



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN
INSTITUTO NACIONAL DE CANCEROLOGÍA
CURSO DE ESPECIALIDAD EN ONCOLOGÍA MÉDICA**

**COMPARACIÓN DE IHC4-SCORE CON
ONCOTYPE DX COMO PREDICTOR DE RIESGO DE
RECURRENCIA EN CÁNCER DE MAMA TEMPRANO.
EXPERIENCIA EN EL INSTITUTO NACIONAL DE
CANCEROLOGÍA DE MEXICO**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
SUBESPECIALISTA EN ONCOLOGÍA MÉDICA**

PRESENTA:

DRA. IVETTE MARGARITA PALMA VALLE

**DRA. CYNTHIA MAYTÉ VILLARREAL GARZA
TUTOR PRINCIPAL**

**FERNANDO ULISES LARA MEDINA
PROFESOR TITULAR DEL CURSO**



MÉXICO, D.F.

2013



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.

AGRADECIMIENTOS

**La esperanza que se demora es tormento del corazón;
pero árbol de vida es el deseo cumplido,
Proverbios 13:12**

A Dios, el dador y hacedor de vida, por quien soy, tengo y puedo, quien es mi todo y suficiente para vivir, quien me ha formado con el propósito de servir a los demás.

A mis padres, quienes han sido, son y serán mi ejemplo a seguir, por su esfuerzo constante, inagotable paciencia, amor, confianza, tolerancia, esperanza, fortaleza, por todo su apoyo a través de cada paso en mi vida.

A mis hermanos y hermanas, los mejores que puedo tener, quienes son como padres y madres para mí, por quererme y apoyarme en cada situación, incondicionalmente, por su confianza en mí.

A mis maestros, de quienes he aprendido a través de su ejemplo, no sólo a buscar y atesorar el conocimiento, sino también, a procurar el sentido de humanidad, de empatía, a poner en primer lugar la necesidad de otros, incluso sobre las propias.

A mis compañeros, familia adquirida para mí, a quienes llevaré en mis recuerdos, por todos los momentos compartidos, a quienes agradezco por su apoyo incondicional.

Por último, pero no menos importantes, a los pacientes, el motor de esta profesión, el motivo de nuestro esfuerzo y sacrificio a través de tantos años, por quienes estamos dispuestos a darnos en cuerpo y alma, con el fin de recuperar su salud.

INDÍCE

I. RESUMEN.....	4
II. MARCO TEÓRICO.....	5
III. CONSIDERACIONES ÉTICAS.....	12
IV. JUSTIFICACIÓN.....	13
VII. MATERIAL Y MÉTODOS.....	14
a) Planteamiento del problema.....	14
b) Objetivos.....	14
c) Diseño del estudio.....	15
d) Criterios de Selección.....	16
e) Análisis de Variables y Pruebas Estadísticas.....	17
VIII. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE LOS DATOS.....	20
a) Características generales de la población.....	20
b) Relación entre resultados de IHC4 Score y Oncotype DX®.....	27
IX. DISCUSIÓN.....	32
X. CONCLUSIONES.....	36
XI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	38
XII. APÉNDICE.....	42

ANTECEDENTES: El cáncer de mama representa un problema de salud mundial. Alrededor del 30% de los casos se presentan en etapas tempranas (I-II B), presentando un riesgo de recurrencia variable. Receptores hormonales, HER2, afección ganglionar, influyen directamente en el beneficio del tratamiento adyuvante. Oncotype DX®, herramienta útil en la predicción del riesgo de recurrencia y por lo tanto, en la determinación del beneficio de tratamiento adyuvante, clasifica a las pacientes en grupos de riesgo (bajo, intermedio y alto), de acuerdo al puntaje obtenido del análisis genético de estos tumores. Aunque efectiva, es una prueba costosa, que no está disponible para nuestra población. IHC4 Score es una herramienta pronóstica que utiliza variables de inmunohistoquímica: receptores estrogénicos, receptores de progesterona, HER2 y Ki-67. En este estudio se intenta determinar su utilidad en el pronóstico de pacientes con cáncer de mama temprano, a través de su comparación con el puntaje obtenido por Oncotype DX®

MÉTODOS: Se analizó IHC4 Score en 93 pacientes con cáncer de mama temprano, con receptores hormonales, HER2 negativo, N0-3 ganglios positivos tratadas en el Instituto Nacional de Cancerología. Por último, el Score se comparó contra el Oncotype DX® por medio de la correlación.

