in situ para los casos del grupo problema y del grupo testigo, se describirán y analizarán los siguientes puntos:

- Número de casos estudiados.
- Grupos etarios.
- Grado y subtipo histológico.
- Expresión de receptores hormonales y sobreexpresión de Her-2/neu.
- Concordancia entre IHQ y FISH en la evaluación de la expresión de Her-2/neu (casos y testigos).
- Características histopatológicas de los casos y testigos.

Para el análisis estadístico se utilizaron los software:

- Epi Info 6.04.
- Primer Biostatistics 3.07

Métodos matemáticos para el análisis de datos:

1. Estadística descriptiva:
 - a) Tablas de frecuencia y tablas de contingencia.
 - b) Medidas de resumen estadístico
 - c) Gráficas de barras y circulares
2. Estadística inferencial:
 - a) Cálculo de sensibilidad y especificidad.
 - b) Construcción de intervalos de confianza para proporción poblacional:
 - Método binomial exacto para proporciones, sensibilidad y especificidad.
 - Método de Mantel-Haenszel para correlación entre receptores hormonales y Her-2/neu.

* Laboratorio de Patología Quirúrgica y Citología de Puebla S.C.

RESULTADOS

Del total de casos que constituían la muestra, se excluyeron 25. Los motivos de exclusión se muestran en la tabla 1.

Se evaluaron los 99 casos restantes, encontrando que, por grupos etarios, el 66% de los casos se presentaron en mujeres de entre 41 y 60 años (Gráfica 1) y el subtipo histológico predominante fue el ductal con un total de 79 casos. (Tabla 2).

Ahora bien; con respecto a la expresión de receptores de estrógenos, se encontró que 56.5% de los casos, fueron positivos, con un Intervalo de Confianza a 95% (IC 95%) de 46.2-66.5, 55.5% expresaron receptores de progesterona (IC95% 45.2-65.5) y por inmunohistoquímica, el 23.2% sobreexpresaron Her-2/neu (IC95% 15.3-32.8).

Al relacionar las variables anteriores entre sí, sólo 10.3% de los casos que expresaron receptores hormonales sobreexpresaron Her-2/neu, mientras que de los casos negativos a receptores hormonales, los positivos y negativos a Her-2/neu fueron 48% y 52%, respectivamente ($Ji^2 = 18.8$, $P=0.0000145$). (Tabla 3).

Se relacionó también el grado histológico de los casos con su estatus por inmunohistoquímica: receptores hormonales y Her-2/neu. $Ji^2 = 19.43$, $P=0.0003$. Los resultados se describen con detalle en la tabla 4 y se esquematizan en la gráfica 2.

Como se aprecia en dicha tabla, se encontraron 16 casos triple negativos, de los cuales, 1 se eliminó por no encontrarse disponible el bloque de parafina. Así, se consideraron 15 casos para nuestro estudio central, y 14 casos más como testigos.

Al comparar los resultados de la evaluación de Her-2/neu por IHQ y por FISH, se encontró una concordancia entre ambos de 100%. (Tablas 5 y 6).

La especificidad y valor predictivo negativo de la IHQ en el grupo problema y en el testigo se considera entonces de 100% con IC95% de 78.1-100 y 73.5-100, respectivamente; considerando casos y testigos, el intervalo es de 87.2-100. La sensibilidad y valor predictivo positivo (también de 100%) evaluada en los 2 casos del grupo testigo con IC95% muestra un intervalo de 15.8 a 100.

En cuanto a las características histopatológicas de los casos triple negativos, 1 fue grado 1, 7 grado 2 y 7 más grado 3; de éstos últimos, 2 corresponden a la variante medular, el resto son de tipo ductal. El grupo testigo estuvo constituido sólo por carcinomas ductales: 1 grado 1, 8 grado 2 y 5 grado 3.

