

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

**FACULTAD DE MEDICINA
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO
INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
CENTRO MEDICO NACIONAL "LA RAZA"
U.M.A.E. HOSPITAL DE GINECOLOGIA Y OBSTETRICIA No. 3**

FRECUENCIA DE SOBREEXPRESION DEL RECEPTOR HER-2/neu EN PACIENTES CON CANCER DE MAMA

TESIS

**Para Obtener el Titulo de:
ESPECIALISTA EN GINECOLOGIA Y OBSTETRICIA**

PRESENTA:

DR. ALEX DANIEL MAMANI CANCINO

ASESOR:

DR. JUAN MANUEL GARCIA CEBADA

Colaboradores asociados:

**Dra. Ivonne Casasola Busteros
Dra. Maria Guadalupe Veloz Martinez**

REGISTRO: R-2010-3504-10

AÑO: 2010



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

DR. JUAN MANUEL GARCIA CEBADA
Jefe del servicio de Patología

DRA. IVONNE CASASOLA BUSTEROS
Medico adscrito al departamento de Patología

DRA. MARIA GUADALUPE VELOZ MARTINEZ
Jefe de investigación

DR. JUAN CARLOS HINOJOSA CRUZ
Jefe de enseñanza e investigación

INDICE

RESUMEN.....	5
MARCO TEORICO.....	6
JUSTIFICACION.....	11
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	11
OBJETIVOS.....	11
HIPOTESIS.....	12
MATERIAL Y METODOS.....	12
CONSIDERACIONES ETICAS.....	14
RECURSOS PARA EL ESTUDIO.....	14
RESULTADOS.....	15
CONCLUSIONES.....	31
DISCUSIÓN.....	32
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	33
CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES.....	36
HOJA DE RECOLECCION DE DATOS.....	37
ANEXOS.....	38

DEDICATORIA

Para mis padres, Nemesio e Hilda, que en vida me dieron todo su apoyo y paciencia. Me han dado todo lo que soy como persona, mis valores, mis principios, mi perseverancia y mi empeño, y todo ello con una gran dosis de amor y sin pedir nunca nada a cambio. Por haberme enseñado lo importante de la superación y estudio. Principalmente a ti mamá que hasta el último momento diste todo para que fuera el profesional que soy.

Para mis hermanos, Tito, Luzmery, Cesar y mi cuñada Felipa que me dieron su apoyo, confianza y comprensión. Son ejemplos de superación, y para mí, modelos a seguir de realización personal.

A esa persona que lleno todo mi corazón, que a pesar de todos los problemas fue mi compañía en estos años.

A todos ellos,

Gracias de todo corazón.

Gracias mamita.

RESUMEN

Frecuencia de sobreexpresión del receptor HER-2/neu en pacientes con Cáncer de Mama.

ANTECEDENTES

La tasa de incidencia y mortalidad de cáncer de mama varía ampliamente en diferentes países, dentro de las más altas se encuentran países como Reino Unido, Nueva Zelanda, Holanda Uruguay y tasas menores como Latinoamérica con etiología muy heterogénea donde el HER2/neu es uno de los oncogenes mas encontrados y es un factor importante predictivo en respuesta a la terapia.

En los diferentes estudios clínicos se ha encontrado que del 20 al 30% de las muestras van a ser positivos para HER2/neu y también se ha observado que la incidencia entre los diferentes países varía de manera estadísticamente significativa. El presente estudio planteó la oportunidad de determinar la frecuencia en nuestra población de receptores HER2/neu y hormonales en pacientes con cáncer de mama y su posible relación con la etapa TNM y estirpe histológica.

OBJETIVO

Principal: Determinar la frecuencia de positividad o negatividad Her2/neu en pacientes con diagnostico de cáncer de mama entre 1ero enero del 2007 al 31 diciembre del 2009 y su correlación con los receptores hormonales, clasificación TNM y estirpe histológica.

MATERIAL Y METODOS

Diseño del Estudio: descriptivo, retrospectivo y transversal.

Se incluyó todas las pacientes diagnosticadas con cáncer de mama entre el 1ero de enero del 2007 al 31 de diciembre del 2009 en el servicio de patología del hospital gineco-obstetricia No 3 del Centro Médico Nacional La Raza, a las que se les haya realizado determinación de receptores Her2/neu y receptores hormonales, se analizó el resultado de los mismos, así como la estirpe histológica del tumor y etapa TNM.

El análisis de datos se realizó con estadística descriptiva: porcentajes, frecuencias, y pruebas de asociación con coeficientes de correlación. La base de datos y el análisis se realizó en el programa SPSS.

RECURSOS PARA EL ESTUDIO

Recursos humanos: Participo el tesista y sus tutores.

Recursos físicos: Determinación de estado Her2/neu mediante inmunohistoquímica contando con el equipo en la unidad, prueba FISH confirmatoria en casos Her2/neu 2+, formato de recolección de datos, captura de base de datos, Análisis estadístico.

Recursos financieros: No requiere apoyo financiero.

TIEMPO A DESARROLLARSE

Se desarrollo del 1ero de enero del 2007 al 31 de diciembre del 2009 en el servicio de patología del hospital gineco -obstetricia No 3 del Centro Médico Nacional La Raza.

I.- MARCO TEORICO

I.1 INTRODUCCIÓN

Las tasas de incidencia y mortalidad del cáncer de mama varían ampliamente entre los diferentes países. Las tasas más altas de mortalidad (25/100000 mujeres) se encuentran en países como Reino Unido, Nueva Zelanda, Holanda y Uruguay. Mientras que las tasas más bajas (10/100000 mujeres) se encuentran en la mayoría de los países del este asiático y de latinoamérica. El cáncer de mama en México es la segunda neoplasia maligna más frecuente en mujeres, 9490 casos nuevos en 1998 con una tasa de mortalidad de 10.5/100000 mujeres con 3405 muertes. La mayor parte de los diagnósticos se hicieron en etapas avanzadas de la enfermedad.

El cáncer de mama es una enfermedad con una etiología heterogénea, donde el HER2/Neu es uno de los oncogenes más comúnmente involucrados. El proto-oncogén HER2/Neu codifica a un receptor transmembrana del factor de crecimiento, que frecuentemente está sobre-expresado en 20 a 30% en el cáncer de mama y se asocia con una conducta biológica agresiva, además con un pobre pronóstico y sobrevida. En estudios recientes se ha mencionado que es un importante factor predictivo de la respuesta a la terapia (como marcador de resistencia a la terapia hormonal y como un posible marcador de la respuesta a las antraciclinas). El receptor HER2/Neu también es un blanco extra-celular accesible para nuevos tratamientos específicos, como anticuerpos monoclonales humanizados (trastuzumab).

I.2 VALOR PRONOSTICO Y PREDICTIVO DEL ONCOGENE HER2/Neu EN CA DE MAMA

El oncogén HER2/neu también es conocido como c-erbB-2 y codifica a una glicoproteína de 185 kilodalton, la cual es un receptor transmembrana de la superficie celular con actividad intrínseca de la tirosina kinasa (1). La proteína HER2/Neu es extensivamente homóloga y está relacionada con el receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR). De manera similar al EGFR, la proteína HER2/Neu está involucrada en la proliferación y crecimiento del tejido celular normal. Su expresión al parecer no se encuentra regulada por la terapia hormonal (2). Es conocido, que la amplificación del gen HER2/Neu (aumento en el número de copias) está acompañado de la sobre-expresión de la proteína HER2/Neu (aumento del número de receptores en la membrana celular). Esto ocurre en 25% a 30% del cáncer de mama; pero una sobre-expresión de la proteína HER2/Neu en ausencia de una amplificación del gen, es un fenómeno raro que se reporta en aproximadamente 3% de los casos (28).

Originalmente se observó que la transcripción de múltiples copias del proto-oncogén HER2/Neu en líneas celulares del cáncer de mama causaba un aumento en la producción de la proteína HER2/Neu así como una transformación maligna. Múltiples estudios han demostrado que la sobre-expresión/amplificación del HER2/neu ocurre en un 25% a 30% de todos los casos de cáncer de mama humano; estos tumores se correlacionan fuertemente con la ausencia de receptores esteroideos así como un pronóstico clínico pobre y mayor agresividad (9, 35, 36).

Se ha realizado varios estudios de cohorte con gran muestra y largos periodos de seguimiento, en la cual se observa que la sobre-expresión/amplificación del HER2/neu no tiene relación con la expresión de los receptores hormonales, con negatividad en los carcinomas lobulillares, también que es un factor pronóstico independiente con ganglios positivos en el cáncer de mama (3, 6, 19, 24, 33).

Históricamente ha sido controversial, el papel del estado del HER2/neu en el pronóstico de las pacientes con ganglios negativos. Pero en un estudio realizado por Seshadri et al en 1993, sugieren que la amplificación del HER2/neu es un predictor independiente para una corta sobrevida libre de enfermedad tanto en pacientes con ganglios positivos como negativos (10, 34). Esta observación fue también confirmada en otros estudios, así como también el tamaño del tumor es un factor pronóstico independiente (15, 31).

En un estudio efectuado en Francia (29), donde se analizó la sobre-expresión de HER2, en pacientes con cáncer de mama con la primera progresión metastásica. Se encontró que el tipo de tumor era carcinoma ductal en el 80.5% y carcinoma de mama lobular en el 12.2%. La aparición de la primer metástasis después de haber terminado la quimioterapia, fue: menos de 6 meses (31.8%), 6 a 12 meses (11.8%), mas de 12 meses (56.5%). Es importante mencionar que en esta población de 696 pacientes, la prevalencia de HER2 (3+) por inmunohistoquímica fue del 29.6% (95% IC 26-33). Este porcentaje esta en el límite superior de los resultados que se esperaban de acuerdo a los datos publicados de estudios previos, esto puede ser debido a que las pacientes tenían un intervalo libre de enfermedad relativamente corto y un porcentaje alto de pacientes tenían un tumor de alto grado (60% era grado 2 y 42% era grado 3). También se vio que el 62% eran positivos receptores de estrógenos, de estos el 22.5% eran HER2/neu 3+. Entre los receptores de estrógenos negativos, el 42% fueron HER2/neu 3+. La alta prevalencia de sobre-expresión de HER2 (3+) en mujeres con progresión de la enfermedad con primera metástasis, en relación a la población en general con cáncer de mama, parece confirmar la hipótesis de la relación entre sobre-expresión y riesgo de metástasis. La proporción de HER2 (3+) es significativamente mayor en caso de metástasis temprana que en los casos de metástasis tardías. Y también se concluyo que con receptores hormonales negativos tienen una prevalencia mayor de sobre-expresión de HER2.

Otro aspecto importante del estado de HER2/Neu es su papel como marcador predictivo de la respuesta a la quimioterapia adyuvante. Por lo que, debe ser usado también como un marcador predictivo para escoger entre un régimen basado con antraciclinas (doxorubicina) y una terapia combinada como ciclofosfamida, metotrexate, 5-fluorouracilo (CMF). En un estudio realizado por Paik et al en el 2000, se evaluó la sobre-expresión de HER2-Neu en 2034 especímenes de cáncer de mama; las pacientes recibieron una combinación de doxorubicina (adriamicina) y ciclofosfamida (AC), CMF, o AC seguido de CMF. Se demostró que los pacientes con tumores HER2/Neu positivos tienen un beneficio preferente con el régimen AC que al de CMF (27).

La asociación entre sobre-expresión de HER2/Neu y la falla de respuesta a la terapia con tamoxifeno ha sido reportada desde 1990 por varios grupos independientes con varios reportes controversiales. También se ha observado, resistencia al tratamiento con tamoxifeno en pacientes con receptores estrogénicos positivos (2, 4, 21, 26, 37, 39, 40). Un estudio de Carlomagno et al en 1996 del "Gruppo Universitario Napoletano 1" (Estudio GUN-1), fue aleatorizado, que evalúa la eficacia de la terapia adyuvante con tamoxifeno. Se observó sobre-expresión de HER2/Neu en 29.7% de los casos y se asoció de manera significativa con un tumor de mayor tamaño y una disminución en la expresión del receptores estrogénicos. En el grupo con HER2/Neu positivo, el tamoxifeno no afectó el tiempo libre de enfermedad y ocasionó un decremento en la sobrevida global (6, 10).

Como marcador pronóstico, el HER2/Neu es utilizado para predeterminar el curso probable y pronóstico de la enfermedad. Como marcador predictivo HER2/Neu es utilizado para predecir la respuesta terapéutica de la paciente a la quimioterapia adyuvante y a la terapia hormonal; también es utilizado para seleccionar a los pacientes que son candidatos a recibir inmunoterapia con trastuzumab.

I.3 TRIPLE NEGATIVO

El cáncer de mama triple negativo (18) se define con un estado negativo para receptores estrogénicos y de progesterona así como para HER2/neu. Se menciona que el 10 a 17% de los carcinomas de mama son triple negativo, y tiene una alta incidencia en pacientes jóvenes y son más agresivos que los tumores pertenecientes a otros subgrupos moleculares. Se observó que la recurrencia se iniciaba entre el primer y tercer año, y en el seguimiento se observó que la muerte ocurre en los primeros 5 años de terapia. Este estado se relaciona con sobre-expresión de EGFR y cKIT. Estos pacientes tienen beneficio con taxanos versus antraciclinas/alquilantes.