RESULTADOS: Las variables analizadas (excepto RE) fueron similares a las reportadas en el estudio de IHC4 Score, encontrándose una baja correlación entre el puntaje obtenido por Oncotype DX® y el obtenido por IHC4 Score.

CONCLUSIONES: En la población estudiada, IHC4 Score mostró una baja correlación con respecto al Oncotype DX® en la predicción de riesgo de recurrencia, en pacientes con cáncer de mama temprano, por lo que no podemos recomendar la sustitución de Oncotype DX® por IHC4 score, sin embargo, se requieren estudios adicionales para agotar las instancias del modelo en nuestra población. Posiblemente se requiera un nuevo modelo de ajuste refinado a las características de nuestra población.

MARCO TEÓRICO

CÁNCER DE MAMA

Introducción

El cáncer de mama representa un problema de salud a nivel mundial. La Sociedad Americana de Cáncer estima que 234,580 mujeres serán diagnosticadas con cáncer de mama y 40,030 morirán por la enfermedad en Estados Unidos en el año 2013.¹

En México, con una población un poco mayor de 100 millones de habitantes, el cáncer de mama es hoy día uno de los desafíos más importantes para la salud de la mujer adulta. Desde 2006, el cáncer de mama es la causa principal de mortalidad por cáncer en mujeres mexicanas, representando el 14% de las muertes asociadas a cáncer.^{2,3} La predicción de GLOBOCAN para el 2030, es que 24,386 mujeres serán diagnosticadas y 9778 (40%) morirán por cáncer de mama en México, considerando esta situación un reto para los sistemas de salud.⁴

México tiene tres tipos de seguridad pública: el Instituto Mexicano del Seguro Social, que provee seguridad al sector privado, empleados asalariados y sus familias, cubriendo cerca de 40% de la población; el Instituto de Seguridad y Servicios Sociales de los Trabajadores del Estado que cubre al sector público, alrededor del 7% de la población; y el Seguro Popular, el cual inició en 2004, cubriendo hasta 40% de las familias, teniendo como prioridad aquellos individuos de escasos recursos económicos.⁵

En la actualidad los costos del diagnóstico y tratamiento en cáncer de mama son cubiertos casi en su totalidad por alguno de los sistemas de salud. Sin embargo, los avances en pruebas diagnósticas y tratamiento representan costos muy elevados que

deben ponderarse, definiendo el costo-beneficio, justificando de esta forma, la utilización de los recursos económicos.

Cáncer de Mama Temprano

Las pacientes diagnosticadas con cáncer de mama temprano, que corresponden a las etapas clínicas I-II B (que incluye T2N1M0) se asocian a un buen pronóstico posterior al tratamiento quirúrgico. Sin embargo, existen casos, donde la recaída local o a distancia puede ocurrir después del tratamiento quirúrgico.⁶

En la enfermedad temprana, es necesario:

- Estimar el riesgo de recurrencia después del tratamiento inicial
- Considerar la terapia adecuada para reducir este riesgo de recurrencia
- Definir potenciales beneficios y riesgos del tratamiento adyuvante.

Abordaje de Pacientes con Cáncer de Mama Temprano

El tratamiento inicial del cáncer de mama temprano incluye distintos elementos. El quirúrgico puede constar de mastectomía o tumorectomía con disección ganglionar axilar. La resección de ganglio centinela en la etapificación quirúrgica de la axila es el método preferido para determinar el estado patológico de los ganglios linfáticos axilares en pacientes con etapa clínica I o II.

La irradiación a mama se recomienda en pacientes que son llevadas a cirugía conservadora, mientras que la irradiación a pared torácica y ganglios linfáticos regionales se sugiere después de realizar mastectomía en pacientes seleccionadas.