DISCUSIÓN

Nuestra hipótesis fue rechazada. El valor predictivo negativo de la IHQ para determinar sobreexpresión de Her-2/neu en casos triple negativos es suficientemente alto para sugerir que en ausencia de alteraciones histológicas francas que denoten defectos en el procesamiento de un tejido con carcinoma de mama, no es necesario proceder a la evaluación de dicho biomarcador mediante FISH.

Independientemente del resultado, el diagnóstico sólo es el punto final de una serie de procedimientos que terminarán por influir directamente en las decisiones terapéuticas para un paciente por lo que debe seguirse insistiendo en su estandarización, poniendo especial énfasis en la fijación.¹³

Aunque no era uno de nuestros objetivos principales, este estudio nos permitió analizar el estatus de expresión de receptores hormonales y Her-2/neu, identificando que 57% del total de casos van a agruparse en la categoría “Receptores hormonales positivos, Her-2/neu negativo”, la mayoría de ellos con grado histológico 1 o 2.

Este comportamiento puede fácilmente concordar con las observaciones de la mayoría de los estudios que describen la expresión de los biomarcadores en estudio; sin embargo, lo que llama la atención es que la segunda tendencia de agrupación de los casos estudiados está en la categoría “Receptores hormonales negativos, Her-2/neu negativo”, es decir, considerando al 43% de los casos restantes, es 2 veces más probable encontrar casos “triple negativos” o “receptores hormonales negativos, Her2 positivo” que casos “triple positivos”.

La proporción encontrada de casos triple negativos, considerando el intervalo de confianza para proporción poblacional, concuerda con la literatura revisada.⁷ Lo mismo puede decirse de los grados histológicos prevalentes en dicho grupo.⁸

El haber detectado 2 carcinomas medulares en el grupo problema era hasta cierto punto esperado, sabemos que el estatus clásico de esta variante es “triple negativo” y que también se asocia con mutaciones BRCA1 y BRCA2.¹² Restaría dar seguimiento a este grupo de pacientes para definir las características clínicas, particularmente el estadio, factor que disminuye las diferencias que con implicaciones pronósticas se describen entre variantes histológicas.

Finalmente, esperamos que el presente estudio pueda servir como precedente para el desarrollo de nuevas investigaciones:

¿Se puede incluir a estas pacientes en algún ensayo terapéutico?

¿El estatus triple negativo puede considerarse como pauta para definir grupos prioritarios para estudio citogenético que detecte mutaciones de BRCA 1 y 2?

¿Podría ampliarse este estudio a familiares sanas?

¿Podrían estas últimas beneficiarse de medidas preventivas eficaces?