I.4 MÉTODOS PARA LA DETERMINACIÓN DE HER2/Neu

En la actualidad existen dos métodos que son ampliamente usados en los laboratorios clínicos alrededor del mundo. Estos métodos son la Fluorescencia de Hibridación in situ (FISH) y la inmunohistoquímica (IHC), los cuales han probado ser sensibles y específicos en detectar la amplificación o sobre-expresión de HER2/neu, utilizando tejido preparado en parafina y fijado con formalina.

Reacción de IHC:

En la actualidad está disponible de manera comercial un kit de IHC, llamado HercepTest de la marca DAKO. El HercepTest se puede utilizar para determinar: sobre-expresión en especímenes de tejido de cáncer de mama; proporcionando mediciones semi-cuantitativas de esta oncoproteína. Esta prueba utiliza un anticuerpo policlonal al HER2/Neu (31). Comparado con el FISH, el HercepTest es más económico, consume menos tiempo, requiere una mínima instrumentación y es muy fácil para hacerlo. Como otros métodos de inmunohistoquímica puede ser afectado por algunas variables como la fijación del tejido, el procesamiento y las técnicas de recuperación del antígeno. También es importante tomar en cuenta que el sistema para calificar los resultados de HercepTest es subjetivo y la interpretación entre diferentes observadores puede variar (22, 38). El resultado del estudio se reporta como: 0 a 1+ (negativo), 2+ (positivo débil), 3+ (fuertemente positivo). La variabilidad de la interpretación de positividad entre el resultado de IHC 2+ y 3+ es crítica, pues un resultado falso-negativo negará a los pacientes del beneficio de la terapia y un resultado falso-positivo puede ocasionar que pacientes con un bajo nivel de HER2/Neu sean tratados innecesariamente. Se realizaron estudios que en muestra con una expresión heterogénea del HER2/neu principalmente con resultados de 2+ se recomienda la prueba de FISH para disminuir los falsos positivos (11, 16).

Pasos para la IHC ver anexos 1 y 2.

Prueba de FISH:

Muchos autores han reportado que el método de FISH es altamente reproducible y además proporciona resultados que son fácilmente interpretados (25, 28, 30). La prueba de FISH es rápida, requiere de sólo una pequeña muestra de tejido y es capaz de detectar desde niveles muy bajos de amplificación del gen. Algunos artículos hablan de una sensibilidad del 98% y especificidad del 100% (32). Este procedimiento da menos problemas en la fijación del tejido, ya que la molécula de DNA es más resistente al daño causado por la fijación con formalina. La interpretación está basada en calificar el número exacto de señales de hibridación por núcleo con un radio definido de corte utilizado para definir la amplificación del gen. De manera ideal, la prueba de FISH debería ser usada como la prueba de inicio para determinar el estado del oncogene HER2/Neu. Pero dado que no es posible que todos los laboratorios efectúen la prueba de FISH, entonces la prueba de IHC puede ser utilizada como el procedimiento inicial de evaluación y si es necesario en casos selectos confirmarlo mediante FISH. En el caso de

pacientes que tengan cáncer de mama metastásico, cuyo tumor sea identificado como 2+ por medio de IHC, se tendrá que cuantificar también la amplificación del gen mediante la prueba de FISH. **Pasos para la prueba FISH ver anexos 3.**

Se ha hecho estudios comparando la IHC y FISH, donde no se encontró gran diferencia entre los dos métodos para detectar sobre-expresión de HER2/neu, incluso una combinación de ambos los resultados son estadísticamente superiores (7).

I.5 PREVALENCIA DE HER2/neu EN CANCER DE MAMA EN DIFERENTES PAISES

La determinación de HER2/neu ha demostrado ser un marcador pronóstico importante en el cáncer de mama, en diferentes estudios de gran tamaño en donde se han reclutado mas de 15,000 pacientes, han demostrado que la incidencia de HER2/neu positivo es de aproximadamente un 29%, pero también refiere que la variación entre los diferentes países o los diferentes grupos étnicos de población es estadísticamente significativa.

Tabla 1 HER2 y Cáncer de Mama en diferentes países.

País	# Casos estudiados	Sobre-expresión HER2	Año	Autor
USA (Boston)	48	58.4% (20)*	1999	Jacobs TW et al
Alemania	85	42% (36)	2001	Lebeau E et al
Polonia	71	40.8% (29)	2001	Tuziek et al
Alemania	37	38% (14)	2000	Bankfalvi A et al
México	1170	34.76% (398)	2002	Zavala-P. A et al
USA (Florida)	56	32% (18)	2000	Masood S et al
Austria	303	26.7% (81)	2001	Birner P et al
USA (Houston)	100	24% (24)	2000	Hoan MP et al
Japón	97	23.7% (23)	2002	Emy Y et al
Austria	64	23% (15)	2001	Mueller-H E et al
Japón	92	22.7% (21)	2001	Hatanaka Y et al
Australia	122	21% (25)	2001	Field AS et al
Puerto Rico	143	19.6% (28)	2001	Peredo R et al
Reino Unido	216	12.6% (27)	2001	Bartlett JM et al
USA (Cleveland)	400	36.5% (146)	2001	Tubos RR et al

Tabla 2 Relación de amplificación del gen HER2/neu y Cáncer de Mama

País	#Casos estudiados	HER 2 neu Amplificación	Método	Año	Autor
Taiwan	44	43.2% (19)	Northern Blot	1995	Huang CS et al
Alemania	85	28% (29)	FISH	2001	Lebeau A et al
Rusia	142	25% (36)	¿?	1993	Imayanitov EN et al
Alemania	40	23% (9)	FISH	2000	Bankfalvi A et al
Grecia	138	22.4% (31)	¿?	1999	Scorilas A et al
U.S.A. (L.A.)	900	21% (189)	FISH	2000	Pauletti G et al
Tunisia	7	25%	¿?	1991	Sellami M et al
USA(Cleveland)	145	15.8% (23)	FISH	2001	Tubbs EE et al

En México se efectuó un estudio clínico en el hospital ABC (Teresa Cuesta Mejias et al del 2001), teniendo una muestra de 94 pacientes donde 45 presentaron sobre-expresión de Her2/neu, siendo un 46.3% (14). Este porcentaje es más alto que el reportado en mujeres de otros países como (Reino Unido 12%), Puerto Rico (19%), Australia (23%), Japón (24%), U.S.A. (24%), pero menor que el reportado en Alemania (40%) y Polonia (40%).

Tabla 3 Sobre-expresión de HER2-Neu, según el tipo de cáncer de mama invasivo

Histología del Adenocarcinoma	# casos Estudiados	Total Positivo	3+ Positivo	2+ Positivo	0 – 1+ Negativo
NOS Ductal Infiltrante	1056 (90.2%)	373 (36%)	256	117	669 (64%)
Lobular infiltrante	47 (4.01%)	8 (17%)	2	6	39 (83%)
Mixto	7 (0.59%)	1 (14%)	0	1	6 (86%)
Medular	16 (1.36%)	3 (19%)	1	2	13 (81%)
Comedo	16 (1.36%)	10 (62.5%)	7	3	6 (37.5%)
Mucinoso	11 (0.94%)	0	0	0	11(100%)
Tubular	6 (0.51%)	1 (17%)	1	0	5 (83%)
Papilar	2 (0.17%)	0	0	0	2 (100%)
Carcinoma NOS	8 (0.68%)	2 (25%)	2	0	6 (75%)
Cístico Adenoide	1 (0.08%)	0	0	0	1 (100%)
Total	1170	398(34%)	269	129	772 (66%)

I.6 MECANISMOS DE INTERRELACIÓN ENTRE RECEPTORES HORMONALES Y HER2

La terapia hormonal tiene un rol muy importante en el manejo del cáncer de mama con receptor hormonal estrógeno positivo (RE). Las mujeres con cáncer de mama primario en etapas I/II a menudo reciben terapia hormonal adyuvante para reducir el riesgo de recurrencia de la enfermedad después del manejo inicial con cirugía o radioterapia. La terapia hormonal (20, 23) también es utilizada en mujeres que ya tienen enfermedad metastásica quienes pueden obtener beneficios clínicos (respuesta o enfermedad estable) más de 6 meses con uno o más tratamientos consecutivos(12).

La expresión de los receptores estrogénicos (RE) y de progesterona en los tumores de mama es en la actualidad el mejor marcador molecular predictivo reconocido, identificando a aquellos pacientes que tienen mayor probabilidad de responder a la manipulación hormonal (17). El tratamiento con el objetivo de modular la actividad del RE fue probablemente la primera terapia específica, en la que la modalidad del tratamiento está enfocada en inhibir un factor específicamente involucrado en el comportamiento del cáncer de mama. La subsecuente introducción del modulador selectivo del receptor estrogénicos (tamoxifeno) y de los inhibidores de la aromatasa (13) ha sido importante en el refinamiento y aumento del uso de la terapia hormonal para el cáncer de mama.

El concepto del enfoque terapéutico a nivel molecular ha sido objeto de una extensa investigación, conduciendo al desarrollo de terapias específicas por sub grupos de tipos de cáncer de mama. El receptor 2 del factor de crecimiento humano epidérmico (HER2/neu o cerbB-2). Al igual que sucede en la terapia hormonal, el reconocer el papel que tiene la amplificación/sobre-sobre expresión de HER2/neu en el cáncer de mama ha originado el desarrollo de una terapia específica dirigida contra el receptor HER2/neu (20).

II.- JUSTIFICACIÓN

En los diferentes estudios clínicos se ha encontrado que aproximadamente un 29% de las muestras van a ser positivas para HER2/neu con calificación de 2+ o 3+, pero también se ha observado que la prevalencia entre los diferentes países varía significativamente.

En el estudio de Teresa Cuesta Mejias et al del 2001, fue realizado con una muestra de 97 casos de cáncer de mama en mujeres mexicanas, se obtuvo una sobreexpresión del 46.3% de HER2/neu, la cual es superior a la incidencia aproximada reportada a nivel mundial del 29%.

El presente estudio planteó la oportunidad de determinar por un lado la frecuencia de HER2/neu y de receptores hormonales en nuestra población de pacientes con cáncer de mama como factor importante y predictivo en respuesta a la terapia.

III.- PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Se podría considerar que este aumento en la incidencia, reportado en el estudio de Teresa Cuesta Mejias, se pudiera deber a la presencia de un mayor porcentaje de resultados falsos-positivos en la interpretación del HercepTest. Esto es explicable debido a que este estudio clínico se llevó a cabo cuando se acababa de introducir la prueba de HercepTest en México y el personal aún carecía de experiencia necesaria para la tinción e interpretación de la muestra. Por lo que es entendible que se reporte una incidencia mayor.

Conforme los diferentes centros han ido desarrollando una experiencia en la prueba de determinación de HER2/neu mediante HercepTest, se ha observado en los diferentes centros de patología, una disminución en la incidencia de reportes de HER2/neu positivos, para estar dentro del promedio mundial del 20 al 30%.

Pero aún no se ha efectuado un estudio protocolizado que valore, ya con la experiencia en HercepTest en los centros de patología, la prevalencia de HER2/neu en la población mexicana. De tal manera que nos planteamos la siguiente pregunta:

¿Cuál es la frecuencia de los receptores Her2/neu y hormonales en pacientes con diagnóstico de cáncer de mama?

IV.- OBJETIVOS

Principal:

1. Determinar la frecuencia de los receptores Her2/neu y hormonales en pacientes con diagnóstico de cáncer de mama.

Secundarios:

1. Determinar la relación entre los receptores hormonales y el receptor de Her2/neu en pacientes con cáncer de mama.
2. Determinar la relación del tipo histológico del cáncer de mama con respecto a la positividad al Her2/neu.

3. Determinar la relación con la etapa TNM del cáncer de mama con respecto a la positividad al Her2/neu.

V.- HIPÓTESIS

1. La frecuencia de los receptores HER2/neu y hormonales en pacientes con cáncer de mama es acorde a la literatura mundial.

VI.- MATERIAL Y METODOS

1. Lugar:

- El estudio se realizó en el servicio de patología del Hospital de Gineco-obstetricia No 3 del Centro Médico Nacional la Raza, el cual pertenece al tercer nivel de atención del Sistema Nacional de Salud.

2. Diseño del Estudio:

- Descriptivo, retrospectivo, transversal.

3. Grupo de estudio:

- **Criterios de Inclusión:** todas las pacientes con diagnóstico de cáncer de mama.
- **Criterios de Exclusión:** las pacientes con información insuficiente en la base de datos y expediente clínico.
- **Criterios de eliminación:** aquellos pacientes que por condiciones técnicas la determinación del estado Her2/neu no pudo ser establecido.

4. Tamaño de la muestra:

- No probabilístico: se incluyó todas las pacientes con diagnóstico de cáncer de mama entre el 1ero de enero de 2007 al 31 de diciembre del 2009 en el servicio de patología del hospital gineco-obstetricia No 3 del Centro Médico Nacional La Raza.