Posterior a la cirugía, el tratamiento sistémico adyuvante está indicado en casos seleccionados, de acuerdo al riesgo de recurrencia, determinado por los factores pronósticos presentes, como son: número de ganglios axilares afectados, tamaño tumoral, grado histológico, expresión de receptores de estrógeno (RE) o progesterona (RP), sobreexpresión de HER2, Ki-67, edad, invasión vascular, entre otros.⁷

El uso de quimioterapia adyuvante reduce el riesgo de recurrencia en un promedio de 30%. Sin embargo, el rango del beneficio es variable dependiendo del subgrupo de riesgo de acuerdo a los factores pronósticos: puede aumentarse a más de 30% en pacientes de alto riesgo, como son pacientes con cáncer de mama triple negativo con afección ganglionar y disminuyendo a tan sólo 1% de beneficio en mujeres con bajo riesgo de recurrencia como aquéllas con RE positivos y ganglios negativos.⁸ Estimar este riesgo ayuda a definir qué pacientes se beneficiarán de tratamiento adyuvante con quimioterapia y cuáles no, limitando los efectos adversos del manejo sólo a aquellas mujeres que se beneficien realmente del mismo. Si el riesgo de recurrencia excede de 5 a 10% a pesar de tratamiento hormonal adyuvante en pacientes con RE positivos, se recomienda quimioterapia para pacientes en condiciones clínicas adecuadas.⁹

Existen algunas herramientas útiles en la toma de decisión para el tratamiento con quimioterapia adyuvante, como el modelo *Adjuvant! Online*, las pruebas Oncotype DX® y MammaPrint®, entre otros, los cuales brindan información con respecto al riesgo de recurrencia y beneficio absoluto que puede esperarse del uso de quimioterapia adyuvante.¹⁰⁻¹²

Oncotype DX® en la Predicción del Riesgo de Recurrencia

En pacientes con cáncer de mama hormono-sensible, HER2 negativo, ganglios negativos se ha aprobado el uso de Oncotype DX® para estimar la probabilidad de recurrencia en pacientes seleccionadas. Actualmente, se está valorando su utilidad en pacientes con 1-3 ganglios positivos.¹³

La prueba de Oncotype DX® determina un puntaje de recurrencia basado en el análisis de 21 genes, el cual se desarrolló con el fin de predecir el riesgo de recurrencia del cáncer de mama después de tratamiento con tamoxifeno en pacientes sin afección ganglionar.¹⁴ En total, 21 genes (16 asociados al cáncer y 5 genes de referencia) se utilizaron para calcular el puntaje, un predictor continuo de recurrencia a 10 años. Las muestras se obtuvieron de tejido en parafina (n = 668) y se sometieron a análisis mediante RT-PCR (*Reverse-Transcription Polymerase Chain Reaction*).

El uso de Oncotype DX® se analizó en pacientes con cáncer de mama temprano, ganglios negativos, receptores estrogénicos positivos, en dos estudios (NSABP B-14 y B-20), mostrando que esta herramienta estima las tasas de recurrencia a distancia. Este puntaje clasifica a las pacientes en riesgo bajo (< 18 puntos), intermedio (18-30 puntos) o alto riesgo (> 31 puntos) de recurrencia. Oncotype DX® estima el riesgo de recurrencia a distancia a 10 años correspondiente a cada grupo de riesgo (bajo riesgo: 6.8%, 95% CI: 4.0-9.6; riesgo intermedio: 14.3%, 95% CI: 8.3-20.3; alto riesgo: 30.5%, 95% CI: 23.6-37.4). Además, se ha encontrado que este puntaje es independiente de la edad, tamaño y grado tumoral en el análisis multivariado. En los estudios donde se ha validado esta prueba, se ha determinado que hasta la mitad de las pacientes corresponden al subgrupo considerado de bajo riesgo. Por lo tanto,

Oncotype DX® combinado con factores clínico-patológicos individuales puede brindar información más precisa en el pronóstico.¹⁴

Dos estudios han mostrado que la adición de quimioterapia a tamoxifeno mejora la supervivencia libre de enfermedad, solo en pacientes con puntaje de alto riesgo, incluyendo a pacientes con ganglios negativos tratadas con ciclofosfamida, metotrexate y 5-fluorouracilo (CMF),¹⁵ así como en mujeres postmenopáusicas con ganglios positivos tratadas con 5-fluorouracilo, adriamicina y ciclofosfamida (FAC)¹⁶.