REFERENCIAS

- 1 Granados García M, Aguilar Ponce J L, Martínez Saíd H, Muñoz González D, Villaseñor Navarro Y. Cáncer de mama. Boletín Práctica Médica Efectiva (en línea) 2001 Abril (2006, 22 octubre); 3; 4 páginas. Obtenido de: <http://bvs.insp.mx>.
- 2 Piña Oviedo S, Ortiz Hidalgo C. Biomarcadores como factores pronósticos y predictivos en carcinoma de glándula mamaria. Criterios actuales de interpretación por inmunohistoquímica. Revista Latinoamericana de Patología 2006; 44: 45-59.
- 3 Comité Consultivo Nacional de Normalización de Prevención y Control de Enfermedades. NOM-041-SSA2-2002. Prevención, diagnóstico, tratamiento, control y vigilancia epidemiológica del cáncer de mama. Diario Oficial de la Federación. 2001. México, D.F.
- 4 Mincey, B A, Pérez E A. Advances in Screening, Diagnosis and Treatment of Breast Cancer. Mayo Clinic Proceedings: 2004; 79: 810-16.
- 5 Cabtree Brenda, Neme Yvette, Rivera Samuel, Olivares Guillermo. Receptores hormonales, HER-2/neu y p53 en pacientes con cáncer de mama. Gaceta Médica de Oncología 2005; 4: 17-33.
- 6 Brück Patrick, Vilches Natalia, Ramos Elizabeth, et al. Expresión de Her2-Neu en el adenocarcinoma ductal de la glándula mamaria: correlación con parámetros histopatológicos y expresión de receptores estrogénicos en pacientes mexicanas. Ginecología y Obstetricia de México 2006; 74: 516-22.
- 7 Herr A, Gluz O, Ting E, Mohrmann S, Werner F, Schuett G, et.al. Biological characteristics in triple negative high risk breast cancer and their clinical implications. Journal of Clinical Oncology: ASCO Annual Meeting Proceedings 2006; Part I: 24, No. 18S: Abstract 20032.
- 8 Kandel M, Stadler Z, Masciari S, Collins L, Schnitt S, Harris L. et. al. Prevalence of BRCA1 mutations in triple negative breast cancer. Journal of Clinical Oncology, ASCO Annual Meeting Proceedings 2006; Part I: 24, No. 18S: Abstract 508.
- 9 Ellis I, Bartlett J, Dowsett M, Humphreys S, Jasani B, Miller K, et al. Updated recommendations for HER2 testing in the UK. Journal of Clinical Pathology 2004; 57: 233-37.
- 10 Lewis F, Jackson P, Lane S, Coast G, Hanby A. Testing for HER2 in breast cancer (review). Histopathology 2004; 45: 207-17.
- 11 Rossner B. Fundamentals of Biostatistics. 4a ed. EUA. Ed. Duxbury Press. 1995. pp 383-85.

- 12 Tavassoli, F; Devilee, P (Eds): World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and Genetics of Tumours of the Breast and Female Genital Organs. Francia. IARC Press, 2003. pp 18-19.
- 13 Taylor CR, Cote RJ "editores". Immunomicroscopy. 3a ed. China; Ed Elsevier; 2006. pp 181-208.

ANEXO 1

Formato A. Para la recolección de datos.

(Página 1 de 3)

CASO	EDAD	VARIANTE HISTOLÓGICA	GRADO HISTOLÓGICO	RECEPTORES DE ESTRÓGENOS	RECEPTORES DE PROGESTERONA	HER-2/NEU
1	54	Medular	3	negativo	negativo	negativo (0)
2		EXCLUÍDO				
3	52	Ductal	2	Positivo	Positivo	Negativo
4		EXCLUÍDO				
5	57	Ductal	3	negativo	negativo	Positivo (3+)
6	64	Ductal	1	Positivo	negativo	negativo (0)
7	63	Ductal	1	Positivo	Positivo	negativo (0)
8	53	Ductal	1	negativo	negativo	Positivo (3+)
9	68	Ductal	2	Positivo	Positivo	negativo (0)
10	69	Mucinoso	1	Positivo	negativo	negativo (0)
11	52	Ductal	3	negativo	negativo	negativo (0)
12		EXCLUÍDO				
13	66	Ductal	2	Positivo	negativo	negativo (1+)
14	53	Ductal	1	Positivo	Positivo	negativo (0)
15	69	Adenoideo-quístico	1	Positivo	Positivo	negativo (0)
16	58	Ductal	1	Positivo	Positivo	negativo (0)
17		EXCLUÍDO				
18	49	Ductal	3	negativo	negativo	Positivo (3+)
19		EXCLUÍDO				
20	52	Ductal	1	Positivo	Positivo	negativo (0)
21		EXCLUÍDO				
22		EXCLUÍDO				
23	53	Ductal	1	Positivo	negativo	negativo (0)
24	51	Ductal	3	Positivo	negativo	negativo (0)
25	43	Ductal	1	Positivo	Positivo	Negativo
26	39	Ductal	2	negativo	negativo	Positivo (3+)
27	68	Lobulillar	2	Positivo	Positivo	negativo (0)
28	36	Ductal	3	negativo	negativo	negativo (0)
29	39	Ductal	2	negativo	Positivo	negativo (1+)
30		EXCLUÍDO				
31	58	Ductal	3	Positivo	Positivo	Positivo (3+)
32	53	Ductal	2	negativo	Positivo	negativo (0)
33	39	Ductal	1	Positivo	Positivo	negativo (0)
34	46	Ductal	3	Positivo	Positivo	negativo (0)
35	54	Ductal	1	Positivo	negativo	negativo (0)
36	60	Ductal	1	negativo	negativo	Positivo (3+)
37		EXCLUÍDO				
38		EXCLUÍDO				
39	41	Ductal	2	Positivo	negativo	negativo (0)
40		EXCLUÍDO				