5. Variables:

I. **Variables demográficas:**

a. Edad:

- Definición conceptual: Es el tiempo transcurrido desde el nacimiento hasta un momento dado.
- Definición operacional: Se considerará la que informe el paciente, en años cumplidos.
- Escalas de medición: Variable cuantitativa, escala de razón con indicadores en años. Captura en dos caracteres numéricos.

II. **Variables independientes:**

a. Cáncer de mama:

- Definición conceptual: es el crecimiento desordenado y no controlada de células con genes mutados, los cuales actúan normalmente suprimiendo o estimulando la continuidad del ciclo celular pertenecientes a distintos tejidos de una glándula mamaria.
- Definición operacional: Se toma biopsia de tejido tumoral de la glándula mamaria y se envía a estudio histopatológico, reportándose cáncer de mama.
- Escala de medición: Variable cualitativa, dicotómica.

III. Variables dependientes:

a. Tipo histológico de cáncer de mama:

- Definición conceptual: Corresponde a la estirpe celular de origen del tumor de mama.
- Definición operacional: Se toma muestra de tejido del tumor y se envía a un estudio histopatológico, determinado: Carcinoma in situ (ductal, lobulillar), Carcinoma infiltrante (ductal, lobulillar, tubular/cribiforme, mucinoso, medular, papilar).
- Escalas de medición: Variable cualitativa nominal.

b. Etapa TNM:

- Definición conceptual: Corresponde a la extensión la enfermedad neoplásica.
- Definición operacional: Se realiza clasificación del cáncer de mama basado según los criterios TNM de la "American Joint Committee on Cancer classification".
- Escala de medición: Variable cualitativa ordinal.

c. Receptor Her2/neu:

- Definición conceptual: Receptor transmembrana de la superficie celular, codificada por el oncogén c-erbB2 (Her2/neu), involucrada en la proliferación y crecimiento del tejido celular normal.
- Definición operacional: Se determina la sobreexpresión del receptor Her2/neu mediante inmunohistoquímica y FISH.
- Escala de medición: Variable cualitativa, nominal, dicotómica. Categorizada en positivo y negativo.

d. Receptores hormonales:

- Definición conceptual: Receptor transmembrana de la superficie celular que se une a hormonas esteroideas (estrógenos y progesterona).
- Definición operacional: Se determina la positividad o negatividad de los receptores para estrógenos y progesterona mediante inmunohistoquímica.
- Escala de medición: Variable cualitativa, nominal, dicotómica. Categorizada en positivo y negativo.

6. Análisis de datos:

- Se realizo estadística descriptiva tipo porcentajes y frecuencias.
- Pruebas de asociación con coeficientes de correlación.
- La base de datos y el análisis se realizo en el programa SPSS.

7. Descripción metodológica:

Se busco en la base de datos las pacientes con diagnostico de cáncer de mama. Se busco los expedientes en el archivo del hospital, posteriormente se recabo la información en las hojas de recolección de datos. Esta información se analizo en el programa SPSS y se obtuvo las estadísticas correspondientes.

VII.- CONSIDERACIONES ÉTICAS

Se trata de un estudio epidemiológico retrospectivo en que las pacientes ya fueron estudiadas. La información se maneja con confidencialidad. Toda la investigación se desarrollo en apego de las normas internacionales y locales de bioética y bioseguridad.

VIII.- RECURSOS PARA EL ESTUDIO

Recursos humanos:

- Participó el tesista y sus tutores.

Recursos físicos:

- Determinación de estado Her2/neu mediante inmunohistoquímica contando con el equipo en la unidad.
- Prueba FISH confirmatoria en casos Her2/neu 2+.
- Formato de recolección de datos.
- Captura de base de datos.
- Análisis estadístico.

Recursos financieros:

- No requirió apoyo financiero.

IX.- RESULTADOS

Un total de 907 carcinomas de mama fueron estudiados, de los cuales se excluyeron 14 (1.5%) porque la muestra en los bloques no fue suficiente. Las pacientes tuvieron un rango de edad entre 24 y 94 años (media de 52.88, mediana 52, moda 50) con desviación estándar de 12.247 (Tabla 1, Figura 1).

Del total de casos de carcinomas de mama, 150 casos presentaron sobreexpresión HER2 con escala 3+ (16.8%), como se demuestra en la tabla 3 y figura 2. Se registraron 43 (4.8%) casos con escala de 2+, que fueron sometidos a prueba de FISH, 29 (67.4%) fueron positivos y 14 (32.6%) fueron negativos (Tabla 4). En total hubo 179 (20%) casos con sobreexpresión y 714 (80%) casos que no mostraron sobreexpresión (Tabla 2).

Se describió 625 tumores, de los cuales incluían 250 (40%) lesión T1, 279 (44.6%) lesión T2, 48 (7.7%) lesión T3 y 48 (7.7%) lesión T4. De 244 lesiones T1, 40 (16.4%) presentaron sobreexpresión HER2, de 276 T2 se presentó en 64 (23.2%), de 47 T3 se presentó en 10 (21.3%) y de 48 T4 se presentó en 13 (27%), como se observa en la tabla 5 y figura 3.

De 601 casos 259 (43.1%) eran ganglios negativos (N0), 169 (28.1%) N1, 106 (17.6%) N2 Y 67 (11.1%) N3; de los ganglios positivos 21.1% presentaban sobreexpresión de HER2. De 255 N0 se presentó sobreexpresión HER2 en 48 (18.8%), de 166 N1 se presentó en 28 (16.9%), de 104 N2 se presentó en 27 (26%), de 66 N3 se presentó en 16 (24%), como se observa en la tabla 6 y figura 4.

De 671 lesiones se encontró carcinoma ductal infiltrante en 407 (60.7%) como se demuestra en la tabla 7 y figura 5; carcinoma lobulillar infiltrante fueron 163 (24.3%) de los cuales el 76.8% eran de patrón histológico clásico (Tabla 8 y figura 6). De los tipos especiales fueron 101 (15%), del cual el apócrino fue el más frecuente (67.5%), ver tabla 7 y figura 5. Se encontró una frecuencia del 60% en tumores apócrinos para la sobreexpresión HER2 y una lesión de tipo especial secretor con sobreexpresión de HER2; ningún tipo especial tubular, micropapilar, cribiforme y comedocarcinoma presentó sobreexpresión, ver tabla 9.

En los carcinomas ductal infiltrantes se encontró una frecuencia de sobreexpresión HER2 de 23.5% de los cuales los bien diferenciados presento una frecuencia de 29.2%, moderadamente diferenciado un 18.9%, poco diferenciado un 30%, ver tabla 10 y figura 8. De las lesiones lobulillares se presento un 7.9% de sobreexpresión de HER2, presentándose solo en patrón tipo clásico (10.3%), como se observa en la tabla 11.

De 668 tumores examinados se encontró que 54 (8.1%) eran mixtos, de estas lesiones el 20.8% presento sobreexpresión de HER2 (Tabla 12).

Se encontró 10 carcinomas intraductales de los cuales 3 (30%) presentaron sobreexpresión de HER2. De los carcinomas infiltrantes asociados con carcinoma intraductal (120) se encontró 37 (30.8%) con HER2 positivo.

Al explorar el estado de los receptores hormonales con el de HER2, se obtuvo un coeficiente Phi de -0.181 en la correlación del HER2 con receptores de estrógenos, ver tabla 13, 14 y figura 9. Con los receptores de progesterona se obtuvo un coeficiente Phi de -0.172, ver tabla 15, 16 y figura 10. De 173 casos de HER2 positivo, el inmunofenotipo negativo para ambos receptores hormonales se encontró en 72 casos (41.6%), ver tabla 17. De los 893 casos, 474 son positivos para ambos receptores hormonales y 240 negativos para ambos receptores hormonales, encontrándose un coeficiente Phi de -0.214 en su correlación con HER2, ver tabla 18, 19 y figura 11. Hubo triple negativo en 168 casos (19.2%), ver tabla 17.

EDAD	
N	886
Media	52.88
Mediana	52.00
Moda	50
Desviación Std.	12.247
Mínimo	24
Máximo	94

TABLA 1

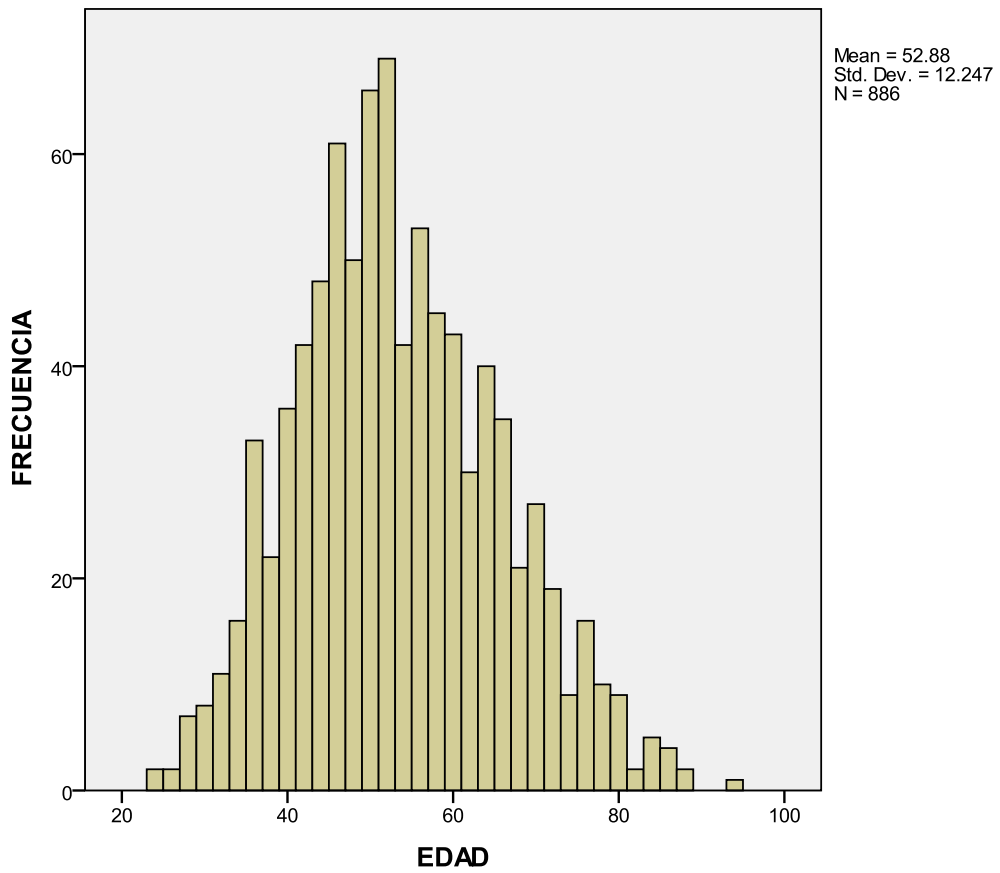


FIGURA 1

FRECUENCIA DE HER2 EN EL GRUPO DE ESTUDIO

	Cantidad	Porcentaje	Porcentaje valido
NEGATIVO	714	78.7	80.0
POSITIVO	179	19.7	20.0
Total	893	98.5	100.0
Perdida	14	1.5	
Total	907	100.0	

TABLA 2

FRECUENCIA POR ESCALA DE HER2

	Cantidad	Porcentaje	Porcentaje Valido
0	577	63.6	64.6
1+	123	13.6	13.8
2+	43	4.7	4.8
3+	150	16.5	16.8
Total	893	98.5	100.0
Perdida	14	1.5	
Total	907	100.0	

TABLA 3

FRECUENCIA POR ESCALA DE HER2

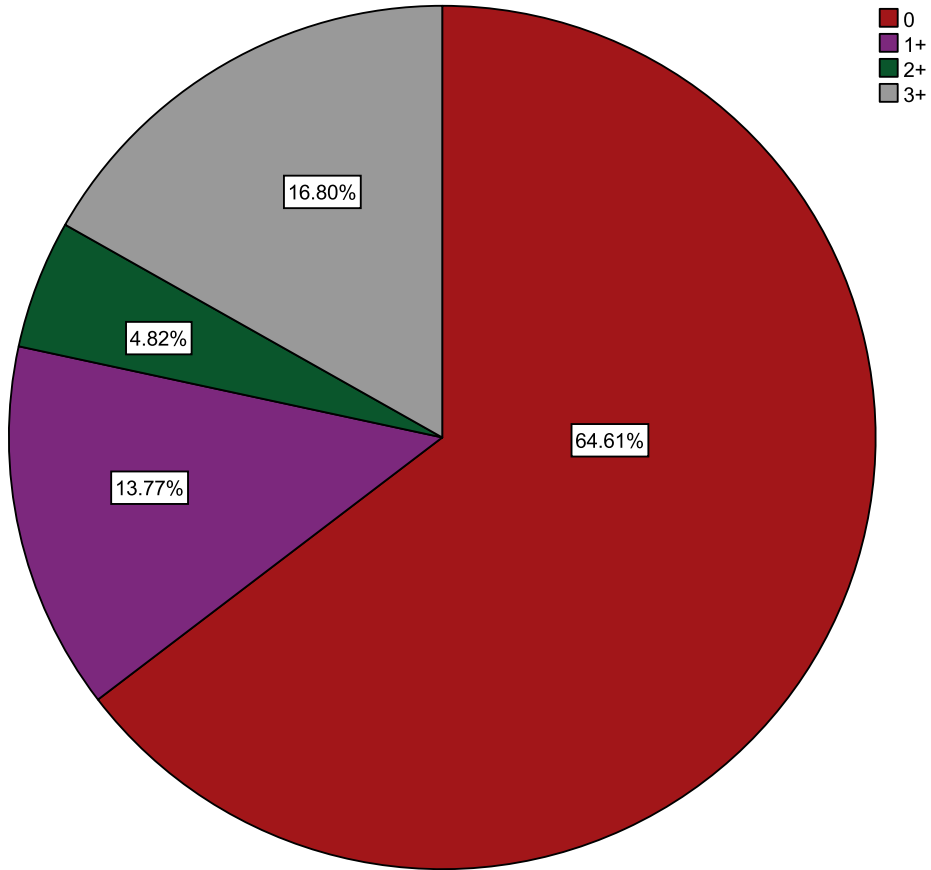


FIGURA 2

PRUEBA DE FISH

	Cantidad	Frecuencia
NEGATIVO	14	32.6
POSITIVO	29	67.4
Total	43	100.0

TABLA 4

RELACION DEL RECEPTOR DE HER 2 NEU CON TAMAÑO DEL TUMOR (T)