No sólo se ha demostrado su utilidad en la predicción de recurrencias sistémicas, sino también en el riesgo de recurrencia loco-regional. En un análisis de los estudios NSABP B14 y B20, enfocado a la relación entre Oncotype DX® y la recurrencia loco-regional, el puntaje de recurrencia se asoció de forma significativa ($P < .001$) con el riesgo de recurrencia a 10 años (bajo riesgo: 4.0%; 95% IC: 2.3-6.3; riesgo intermedio: 7.2%; 95% IC: 3.4-11; alto riesgo: 15.8%; 95% IC: 10.4-21.2).^{17,18}

Las guías NCCN (*National Comprehensive Cancer Network*)³ recomiendan el uso de Oncotype DX® en pacientes seleccionadas. Los resultados de diferentes estudios han mostrado que el uso de esta herramienta puede cambiar la recomendación de quimioterapia + hormonoterapia a hormonoterapia sola en aproximadamente 25% de las pacientes.¹⁹ De hecho, un estudio retrospectivo reciente compara el uso de Oncotype DX® con criterios clínico-patológicos (NCCN, *St. Gallen, Adjuvant!*), y reportó un cambio en la recomendación de terapia adyuvante de 27% de los casos.²⁰ De forma similar, un estudio de 135 pacientes con cáncer de mama temprano, con receptores de estrógeno positivos reportó que la recomendación en el uso de quimioterapia cambió en 25.2% de las pacientes después de realizarse Oncotype DX®; siendo 70.6% de estos cambios de quimioterapia a no quimioterapia.²¹ Mientras tanto, en Latinoamérica, se

reportó un estudio de cambio de decisión terapéutica de acuerdo con el resultado del puntaje de Oncotype realizado en el Instituto Nacional de Cancerología, con resultados similares a los ya reportados sobre la proporción de cambio.²² Se incluyeron 98 pacientes en las cuales se aplicó esta prueba, encontrando un cambio en las recomendaciones de tratamiento en 32% de las pacientes, concluyendo que los resultados de Oncotype Dx® impactan en la toma de decisiones en la población mexicana estudiada reduciendo la proporción del uso de quimioterapia adyuvante.

Métodos Alternativos Para Estimar Riesgo de Recurrencia

Debido al alto costo actual de las pruebas moleculares para estimar el riesgo de recurrencia, diferentes grupos han intentado determinar si es posible predecir este riesgo mediante modelos que incluyan factores pronósticos ya conocidos, y que no impliquen costos tan elevados.

Existen diversos modelos de predicción de riesgo, uno de ellos es el Índice de Nottingham, el cual se desarrolló en 1982 para pacientes con cáncer de mama operable. Este índice se basó en un análisis retrospectivo de 9 factores en 387 pacientes. Sólo 3 de los factores (tamaño tumoral, etapa clínica y grado tumoral) se consideraron significativos en el análisis multivariado. Este índice fue validado en un estudio prospectivo de 320 pacientes, dividiendo a las pacientes en 3 grupos pronósticos.²³

Existen estudios que comparan modelos de predicción de riesgo, con variables histopatológicas y/o clínicas, en busca de una alternativa para determinar el riesgo de recurrencia en cáncer de mama temprano. Uno de estos estudios reporta, incluso, una mejor correlación con el pronóstico, cuando se utiliza el puntaje basado en variables

histopatológicas, comparado al análisis molecular.²⁴ Por lo tanto, consideramos que el análisis de variables de inmunohistoquímica y clínicas, pueden ser potencialmente útiles en la determinación del pronóstico de este grupo de pacientes.

Se ha reconocido que ciertos marcadores de inmunohistoquímica (IHQ) bien establecidos proporcionan información pronóstica y predictiva adicional, además de la brindada por factores clínicos clásicos.^{25,26} Hasta hace poco tiempo, no había evaluaciones que compararan Oncotype DX® con marcadores de IHQ. Es por esto que se desarrolló un puntaje pronóstico basado en cuatro marcadores de IHQ (IHC4 Score) – RE, RP, HER2 y Ki-67 – utilizando tejido tumoral de biopsias obtenidas en el estudio ATAC, para determinar la capacidad de estimación con los cuatro marcadores de IHQ comparada el puntaje de recurrencia determinado por Oncotype DX®.^{27,28}

La información obtenida de las variables de inmunohistoquímica fue sometida a un análisis mediante la siguiente ecuación (IHC4 Score):

$$IHC4 = 94.7 \{-0.100ER_{10} - 0.079PgR_{10} + 0.586HER2 + 0.240 \ln(1 + 10Ki67)\}$$

Donde ER_{10} es el valor H Score dividido entre 30 y PgR_{10} es el valor porcentual de la progesterona dividida entre 10.

Aunque el modelo fue validado con un número considerable de pacientes, el autor reporta una modesta correlación entre IHC4 y Oncotype DX® –“ El puntaje de IHC4 Score se correlaciona de forma moderada con Oncotype DX® ($r=0.72$), indicando una superposición en la información, pero también, una diferencia considerable”.