Formato A. Para la recolección de datos (página 2 de 3).

CASO	EDAD	VARIANTE HISTOLÓGICA	GRADO HISTOLÓGICO	RECEPTORES DE ESTRÓGENOS	RECEPTORES DE PROGESTERONA	HER-2/NEU
41		EXCLUÍDO				
42	44	Ductal	2	negativo	negativo	negativo (1+)
43	48	Ductal	3	negativo	negativo	negativo (0)
44	52	Ductal	1	Positivo	Positivo	negativo (0)
45	40	Ductal	2	Positivo	negativo	negativo (0)
46	43	Ductal	1	Positivo	Positivo	negativo (0)
47	49	Ductal	2	negativo	Positivo	negativo (0)
48		EXCLUÍDO				
49	51	Ductal	1	negativo	Positivo	negativo (0)
50	52	Ductal	3	negativo	negativo	Positivo (3+)
51	35	Cribiforme	1	Positivo	Positivo	negativo (0)
52	63	Ductal	1	negativo	negativo	negativo (0)
53	48	Ductal	2	negativo	negativo	negativo (0)
54		EXCLUÍDO				
55	59	Ductal	3	negativo	negativo	negativo (0)
56	54	Ductal	1	Positivo	Positivo	negativo (0)
57	45	Ductal	1	Positivo	Positivo	negativo (0)
58	59	Ductal	2	negativo	negativo	Positivo (3+)
59	49	Ductal	2	negativo	negativo	negativo (0)
60	42	Ductal	1	Positivo	Positivo	negativo (0)
61	41	Ductal	1	Positivo	Positivo	negativo (0)
62	53	Ductal	2	Positivo	Positivo	negativo (0)
63	41	Ductal	1	Positivo	Positivo	negativo (0)
64	43	Ductal	2	negativo	negativo	negativo (0)
65	50	Ductal	1	Positivo	Positivo	negativo (0)
66		EXCLUÍDO				
67	74	Ductal	1	Positivo	Positivo	Positivo (2+)
68	58	Ductal	1	negativo	Positivo	negativo (0)
69	51	Ductal	1	Positivo	Positivo	negativo (0)
70	64	Ductal	2	Positivo	Positivo	negativo (0)
71	58	Ductal	1	negativo	negativo	Positivo (3+)
72	53	Ductal	3	negativo	negativo	negativo (0)
73	44	Lobulillar	1	Positivo	Positivo	negativo (0)
74	66	Ductal	2	negativo	Positivo	negativo (0)
75	51	Ductal	2	Positivo	Positivo	negativo (0)
76	52	Ductal	1	Positivo	Positivo	Positivo (2+)
77	78	Ductal	2	negativo	negativo	negativo (0)
78	46	Ductal	1	negativo	Positivo	negativo (0)
79	65	Ductal	1	negativo	Positivo	negativo (0)
80	62	Ductal	1	Positivo	Positivo	negativo (0)
81	51	Micropapilar	1	negativo	Positivo	negativo (1+)
82	38	Ductal	1	Positivo	Positivo	Positivo (3+)

Formato A. Para la recolección de datos (página 3 de 3).