			T				Total
			T1	T2	T3	T4	
RECEPTOR DE HER 2 NEU	NEGATIVO	Cantidad	204	212	37	35	488
		% del Total	33.2%	34.5%	6.0%	5.7%	79.3%
	POSITIVO	Cantidad	40	64	10	13	127
		% del Total	6.5%	10.4%	1.6%	2.1%	20.7%
Total	Cantidad	244	276	47	48	615	
	% del Total	39.7%	44.9%	7.6%	7.8%	100.0%	

TABLA 5

RELACION DE RECEPTOR DE HER 2 NEU CON TAMAÑO DEL TUMOR (T)

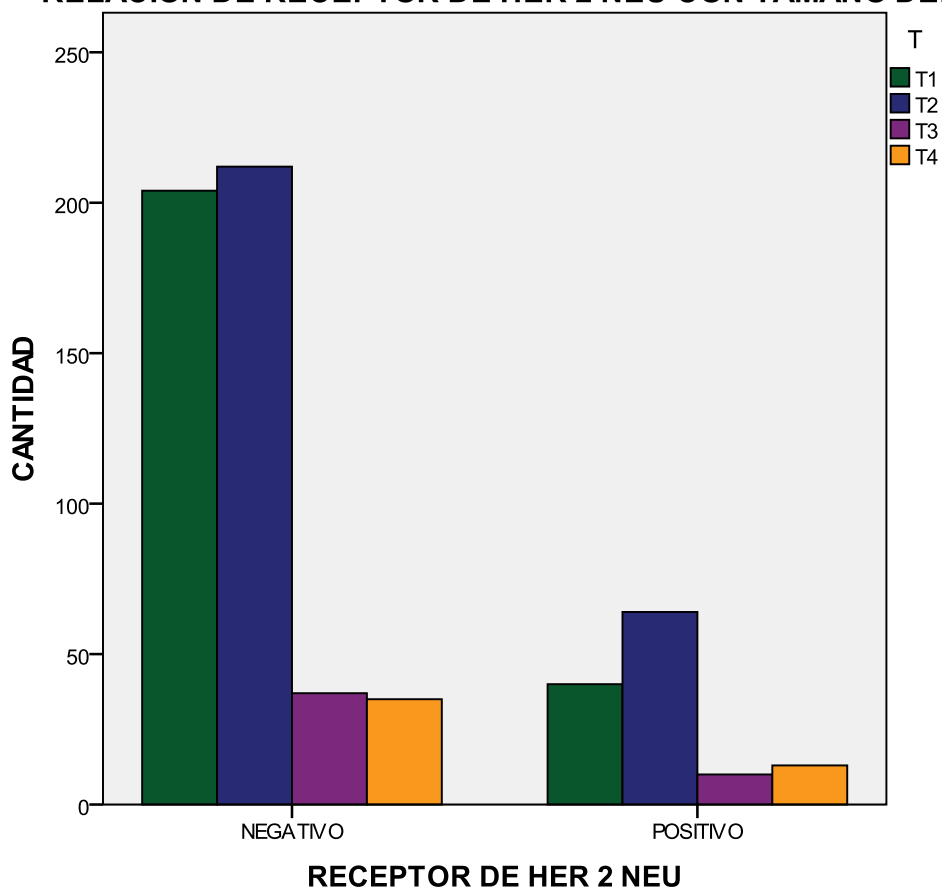


FIGURA 3

RELACION DE RECEPTOR DE HER 2 NEU CON LA PRESENCIA DE GANGLIOS (N)

			N				Total
			N0	N1	N2	N3	
RECEPTOR DE HER 2 NEU	NEGATIVO	Cantidad	207	138	77	50	472
		% del Total	35.0%	23.4%	13.0%	8.5%	79.9%
	POSITIVO	Cantidad	48	28	27	16	119
		% del Total	8.1%	4.7%	4.6%	2.7%	20.1%
Total	Cantidad	255	166	104	66	591	
	% del Total	43.1%	28.1%	17.6%	11.2%	100.0%	

TABLA 6

RELACION DE RECEPTOR DE HER 2 CON LA PRESENCIA DE GANGLIOS (N)

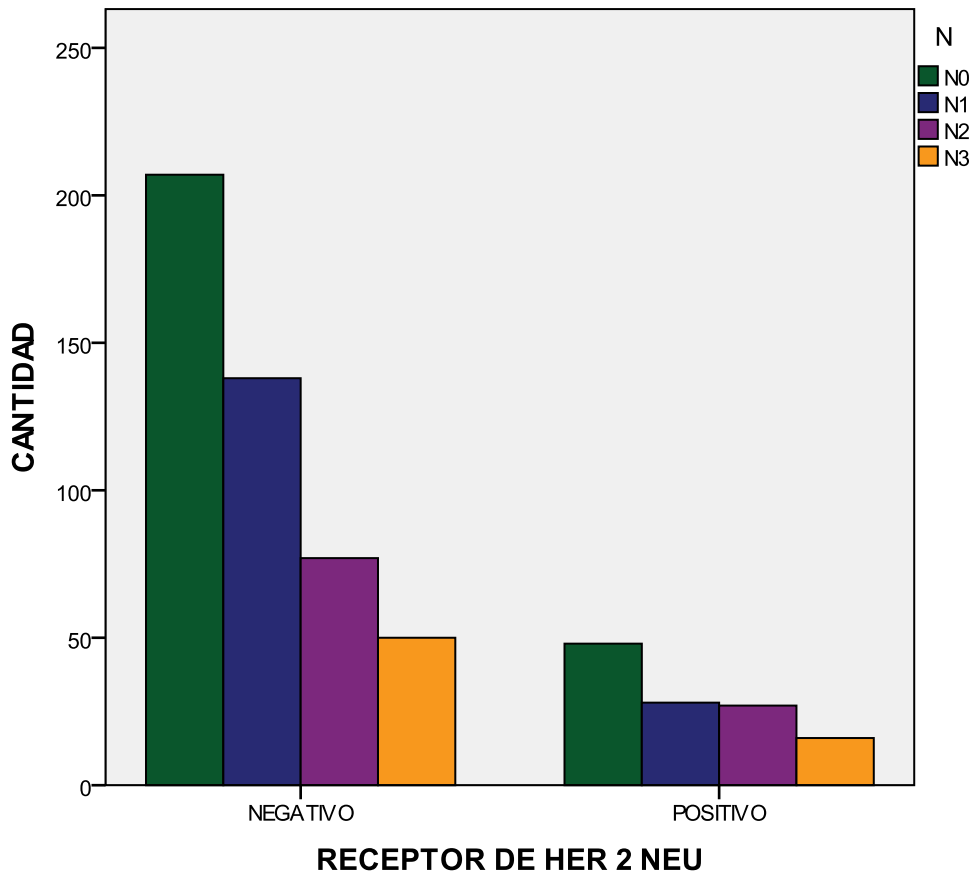


FIGURA 4

FRECUENCIA SEGUN LA ESTIRPE HISTOLOGICA

	Cantidad	Porcentaje
APOCRINO	30	4.5
COLOIDE	12	1.8
COMEDOCO	3	.4
CRIBIFORME	2	.3
DUCTAL	407	60.7
LOBULILLAR	163	24.3
MEDULAR	15	2.2
METAPLASICO	5	.7
MICROPAPILAR	4	.6
NEUROENDOCRINO	3	.4
PAPILAR	10	1.5
SECRETOR	1	.1
TUBULAR	3	.4
TUBULOLOBULILLAR	13	1.9
Total	671	100.0

TABLA 7

FRECUENCIA SEGUN LA ESTIRPE HISTOLOGICA

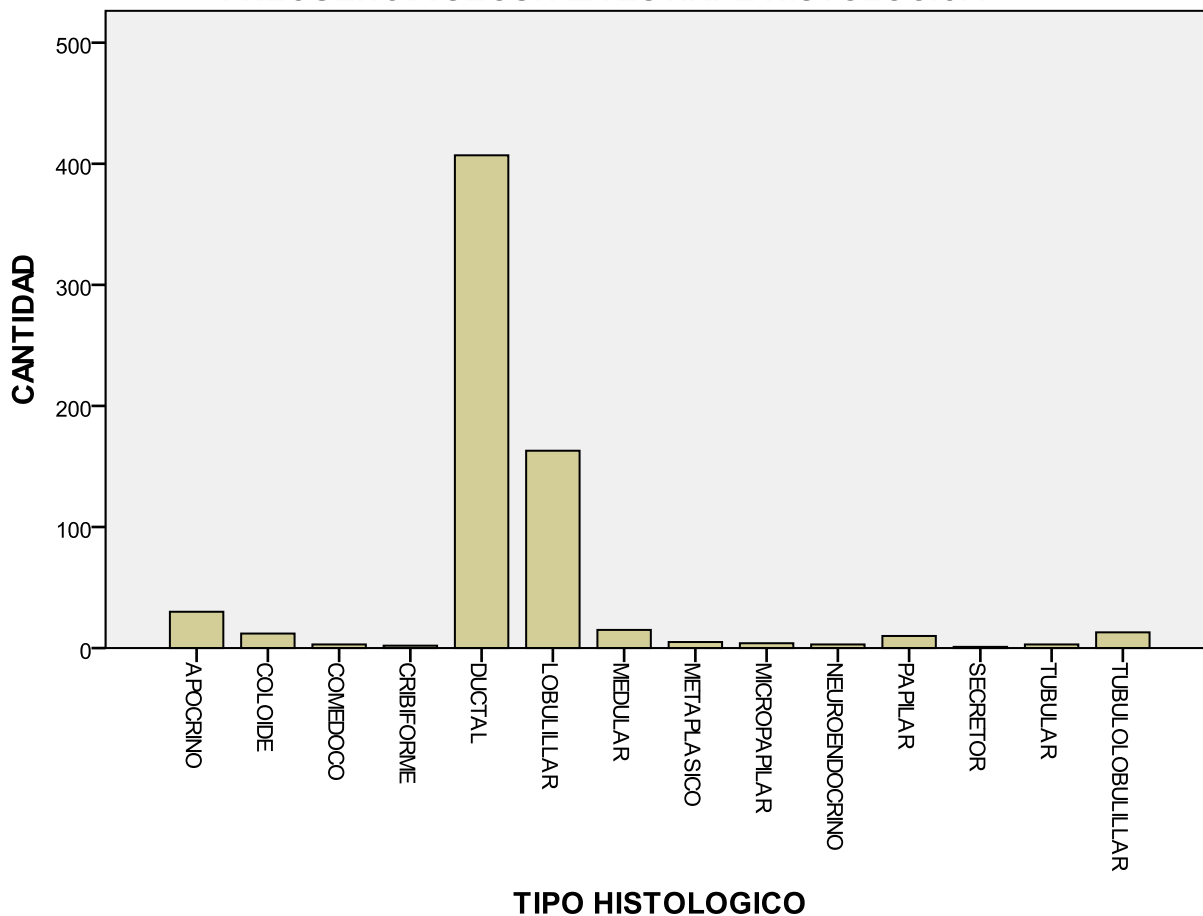


FIGURA 5

FRECUENCIA SEGUN PATRON HISTOLOGICO DEL CA LOBULILLAR

	Cantidad	Porcentaje
ALVEOLAR	6	3.9
CEL CLARAS	1	.6
CLASICO	119	76.8
PLEOMORFICO	4	2.6
SOLIDO	25	16.1
Total	155	100.0