Este estudio sugiere que la información pronóstica obtenida del modelo IHC4 pudiera ser similar a la obtenida con Oncotype DX®, y establece que se deben realizar estudios adicionales para evaluar la utilidad de este modelo.

CONSIDERACIONES ÉTICAS

El presente estudio se llevó a cabo sobre la base de dos estudios previamente aprobados en el Instituto Nacional de Cancerología, que han evaluado el empleo de la prueba de Oncotype DX® en diferentes contextos:

- 1) A Study Of The Impact Of The 21-Gene Breast Cancer Assay On The Use Of Adjuvant Chemotherapy In Women With Breast Cancer In A Mexican Public Hospital
- 2) Rx for Positive Node, Endocrine Responsive Breast Cancer: RxPonder Trial.

Por tratarse de un estudio retrospectivo, observacional, no fue necesaria la aprobación adicional por el Comité de Ética, así como tampoco de la firma de consentimiento informado por parte de las pacientes.

JUSTIFICACIÓN

El tratamiento de cáncer de mama depende de la etapa clínica, factores pronósticos y características propias de cada paciente. Éste debe ser multidisciplinario y comprende intervención quirúrgica, radioterapia, hormonoterapia y, muchas veces, quimioterapia.

En pacientes con cáncer de mama temprano, hormono-sensible, HER2 Negativo, el uso de Oncotype DX® es útil como modelo predictivo de riesgo de recurrencia a 10 años, así como para la selección de pacientes candidatas a recibir tratamiento con quimioterapia adyuvante.

Recientemente, un ensayo clínico analizó el uso de un modelo de predicción de riesgo (IHC4 Score) basado en el análisis de factores de inmunohistoquímica (RE, RP, HER2, Ki-67), teniendo una moderada correlación con los resultados obtenidos mediante la prueba de Oncotype DX® para la predicción en el riesgo de recurrencia, con reporte de una $r=0.72$. Escasos estudios adicionales en otras poblacionales han evaluado la utilidad de este modelo.²⁸

En la actualidad, en las instituciones públicas de México que atienden la mayoría de las pacientes con diagnóstico de cáncer de mama, incluido el Instituto Nacional de Cancerología de México, la prueba de Oncotype DX® no se encuentra disponible debido a motivos relacionados a costos.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Con el fin de explorar alternativas más económicas, así como optimizar el tiempo en la obtención de la información con respecto al riesgo de recurrencia, se pretende evaluar el modelo del IHC4 comparado con el resultado de puntaje de recurrencia de Oncotype DX® en una población de pacientes con cáncer de mama temprano, tratadas en el Instituto Nacional de Cancerología.

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Es el modelo de predicción de riesgo IHC4 Score una alternativa a Oncotype DX® en pacientes con cáncer de mama temprano en la predicción del riesgo de recurrencia y selección del tratamiento adyuvante?

OBJETIVO PRIMARIO

- Determinar si los resultados obtenidos con IHC4 Score son equivalentes a Oncotype DX® para predecir el riesgo de recurrencia en pacientes con cáncer de mama temprano, tratadas en el Instituto Nacional de Cancerología de México.

OBJETIVOS SECUNDARIOS

- Determinar el perfil de expresión de los RE, RP, HER2 y Ki-67 en la población estudiada.
- Determinar características clínicas de una muestra de pacientes con cáncer de mama temprano tratadas en el Instituto Nacional de Cancerología de México.
- Proponer hipótesis a las posibles variaciones en los resultados que advierte el autor.

DISEÑO DEL ESTUDIO

Se trata de un estudio retrospectivo, descriptivo y de análisis uni y multivariable.

UBICACIÓN ESPACIO-TEMPORAL

Se analizó la información obtenida de expedientes electrónicos, así como revisión de muestras de patología de pacientes tratadas en el Instituto Nacional de Cancerología de México, con cáncer de mama temprano, que contaban con resultado de Oncotype DX®, analizados desde Febrero de 2011 hasta Marzo 2013. Las pacientes incluidas pertenecieron a dos estudios clínicos previamente comentados, realizados en el Instituto de Cancerología, aprobados por los comités correspondientes, que requieren la realización de la prueba.