CASO	EDAD	VARIANTE HISTOLÓGICA	GRADO HISTOLÓGICO	RECEPTORES DE ESTRÓGENOS	RECEPTORES DE PROGESTERONA	HER-2/NEU
83	57	Ductal	2	negativo	Positivo	Positivo (3+)
84	81	Ductal	2	Positivo	Positivo	negativo (0)
85	71	Ductal	1	negativo	negativo	Positivo (2+)
86	34	Ductal	2	Positivo	Positivo	negativo (1+)
87	51	Ductal	1	Positivo	negativo	Positivo (3+)
88	65	Ductal	1	Positivo	Positivo	negativo (0)
89		EXCLUÍDO				
90	68	Ductal	2	Positivo	negativo	negativo (0)
91		EXCLUÍDO				
92	57	Ductal	2	negativo	negativo	Positivo (3+)
93	37	Ductal	2	negativo	negativo	negativo (0)
94	46	Ductal	1	Positivo	Positivo	negativo (1+)
95		EXCLUÍDO				
96	46	Ductal	1	negativo	negativo	Positivo (3+)
97	50	Ductal	2	Positivo	Positivo	Positivo (3+)
98	45	Ductal	1	Positivo	Positivo	negativo (0)
99	46	Ductal	2	negativo	negativo	Positivo (3+)
100		EXCLUÍDO				
101	45	Ductal	2	negativo	negativo	negativo (0)
102		EXCLUÍDO				
103	54	Ductal	1	negativo	Positivo	negativo (0)
104	48	Mucinoso	1	Positivo	Positivo	negativo (0)
105	47	Ductal	1	negativo	negativo	Positivo (3+)
106	63	Ductal	3	Positivo	Positivo	negativo (0)
107		EXCLUÍDO				
108		EXCLUÍDO				
109		EXCLUÍDO				
110	57	Mucinoso	1	Positivo	Positivo	Negativo
111	56	Ductal	1	Positivo	Positivo	negativo (0)
112	55	Ductal	2	Positivo	Positivo	negativo (0)
113	38	Medular	3	negativo	negativo	negativo (0)
114	51	Ductal	1	Positivo	Positivo	negativo (0)
115	71	Ductal	2	negativo	negativo	negativo (0)
116		EXCLUÍDO				
117	36	Ductal	3	negativo	negativo	Positivo (2+)
118		EXCLUÍDO				
119	69	Ductal	2	Positivo	Positivo	negativo (0)
120	49	Ductal	2	negativo	negativo	Positivo (3+)
121	52	Ductal	3	Positivo	negativo	negativo (0)
122	34	Ductal	2	Positivo	Positivo	negativo (0)
123	44	Ductal	2	Positivo	negativo	negativo (0)
124	47	Ductal	2	negativo	negativo	Positivo (3+)

ANEXO 2.

Formato B. Para la recolección de datos.

CASOS	Grado	Her2-IHQ	Her2-FISH	TESTIGOS	Grado	Her2-IHQ	Her2-FISH
1	1	NEG	NEG	1	1	NEG	NEG
2	2	NEG	NEG	2	2	NEG	NEG
3	2	NEG	NEG	3	2	NEG	NEG
4	2	NEG	NEG	4	2	NEG	NEG
5	2	NEG	NEG	5	2	NEG	NEG
6	2	NEG	NEG	6	2	NEG	NEG
7	2	NEG	NEG	7	2	NEG	NEG
8	2	NEG	NEG	8	2	NEG	NEG
9	3	NEG	NEG	9	2	NEG	NEG
10	3	NEG	NEG	10	3	NEG	NEG
11	3	NEG	NEG	11	3	NEG	NEG
12	3	NEG	NEG	12	3	NEG	NEG
13	3	NEG	NEG	13	3	POSITIVO	POSITIVO
14	3	NEG	NEG	14	3	POSITIVO	POSITIVO
15	3	NEG	NEG				

Her2-IHQ: Resultado de la evaluación de Her-2/neu mediante Inmunohistoquímica.
Her2-FISH: Resultado de la evaluación de Her-2/neu mediante Hibridación In Situ con Fluorescencia.
NEG: Negativo.