TABLA 8

FRECUENCIA SEGÚN PATRON HISTOLOGICO DEL CA LOBULILLAR

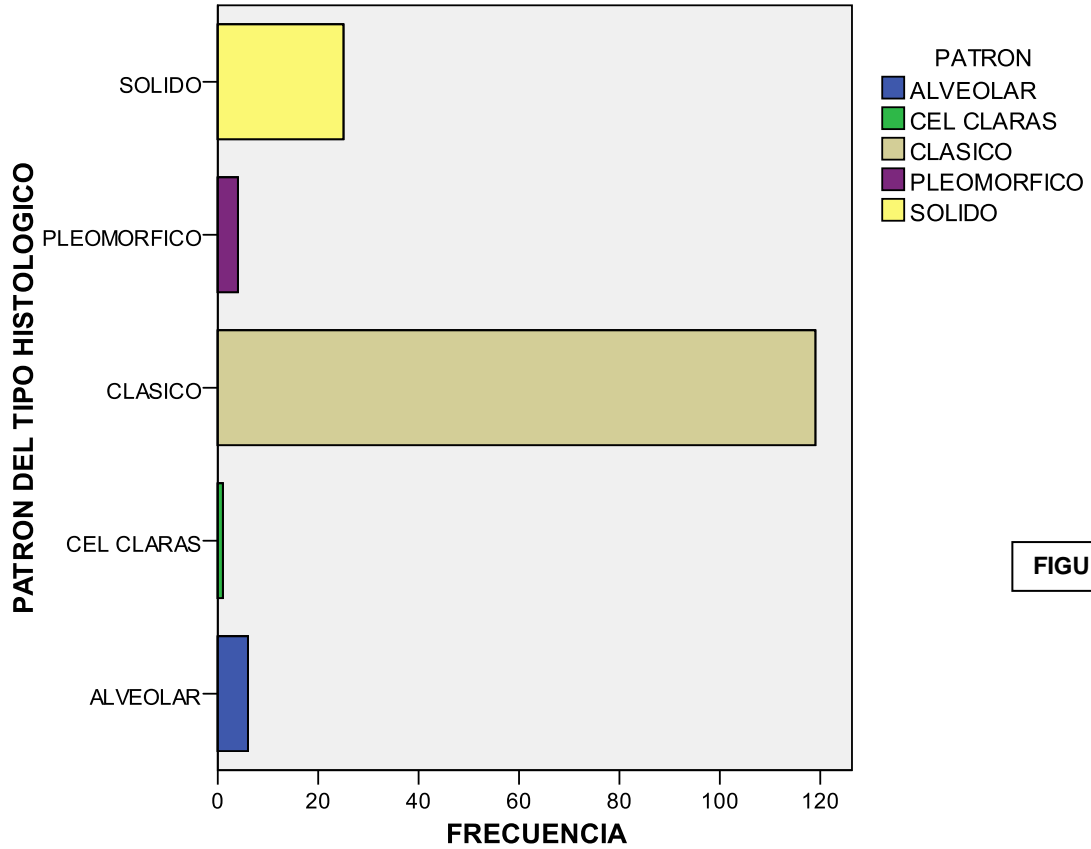


FIGURA 6

FRECUENCIA DE LA DIFERENCIACION DEL CA DUCTAL INFILTRANTE

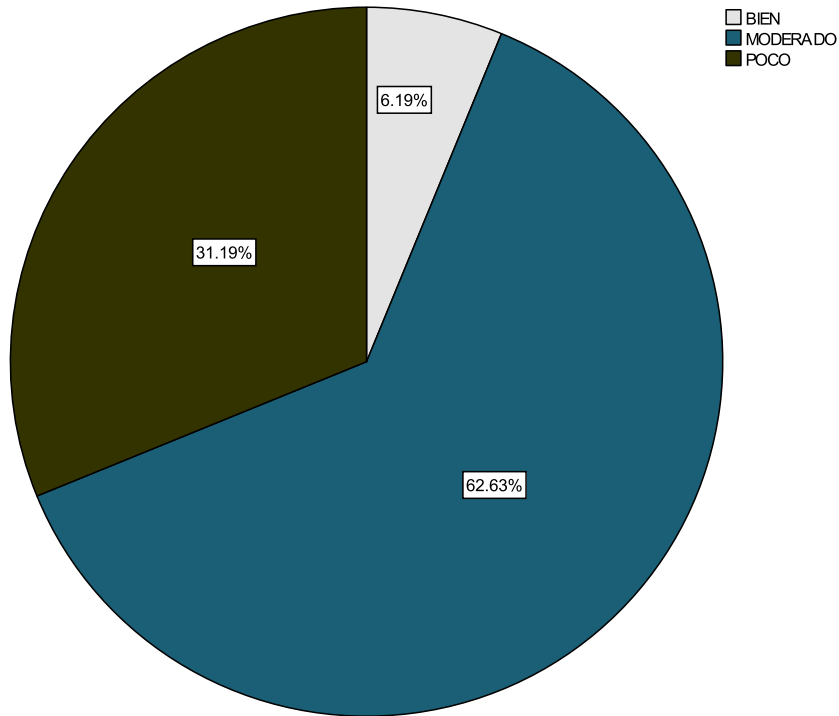


FIGURA 7

RELACION ENTRE EL TIPO HISTOLOGICO Y SOBREEXPRESION HER2

		RECEPTOR DE HER 2 NEU		Total
		NEGATIVO	POSITIVO	
TIPO HISTOLOGICO	APOCRINO	12	18	30
	COLOIDE	10	1	11
	COMEDOCO	3	0	3
	CRIBIFORME	2	0	2
	DUCTAL	306	94	400
	LOBULILLAR	148	12	160
	MEDULAR	10	5	15
	METAPLASICO	4	1	5
	MICROPAPILAR	4	0	4
	NEUROENDOCRINO	2	1	3
	PAPILAR	8	2	10
	SECRETOR	0	1	1
	TUBULAR	3	0	3
	TUBULOLOBULILLAR	12	1	13
Total		524	136	660

TABLA 9

RELACION DE LA DIFERENCIACION DEL CA DUCTAL CON SOBREEXPRESION HER2

			RECEPTOR DE HER 2 NEU		Total
			NEGATIVO	POSITIVO	
DIFERENCIACION DEL CA DUCTAL INFILTRANTE	BIEN	Cantidad	17	7	24
		% del Total	4.5%	1.8%	6.3%
	MODERADO	Cantidad	193	45	238
		% del Total	50.5%	11.8%	62.3%
	POCO	Cantidad	84	36	120
		% del Total	22.0%	9.4%	31.4%
Total	Cantidad	294	88	382	
	% del Total	77.0%	23.0%	100.0%	

TABLA 10

RELACION DE LA DIFERENCIACION DEL CA DUCTAL CON HER2

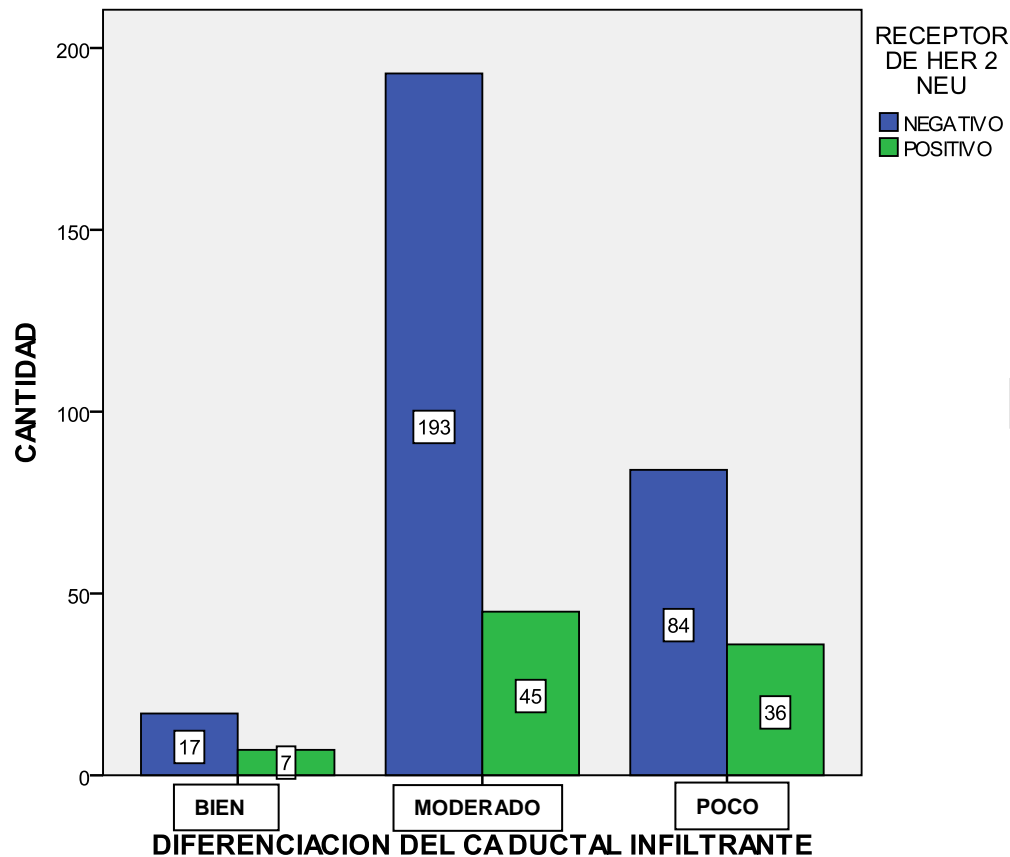


FIGURA 8

RELACION DEL PATRON DEL CA LOBULILLAR CON SOBREEXPRESION DE HER2

			RECEPTOR DE HER 2 NEU		Total
			NEGATIVO	POSITIVO	
PATRON DEL TIPO HISTOLOGICO	ALVEOLAR	Cantidad	6	0	6
		% del Total	3.9%	.0%	3.9%
	CEL CLARAS	Cantidad	1	0	1
		% del Total	.7%	.0%	.7%
	CLASICO	Cantidad	105	12	117
		% del Total	69.1%	7.9%	77.0%
	PLEOMORFICO	Cantidad	3	0	3
		% del Total	2.0%	.0%	2.0%
	SOLIDO	Cantidad	25	0	25
		% of Total	16.4%	.0%	16.4%
	Total	Cantidad	140	12	152
		% del Total	92.1%	7.9%	100.0%

TABLA 11

RELACION DE TUMORES MIXTOS CON SOBREENPRESION DE HER2

			RECEPTOR DE HER 2 NEU		Total
			NEGATIVO	POSITIVO	
TUMOR MIXTO	NO	Cantidad	477	127	604
		% del Total	72.6%	19.3%	91.9%
	SI	Cantidad	42	11	53
		% del Total	6.4%	1.7%	8.1%
Total		Cantidad	519	138	657
		% del Total	79.0%	21.0%	100.0%

TABLA 12

RELACION DE RECEPTORES DE ESTROGENO CON HER2

			RECEPTOR DE HER 2 NEU		Total
			NEGATIVO	POSITIVO	
RECEPTOR DE ESTROGENO	NEGATIVO	Cantidad	207	88	295
		% del Total	23.6%	10.0%	33.6%
	POSITIVO	Cantidad	497	85	582
		% del Total	56.7%	9.7%	66.4%
Total		Cantidad	704	173	877
		% del Total	80.3%	19.7%	100.0%

TABLA 13

CORRELACION ESTADISTICA DE RECEPTORES DE ESTROGENO CON HER2

		Valor	Aprox. Sig.
Nominal por Nominal	Phi	-.181	.000
	Cramer's V	.181	.000
N de casos validos		877	

TABLA 14

RELACION DE RECEPTORES DE ESTROGENO CON HER2

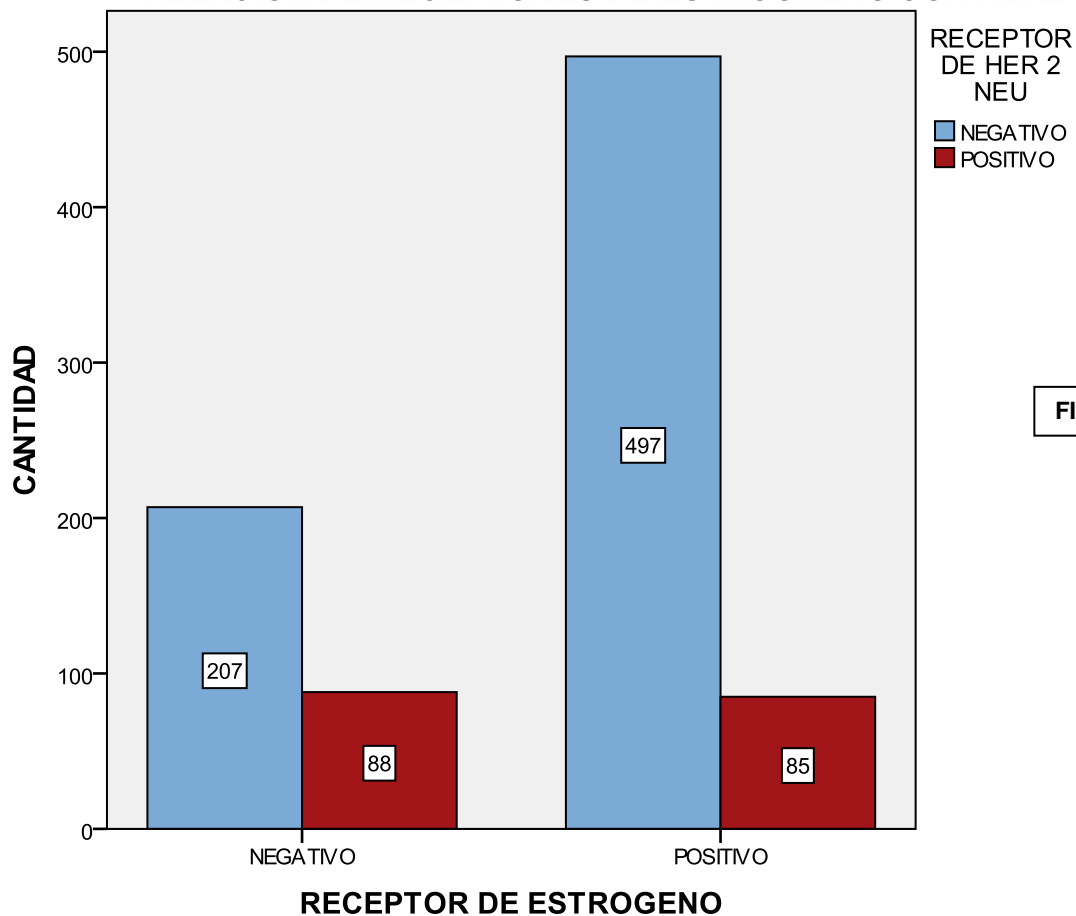


FIGURA 9

RELACION DE LOS RECEPTORES DE PROGESTERONA CON HER2

			RECEPTOR DE HER 2 NEU		Total
			NEGATIVO	POSITIVO	
RECEPTOR DE PROGESTERONA	NEGATIVO	Cantidad	250	98	348
		% del Total	28.5%	11.2%	39.7%
	POSITIVO	Cantidad	454	75	529
		% del Total	51.8%	8.6%	60.3%
Total		Cantidad	704	173	877
		% del Total	80.3%	19.7%	100.0%

TABLA 15

**CORRELACION ESTADISTICA DE RECEPTORES DE
PROGESTERONA CON HER2**

		Valor	Aprox. Sig.
Nominal por Nominal	Phi	-.172	.000
	Cramer's V	.172	.000
N de casos validos		877	

TABLA 16

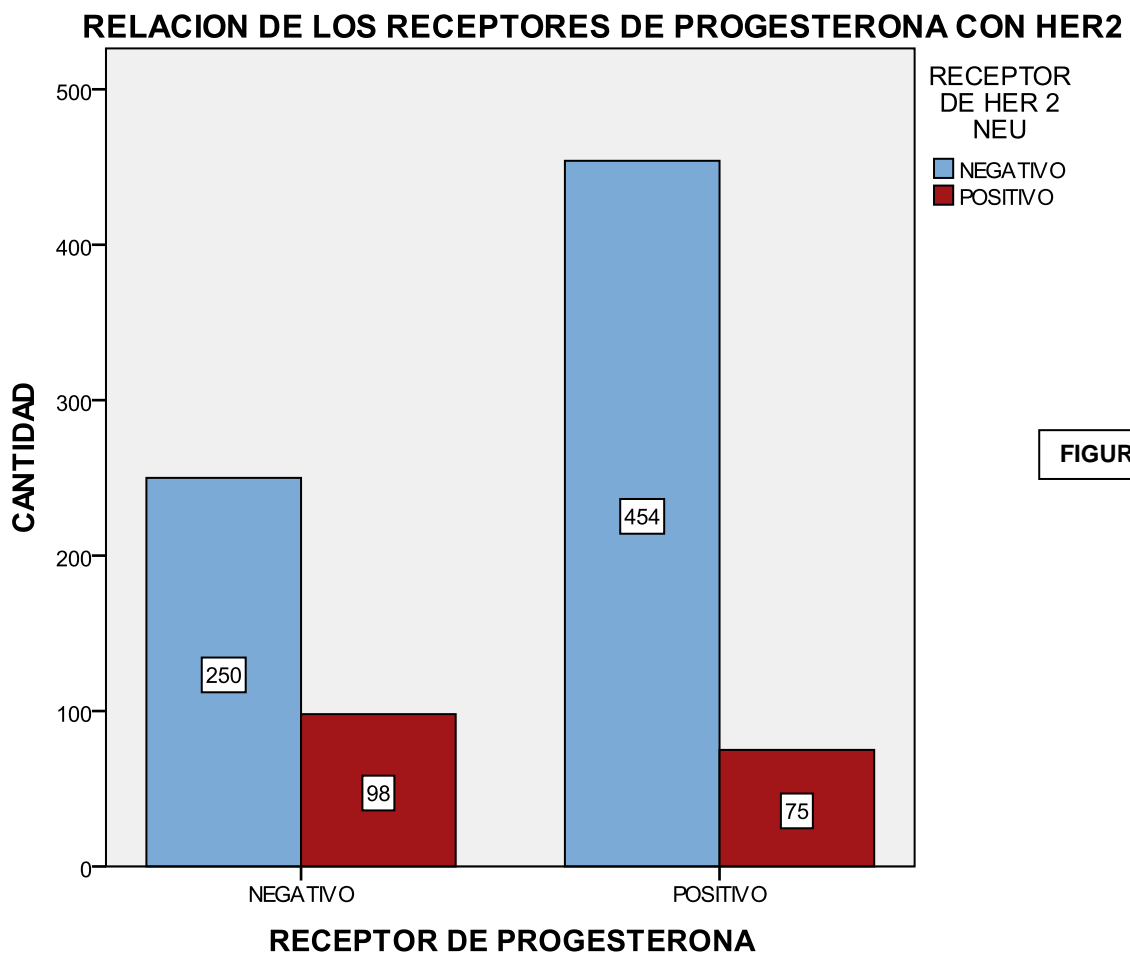


FIGURA 10

RELACION DE RECEPTORES DE ESTROGENO Y PROGESTERONA CON SOBREEXPRESION DE HER2

RECEPTOR DE PROGESTERONA				RECEPTOR DE HER 2 NEU		Total
				NEGATIVO	POSITIVO	
NEGATIVO	RECEPTOR DE ESTROGENO	NEGATIVO	Cantidad	168	72	240
			% del Total	48.3%	20.7%	69.0%
		POSITIVO	Cantidad	82	26	108
			% del Total	23.6%	7.5%	31.0%
		Total	Cantidad	250	98	348
			% del Total	71.8%	28.2%	100.0%
POSITIVO	RECEPTOR DE ESTROGENO	NEGATIVO	Cantidad	39	16	55
			% del Total	7.4%	3.0%	10.4%
		POSITIVO	Cantidad	415	59	474
			% del Total	78.4%	11.2%	89.6%
		Total	Cantidad	454	75	529
			% del Total	85.8%	14.2%	100.0%
Total	RECEPTOR DE ESTROGENO	NEGATIVO	Cantidad	207	88	295
			% del Total	23.6%	10.0%	33.6%
		POSITIVO	Cantidad	497	85	582
			% del Total	56.7%	9.7%	66.4%
		Total	Cantidad	704	173	877
			% del Total	80.3%	19.7%	100.0%

TABLA 17

RELACION DE RECEPTORES HORMONALES CON HER2

			Her2		Total
			positivo	negativo	
RECEPTORES HORMONALES	Positivos	Cantidad	59	415	474
		% del Total	8.3%	58.1%	66.4%
	Negativos	Cantidad	72	168	240
		% del Total	10.1%	23.5%	33.6%
Total		Cantidad	131	583	714
		% del Total	18.3%	81.7%	100.0%

TABLA 18

**CORRELACION ESTADISTICA DERECEPTORES HORMONALES
CON HER2**

		Valor	Aprox. Sig.
Nominal por Nominal	Phi	-.214	.000
	Cramer's V	.214	.000
N de casos validos		714	

TABLA 19

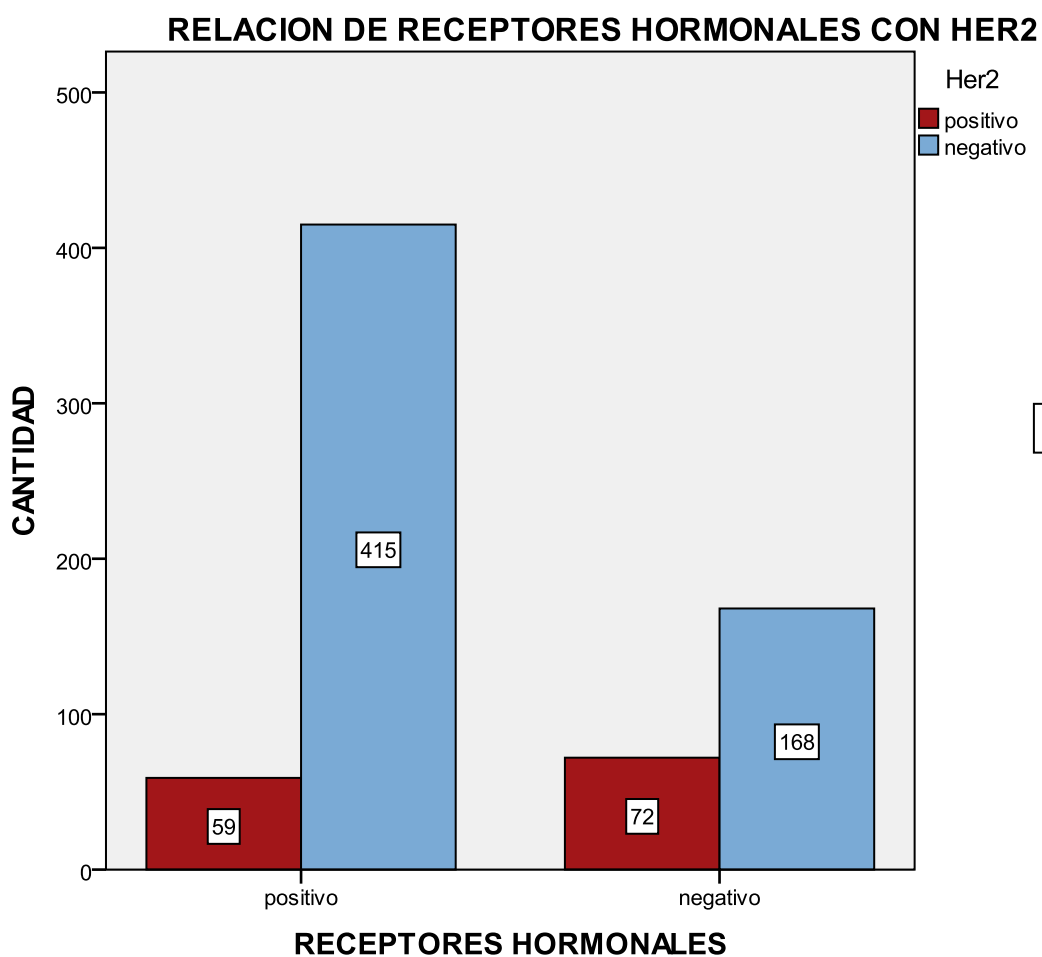


FIGURA 11

X.- CONCLUSIONES

- En este estudio se observó que la edad de las pacientes en las que se diagnostica cáncer de mama ha disminuido.
- La frecuencia de sobreexpresión de HER2 en nuestra población es la misma que en la literatura internacional.
- Los ganglios negativos, las características de ganglios positivos y tamaño tumoral no tiene relación con la sobreexpresión de HER2.
- En los tumores apócrinos la frecuencia de sobreexpresión es muy elevada, por lo que en estos tipos histológicos es importante la exploración de HER2.
- De los tumores con estirpe lobulillar solo hubo sobreexpresión de HER2 en los de patrón clásico.
- La relación de los receptores hormonales y HER2 es inversamente proporcional.
- En nuestra población la presencia de triple negativo esta levemente aumentada.

XI.- DISCUSIÓN

Se sabe que la amplificación de HER2 demuestra una relación en el pronóstico y predicción de los carcinomas mamarios, muchos estudios similares lo han demostrado. Esto es importante en el tratamiento en pacientes con cáncer de mama avanzado y establecer las características biológicas del tumor. En nuestra población mexicana se encontró una sobreexpresión de aproximadamente 20%, que corresponde a lo demostrado en estudios realizados a nivel internacional; esto es interesante ya que en ensayos realizados en nuestra población se encontró una mayor frecuencia.

Se ha realizado varios estudios en los cuales se observa que la sobreexpresión del HER2 es un factor pronóstico independiente a los ganglios positivos y características del tumor como tamaño y extensión local en el cáncer de mama, lo cual se demostró en este estudio.

Dentro de los tipos histológicos el de mayor frecuencia es el ductal infiltrante con sobreexpresión de HER2 solo del 23.5%. Dentro de los tipos especiales se encontró una mayor frecuencia en los apócrino de aproximadamente un 60%, por lo cual se justifica investigar el estado del HER2 en estos tumores.

Al investigar el estado de los receptores hormonales en los tumores con sobreexpresión HER2, se encontró que son dependientes con una correlación negativa débil, por lo que hay una mayor frecuencia de negatividad de receptores hormonales en las lesiones con sobreexpresión del HER2 en nuestra población.