ANEXO 3.

Método semicuantitativo para la evaluación del grado histológico en mama.¹²

Característica	Puntos
Formación tubular y glandular	
Más de 75% del tumor	1
Entre 10 y 75%	2
Menos del 10%	3
Pleomorfismo nuclear	
Células pequeñas, uniformes y regulares	1
Incremento moderado en tamaño y variabilidad	2
Marcada variabilidad	3
Conteo de mitosis en 10 campos con diámetro de campo de 0.44 mm (objetivo 40x)	
De 0 a 5	1
De 6 a 10	2
Más de 11	3

El grado histológico se asigna como sigue:

- Grado 1. De 3 a 5 puntos. Tumor bien diferenciado.
- Grado 2. De 6 a 7 puntos. Tumor moderadamente diferenciado.
- Grado 3. De 8 a 9 puntos. Tumor poco diferenciado.

ANEXO 4

TABLAS Y GRÁFICOS

Tabla 1. Causas de exclusión.

Motivo de exclusión	Número de casos
Tejido insuficiente	9
Laminillas no disponibles	5
Metástasis	4
Cambios por autólisis	3
Carcinoma in situ	2
Cambios por tratamiento	1
Sin tumor	1
Total	25

Gráfica 1. Distribución por edades

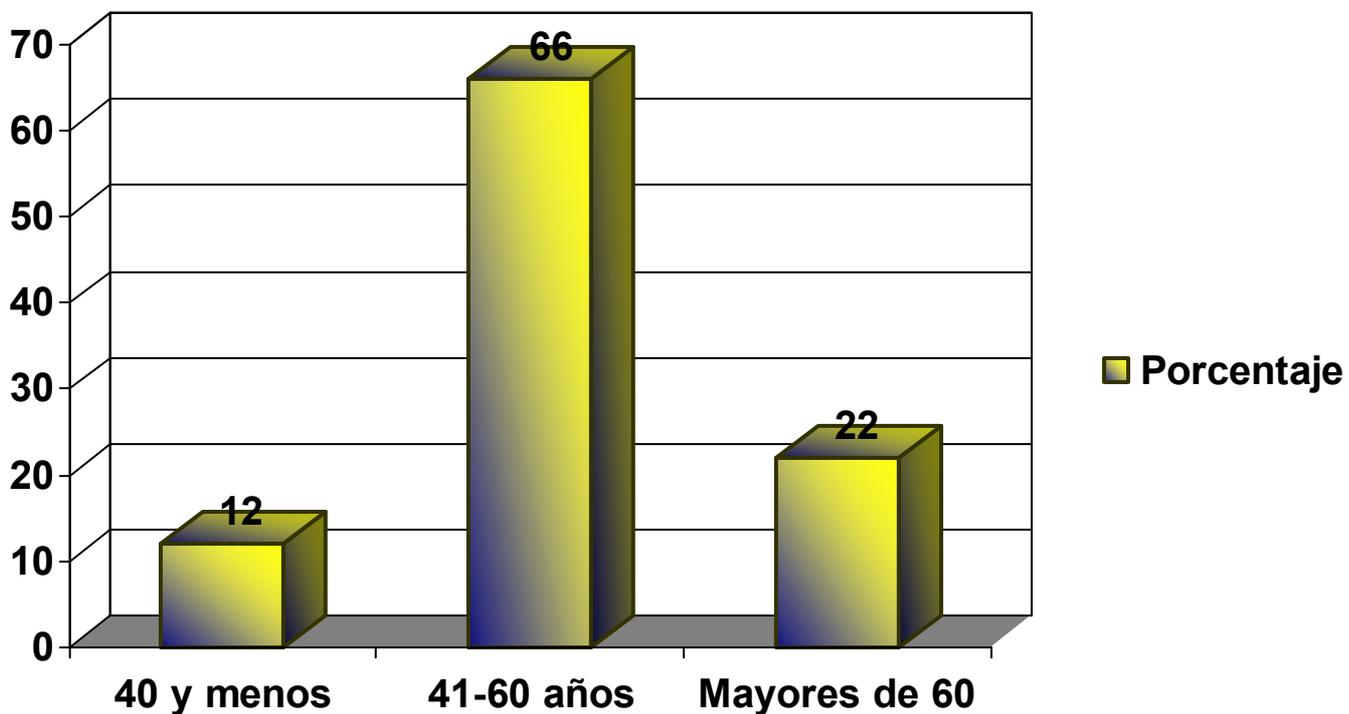


Tabla 2. Subtipo histológico

Subtipo histológico	Número de casos
Ductal ordinario	89
Lobulillar	2
Mucinoso	3
Medular	2
Cribiforme	1
Adenoideo-quístico	1
Micropapilar	1
Total	99

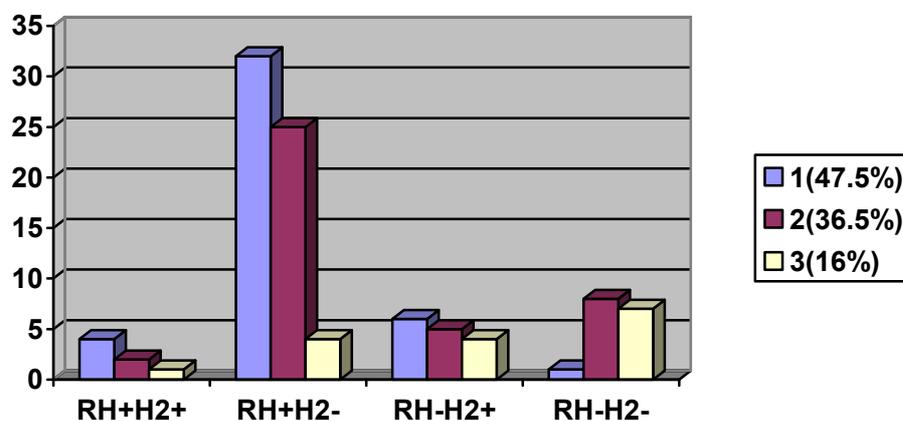
Tabla 3. Correlación entre expresión de receptores hormonales y Her-2/neu

	Her-2 Positivo	Her-2 Negativo
Receptores hormonales positivos, n=68	7 (10%)	61 (90%)
Receptores hormonales negativos, n=31	15 (48%)	16 (52%)

Tabla 4. Correlación entre el grado histológico con la expresión de receptores hormonales y Her-2/neu evaluados por inmunohistoquímica.

Grado	Hormonales+ Her2+	Hormonales+ Her2-	Hormonales- Her2+	Hormonales- Her2-	Total
1	4	32	6	1	43
2	2	25	5	8	40
3	1	4	4	7	16
Total	7	61	15	16	99

Gráfica 2. Correlación entre el grado histológico con la expresión de receptores hormonales y Her-2/neu evaluados por inmunohistoquímica.



RH: Receptores hormonales.
H2: Her-2/neu.
+ Positivo.
- Negativo.

**Tabla 5. Concordancia entre IHQ y FISH en la determinación de Her-2/neu.
CASOS.**

Her-2/neu	FISH POSITIVO	FISH NEGATIVO
IHQ POSITIVO	0	0
IHQ NEGATIVO	0	15

**Tabla 6. Concordancia entre IHQ y FISH en la determinación de Her-2/neu.
TESTIGOS.**

Her-2/neu	FISH POSITIVO	FISH NEGATIVO
IHQ POSITIVO	2	0
IHQ NEGATIVO	0	12