El cáncer de mama triple negativo se define con un estado negativo para receptores estrogénicos y de progesterona así como para HER2. Se menciona que el 10 a 17% de los carcinomas de mama son triple negativo, esto se relaciona con sobreexpresión de EGFR y cKIT. En nuestra casuística se determinó un 19.2%, siendo importante para determinar la quimioterapia más apropiada.

Nuestro estudio nos da a entender que dentro del tratamiento de un paciente que tiene cáncer de mama avanzado, el establecer las características biológicas del tumor es de suma importancia. Además de saber que debe ser evaluado el estado de los receptores hormonales (estrógeno y progesterona), receptor 2 epidérmico humano (HER2).

Como se ha hecho mención, HER2 se refiere al segundo miembro de esta familia de cuatro receptores. Cuando la dimerización de HER2 se produce esto conduce a la activación del dominio intracelular de esta proteína. Esta activación desencadena eventos moleculares (transducción de señales) importante para la supervivencia y el crecimiento celular. En experimentos in vitro han demostrado que la inhibición de esta proteína puede conducir a la muerte celular. El agente prototipo que se ha desarrollado para hacer esto se llama trastuzumab, que es un recombinante humanizado de anticuerpos monoclonales anti-HER2. En los pacientes con cáncer de mama HER2-positivo, este agente dirigido puede ser utilizado con eficacia para reducir el tamaño de los tumores, prolongar el tiempo hasta la progresión tumoral, y mejorar la supervivencia. Este tema sería de gran importancia en estudios posteriores.

XII.- REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Akiyama T, Sudo C, Ogawara H, Toyoshima K, Yamamoto T; The product of the human c-erbB-2 gene: a 185-kilodalton glycoprotein with tyrosine kinase activity; *Science*. 1986 Jun 27; 232(4758):1644-6.
2. Archer SG, Eliopoulos A, Spandidos D, Barnes D, Ellis IO, Blamey RW, Nicholson RI, Robertson JFR; Expression of ras p21, p53 and c-erbB-2 in advanced breast cancer and response to first line hormonal therapy; *Br J Cancer* 1995, 72, 1259-1266.
3. Berns PM, Klijn JGM, van Staveren IL, Portengen H, Foekens JA; Prevalence of amplification of the oncogenes c-myc, HER2-neu and int-2 in one thousand human breast tumors: correlation with steroid receptors; *Eur J Cancer* 01 Jan 1992; 28(2-3): 697-700.
4. Berns EM, Foekens JA, Staveren IL, Van Putten WL, De Koning HY, Portengen H, Klijn JG; Oncogene amplification and prognosis in breast cancer: relationship with systemic treatment; *Gene*. 1995 Jun 14; 159(1):11-18.
5. Berry DA, Muss HB, Thor AD et al; HER-2/neu and p53 expression versus tamoxifen resistance in estrogen receptor-positive, node positive breast cancer; *J Clin Oncol* 2000; 18: 3471- 3479.
6. De Placido S, De Laurentis M, Carlomagno C, Gallo C, Perrone F, Pepe S, Ruggiero A, Marinelli A, Pagliarulo C, Panico L, Pettinato G, Petrella G, Bianco AR; Twenty-year results of the Naples GUN randomized trial: predictive factors of adjuvant tamoxifen efficacy in early breast cancer; *Clin Cancer Res*; 01 Mar 2003; 9(3):1039-46.
7. Dressler LG, Berry DA, Broadwater G, Cowan D, Cox K, Griffin S, Miller A, Tse J, Novotny D, Persons DL, Barcos M, Henderson IC, Liu ET, Thor A, Budman D, Muss H, Norton L, Hayes DF; Comparison of HER2 status by fluorescence in situ hybridization and immunohistochemistry to predict benefit from dose escalation of adjuvant doxorubicin-based therapy in node-positive breast cancer patients; *J Clin Oncol*; 1 Jul 2005; 23(19):4287-97.
8. Borg A, Baldetorp B, Ferno M, Killander D, Olsson H, Ryden S, Sigurdsson H; ERBB2 amplification is associated with tamoxifen resistance in steroid-receptor positive breast cancer; *Cancer Lett*. 1994 Jun 30; 81(2):137-144.
9. Borg A, Tandon AK, Sigurdsson H, Clark GM, Ferno M, Fuqua SAW, Killander D, McGuire WL; HER-2/Neu amplification predicts poor survival in node-positive breast cancer; *Cancer Res* 1990; July 15; 50, 4332-4337.
10. Carlomagno C, Perrone F, Gallo C, De Laurentis M, Lauria R, Morabito A, Pettinato G, Panico L, D'Antonio A, Bianco AR, De Placido S; c-erb B2 overexpression decreases the benefit of adjuvant tamoxifen in early-stage breast cancer without axillary lymph node metastases; *J Clin Oncol*. 1996 Oct; 14(10):2702-8.
11. Chivukula M, Bhargava R, Brufsky A, Surti U, Dabbs DT; Clinical importance of HER 2 immunohistologic heterogeneous expression in core-needle biopsies vs resection specimens for equivocal (immunohistochemical score 2+) cases; *Mod Pathol*; 01 Apr 2003; 21(4):363-8.
12. Chung YL, Sep ML, Yang SC et al. Resistance to tamoxifen-induced apoptosis is associated with direct interaction between HER2/neu and cell membrane estrogen receptor in breast cancer. *Int J Cancer* 2002; 97: 306-312
13. Colomer R, Llombart A, Ramos M et al; FERUM HER-2 ECD and the efficacy of letrozole in ER+/PR+ metastatic breast cancer: preliminary results of a prospective study; *Breast Cancer Res Treta* 2001; 69: 242.

14. Cuesta MT, Mendoza RH, Alcazar SJ, Torres JE, Ortiz HC; Marcadores biológicos en carcinomas mamarios con alta sobre-expresión de proteína HER2; *Ginecol Obs Mex*; 2001; vol. 69, 161-166.
15. Depowski PL, Brien TP, Sheehan CE, Stylos S, Johnson RL, Ross JS; Prognostic significance of p34cdc2 cyclin-dependent kinase and MIB1 overexpression, and HER-2/neu gene amplification detected by fluorescence in situ hybridization in breast cancer; *Am J Clin Pathol*. 1999 Oct; 112(4):459-69.
16. Egervari K, Szollosi Z, Nemos Z; Immunohistochemical antibodies in breast cancer HER2 diagnostics. A comparative immunohistochemical and fluorescence in situ hybridization study; *Tumour Biol*, 01 Jan 2008; 29(1):18-27.
17. Elledge RM, Green S, Ciocca D et al. HER-2 expression and response to tamoxifen in estrogen receptor-positive breast cancer: a Southwest Oncology Group study. *Clin Cancer Res* 1998; 4: 7-12.
18. Federico M Stefanini, Danila Coradini and Elia Biganzoli Conditional independence relations among biological markers may improve clinical decision as in the case of triple negative breast cancers *BMC Bioinformatics* 2009, 10(Suppl 12):S13.
19. Gusterson BA, Gelber RD, Goldhirsch A, Price KN, Sève-Söderborgh J, Anbazhagan R, Styles J, Rudenstam CM, Golouh R, Reed R, et al; Prognostic importance of c-erbB-2 expression in breast cancer. International (Ludwig) Breast cancer study group; *J Clin Oncol*. 1992 Jul; 10(7):1049-56.
20. Jones A; Combining trastuzumab (Herceptin) with hormonal therapy in breast cancer: what can be expected and why?; Royal Free Hospital Clinical Oncology, London, UK, 2003 European Society for Medical Oncology.
21. Leitzel K, Teramoto Y, Honrad K, Chinchilli VM, Volas G, Grossberg H, Harvey H, Demers L, Lipton A; Elevated serum c-erbB-2 antigen levels and decreased response to hormone therapy of breast cancer; *J Clin Oncol*. 1995 May; 13(5):1129-35.
22. Lui YH, Xu FP, Rao JY, Zhuang HG, Luo XL, Li L, Luo DL, Zhang F, Xu J; Justification of the change from 10% to 30% for the immunohistochemical HER2 scoring criterion in breast cancer; *Am J Clin Pathol*; 01 Jul 2009; 132(2): 74-9.
23. Love RR, Ba Duc N, Havighurst TC et al. HER-2/ neu overexpression and response to oophorectomy plus tamoxifen adjuvant therapy in estrogen receptor-positive premenopausal women with operable breast cancer; *J Clin Oncol* 2003; 21: 453-457
24. Lovekin C, Ellis IO, Locker A, Robertson JF, Bell J, Nicholson R, Gullick WJ, Elston CW, Blamey RW; c-erbB-2 oncoprotein expression in primary and advanced breast cancer; *Br J Cancer*; 01 Mar 1991; 63(3):439-43.
25. Masood S, Bui MM, et al; Reproducibility of LSI HER-2/Neu Spectrum Orange and CEP 17 Spectrum Green Dual color DNA probe kit for enumeration of gene amplification in paraffin-embedded specimens: a multicenter clinical validation study; *Ann Clin Lab Sci*. 1998; 28: 215-223.
26. Newby JC, Johnston SR, Smith IE, Dowsett M; Expression of epidermal growth factor receptor and c-erbB2 during the development of tamoxifen resistance in human breast cancer; *Clin Cancer Res*. 01 Sep 1997; 3(9):1643-51.
27. Paik S, Bryant J, Tan-Chiu E, Yothers G, Park C, Wickerham, DL, Wolmark N; HER2 and choice of adjuvant chemotherapy for invasive breast cancer: National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project Protocol B-15; *Journal of the National Cancer Institute*; vol. 92, No 24, December 20, 2000. 1991-1998.

28. Pauletti G, Godolphin W, Press MF, Slamon DJ; Detection and quantitation of HER-2/Neu gene amplification in human breast cancer archival material using fluorescence in situ hybridization; *Oncogene*; 1996 Jul 4; 13(1):63-72.
29. Penault LF, Vincent SA, Mathieu MC, Trillet LV, Khayat D, Marty M; HER2 overexpression in first metastatic breast cancer (MBC) progression: Preliminary data from the French National Epidemiological Study (ESTHER); Centre Jean Perrin, Clermont Ferrand; Institut Curie, Paris; Institut Gustave Roussy, Villejuif; Hospices Civils, Lyon; Hopital Pitié-Salpêtrière, Paris; France; June 2000 - November 2001.
30. Persons DL, Bui MM, Lowery MC, Mark HF, Yung JF, Birkmeier JM, Wong EY, Yang SJ, Masood S; Fluorescence in situ hybridization (FISH) for detection of HER-2/neu amplification in breast cancer: a multicenter portability study; *Ann Clin Lab Sci*. 2000 Jan;30(1):41-8.
31. Press MF, Hung G, Godolphin W, Slamon DJ; Sensitivity of HER-2/neu antibodies in archival tissue samples: potencial source of error in immunohistochemical studies of oncogene expression; *Cancer Res*; May 15, 1994; 54: 2771-2777.
32. Press MJ, Bernstsin L, Thomas PA, Meisner LF, Zhou JY, Ma Y, Hung G, Robinson RA, Harris C, El Naggari A, Slamon DJ, Phillips RN, Ross JS, Wolman SR, Flom KJ; Her-2/neu gene amplification characterized by fluorescence in situ hybridization: poor prognosis in node-negative breast carcinomas; *J Clin Oncol*; 01 Aug 1997; 15(8):2894-904.
33. Quennel N, Wafflart J, Bonichon F, de Mascarel I, Trojani M; Durand M; Avril A; Coindre JM; The prognostic value of c-erbB2 in primary breast carcinomas: a study on 942 cases; *Breast Cancer Res Treat*; 01 sep 1995; 35(3):283-91.
34. Seshadri R, Firgaira FA, Horsfall DJ; Clinical significance of HER-2/neu oncogene amplification in primary breast cancer. The South Australian Breast Cancer Study Group; *J Clin Oncol*; 1993; 11: 1936-1942.
35. Slamon DJ, Clark GM, Wong SG, Levin WJ, Ullrich A, McGuire WL; Human breast cancer: Correlation of relapse and survival with amplification of the HER-2/neu oncogene; *Science*. 1987 Jan 9; 235(4785):177-82.
36. Slamon DJ, Godolphin W, Jones LA, Holt JA, Wong SG, Keith WJ, Levin WJ, Stuart SG, Udove J, Ullrich A, et al; Studies of the HER-2/neu proto-oncogene in human breast and ovarian cancer; *Science*. 1989 May 12; 244(4905):707-12.
37. Stal O, Borg A, Ferno M et al; ErbB2 status and the benefit from two or five years of adjuvant tamoxifen in postmenopausal early stage breast cancer; *Ann Oncol* 2000; 11: 1545-1550.
38. Umemura Si, Osamura RY, Akimaya F, Honma K, Kurosumi M, Sasano H, Toyoshima S, Tsuda H, Rasschoft J, Sakamoto G; What causes discrepancies in HER2 testing for breast cancer? A Japanese ring study in conjunction with the global standard; *Am J Clin Pathol*; 01 Dec 2008; 130(6):883-91.
39. Yamauchi H, O'Neill A, Gleason R, Carney W, Tenney DY, Haisch S, Hayes DF; Prediction of response to antiestrogen therapy in advanced breast cancer patients by pretreatment circulating levels of extracellular domain of the HER-2/c-neu protein; *J Clin Oncol*; 01 Jul 1997; 15(7):2518-25.
40. Wright C, Nicholson S, Angus B, Sainsbury JRC, Farndon J, Cairns J, Harris AL, Horne CHW; Relationship between c-erbB-2 protein product expression and response to endocrine therapy in advanced breast cancer; *Br J Cancer*; 1992; 65,118-121.

XIII.- CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

	AGOSTO 09	SEPT 09	OCTUB 09	NOVIEM 09	DICIEM 09	ENERO 10	FEBRERO 10	MARZO 10
Planeación Estudio	■							
Búsqueda de Información	■							
Redacción Protocolo		■						
Presentación al comité			■					
Captación de Expedientes				■	■	■		
Análisis de información						■	■	
Presentación resultados							■	
Elaboración de Tesis								■

HOJA DE RECOLECCION DE DATOS

“Frecuencia de sobreexpresión del receptor HER-2 en pacientes con Cáncer de Mama”

Nombre:				Afiliación:			
Edad:				No. de bloque:			
Espécimen:				No. de quirúrgico:			
TIPO HISTOLOGICO							
Carcinoma in situ		ductal:			lobulillar:		
Carcinoma infiltrante		ductal:		Lobulillar:		tubular/cribiforme:	
		mucinoso:		medular:		papilar:	
ETAPA TNM							
T1:	T2:	T3:	T4:	N0:	N1:	N2:	N3:
HER2/NEU							
IHC 0:		IHC 1+:		IHC 2+:		IHC3+:	
PRUEBA DE FISH							
Positivo:				Negativo:			
RECEPTORES HORMONALES							
Progesterona		Positivo:			Negativo:		
Estrógenos		Positivo:			Negativo:		

ANEXOS

PRUEBAS PARA DETERMINACIÓN DE HER2/neu

1. PREPARACIÓN DEL TEJIDO

- Se prefieren muestras resecadas quirúrgicamente de lumpectomía (tumorectomía) o mastectomías.
- El tiempo transcurrido desde la escisión de la muestra hasta la fijación del tejido puede afectar los resultados de las pruebas de determinación de HER2/neu.
- El grosor de los cortes del tejido antes de la fijación, puede también alterar los resultados, pues demora la penetración del fijador. Es importante recordar que el formol sólo penetra un grosor de 8 mm.
- Se debe tener cuidado y asegurarse de que los especímenes estén fijados óptimamente mediante cortes de 0.5-1.0 cm.
- El espécimen debe ser fijado tan pronto sea posible después de la escisión, lo preferible es que transcurra menos de 1 hora.
- Es preferible siempre utilizar el formol buffereado (amortiguado con fosfatos).
- El tiempo ideal de la duración de la fijación es entre 6 a 36 horas. Pero un tiempo menor a 24 horas y mayor a 48 horas a demostrado tener un efecto negativo en la interpretación de los resultados de IHC.
- El tipo de fijador puede afectar la determinación de HER2/neu por IHC e introducir artefactos. La fijación con formalina puede resultar en una tinción más débil y alterar la calificación hacia valores más bajos (IHC), sobre todo si la fijación es < 24 hrs o > 48 horas.
- Los fijadores basados en alcohol como el AFA, Z-5 y Pen-Fix, pueden estar asociados con tinciones muy fuertes, alterando la calificación hacia valores más altos (IHC). Los fijadores con base de alcohol también pueden alterar los resultados de FISH.
- Después de que el espécimen tenga el baño o sea embebido en parafina debe ser almacenado a una temperatura de 20 a 25° C.
- Cuando se cortan secciones del bloque y se dejan a temperatura ambiente por un tiempo significativo antes de hacer la prueba de HER2/neu, puede ocurrir pérdida del antígeno. Se recomienda que las secciones se deben cortar del bloque sólo cuando se tenga todo listo para iniciar la prueba de HER2/neu.
- El grosor de las secciones del tejido cortado del bloque, puede afectar la visualización e interpretación de los resultados de la prueba.

2. INMUNOHISTOQUÍMICA (IHC) HercepTest

El sistema HercepTest es propiedad de la compañía de origen Danés DAKO. Es un sistema completo de inmunohistoquímica (IHC) estándar que incluye todos los reactivos necesarios para hacer la prueba de determinación. A través del uso consistente de este método y reactivos, HercepTest proporcionará resultados reproducibles de laboratorio en laboratorio.

HercepTest es un procedimiento simple de reacción inmunohistoquímica para especímenes procesados de rutina con baño de parafina. Los resultados proporcionados por HercepTest pueden estar disponibles en 1 día.

El kit o sistema HercepTest incluye:

- Solución de recuperación del epítipo.
- Bloque de peroxidasa.

- Anticuerpo de conejo policlonal HercepTest.
- Reactivo de conejo para control negativo.
- Polímero marcado, HRP.
- Cromógeno líquido DAB+.
- Sustrato buffe DAB.
- Solución 10x buffer de lavado.
- Laminillas de control HercepTest.
- Existen 2 presentaciones para 35 o para 100 pruebas.

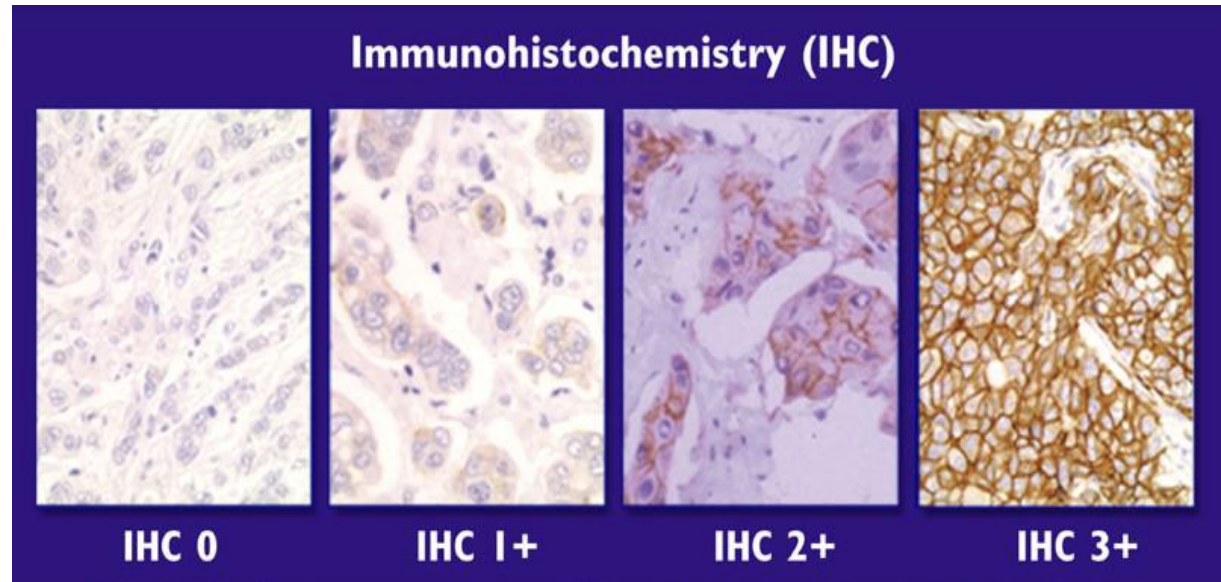
Procedimiento del sistema:

- Aplicar el bloque de peroxidasa e incubar por 5 minutos.
- Aplicación del anticuerpo primario. Incubar por 30 minutos.
- Aplicación del polímero marcado HRP. Incubar por 30 minutos.
- Aplicación del sustrato de cromógeno. Incubar 10 minutos.

Interpretación de los resultados:

La interpretación de la IHC HercepTest yace en un sistema de calificación cualitativo sobre una escala de 0 a 3+, basado en la intensidad y complejidad de la reacción en la membrana celular:

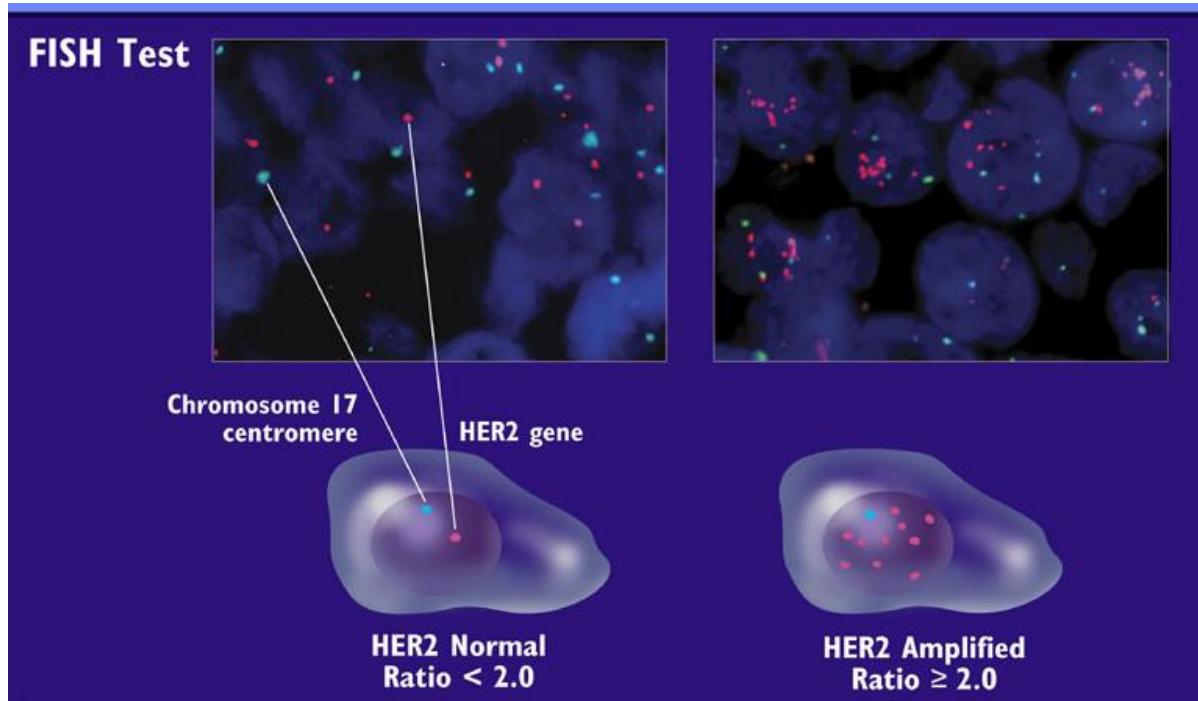
- IHC 0 (negativo)
- IHC 1+ (negativo)
- IHC 2+ (límitrofe)
- IHC 3+ (positivo)



3. PRUEBA POR FLUORESCENCIA DE HIBRIDACIÓN IN SITU (FISH)

La prueba de FISH más utilizada a nivel mundial es la de PathVysion (Abbott) la cual utiliza una combinación de 2 pruebas de DNA, una para determinar HER2 y la otra para determinar el centrómero del cromosoma 17. En general FISH mide en forma de radio, el número de genes de HER2 en un espécimen por cada centrómero del cromosoma 17. Los

resultados de FISH se reportan como FISH – (normal, ratio de copia del gen < 2) y FISH+ (gen amplificado, ratio de copia del gen ≥ 2). La prueba de FISH dura 2 días en completarse.



El procedimiento para practicar la prueba de FISH es el siguiente:

1. Pre tratamiento:
 - Se cortan secciones de 4-5 μ m de grosor y se colocan en laminillas de vidrio para microscopio.
 - Las secciones son desparafinadas en xileno y deshidratada en una serie graduada de etanol.
 - Las secciones son luego tratadas con proteasa para aumentar la accesibilidad de direccionarse directo al DNA para la hibridación.
2. Hibridación:
 - El DNA celular es desnaturalizado mediante la colocación de la laminilla en una solución caliente de formamida y luego deshidratada mediante una serie graduada de etanol.
 - Se añaden las pruebas o reactivos y se dejan hibridar al DNA complementario.
 - Se lavan las laminillas para remover el exceso de los reactivos.
3. Interpretación
 - La señal fluorescente puede disminuir con el tiempo por lo que lo el espécimen se debe interpretar y calificar en el tiempo señalado.
 - Se deben contar aprox. 60 células para determinar el nivel de amplificación de HER2
 - En general FISH mide en forma de ratio, el número de genes de HER2 en un espécimen por cada centrómero del cromosoma 17. Los resultados de FISH se reportan como FISH – (normal, ratio de copia del gen < 2) y FISH+ (gen

amplificado, ratio de copia del gen ≥ 2). La prueba de FISH dura 2 días en completarse.

- En ocasiones se puede observar polisomía del cromosoma 17, se desconoce su frecuencia, pero datos preliminares indican que la polisomía 17 es relativamente frecuente en HER2 IHC 3+.