POBLACION OBJETIVO

Se analizaron pacientes con diagnóstico de cáncer de mama temprano, hormono-sensible, HER2 negativo, con ganglios negativos o de 1 a 3 positivos, quienes contaban con resultado de Oncotype DX®, tratadas en el Instituto Nacional de Cancerología de México, en el período de Febrero de 2011 a Marzo 2013, que contaban con los siguientes criterios de inclusión:

CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- Pacientes tratadas en el Instituto Nacional de Cancerología de México con diagnóstico de Cáncer de mama temprano, hormono-sensible, HER2 negativo, de Febrero de 2011 a Marzo de 2013.
- Pacientes con Cáncer de mama temprano demostrado por biopsia e inmunohistoquímica, a quienes se les realizó la prueba de Oncotype DX®.

CRITERIOS DE ELIMINACIÓN

- Pacientes con cáncer de mama HER2-Positivo determinado por prueba de Oncotype DX®.
- Pacientes con perfil de Triple Negativo determinado por prueba de Oncotype DX®.

OBTENCIÓN DE LA INFORMACIÓN Y ANÁLISIS DE VARIABLES.

Pacientes

Se analizó la información obtenida de expedientes electrónicos, así como reportes histopatológicos de 93 mujeres con cáncer de mama temprano (Etapas Clínicas IA-IIB), tratadas en el Instituto Nacional de Cancerología de México que contaran con estudio de Oncotype DX®.

Se registraron los datos en un formato diseñado para el estudio, posteriormente digitadas en una base de datos para su futuro análisis.

Variables

Las variables clínicas estudiadas fueron:

- Edad en años.
- Estado menopáusico (Pre o post-menopáusica).
- Histología (Ductal, Lobulillar, Mixto).
- Tamaño en centímetros.
- Grado de diferenciación tumoral (Bien, moderadamente o poco diferenciado).
- Afección ganglionar (0, 1, 2 o 3 ganglios positivos).
- Etapa clínica de acuerdo a TNM (IA, IB, IIA, IIB)
- Resultado obtenido por Oncotype DX® (Puntaje de recurrencia de 0-100).

Variables evaluadas inmunohistoquímica como:

- Receptor de estrógeno (RE), reportados con puntaje de H Score.
- Receptor de progesterona (RP) como porcentaje.
- HER2, reportado como positivo si tenía 3+++, indeterminado con 2++ y negativo con 1+ o 0 por inmunohistoquímica.
- Ki-67, medido como porcentaje.

Inmunohistoquímica

Las pruebas de inmunohistoquímica se realizaron en el tejido tumoral obtenido al momento del diagnóstico en el Departamento de Patología del Instituto Nacional de Cancerología de México.

Determinación de la Expresión de Receptores de Estrógeno y Progesterona

Se consideraron como positivos con positividad de tan solo 1% de las células.

Para fines del estudio, se tomó en cuenta el valor de H-Score para los RE, el cual considera el porcentaje de células teñidas, así como la intensidad de tinción, dando un resultado de 0 a 300, de acuerdo al ensayo clínico reportado por Cuzick y cols., la variable ER₁₀ se obtuvo al dividir el puntaje de H-score entre 30, obteniendo una variable de 0 a 10. Los RP fueron medidos con el porcentaje de células teñidas, considerándose positivo, con un punto de corte de 10%. La variable de PgR₁₀ se obtuvo al dividir este porcentaje entre 10, obteniendo una variable entre 0 y 10.

Determinación de la Sobreexpresión de HER2

El estado de HER2 se consideró positivo con una tinción de 3 por IHQ (tinción uniforme, intensa, en > 30% de la membrana de células neoplásicas), equívoco, con puntuación de 2 por IHQ, con hibridación fluorescente in vitro (FISH) más de 6 copias genéticas de HER2 por núcleo, o una relación de FISH (señales genéticas de HER2 y señales de cromosoma 17) de más de 2.2; un resultado negativo se consideró a toda tinción por IHQ de 0 o 1, un resultado de FISH con menos de 4 copias genéticas de HER2 por núcleo, o bien, una relación por FISH de menos de 1.8.

Determinación del Índice de Proliferación – Ki-67

El índice Ki-67, el cual detecta células en proliferación (i.e., células en todas las fases del ciclo celular, excepto G0), ha sido una herramienta para determinar la tasa de proliferación en cáncer de mama. En general, el sistema de puntuación se basó en el porcentaje de células teñidas por el anticuerpo Ki-67.

PRUEBAS ESTADÍSTICAS

Para analizar los variables se realizaron pruebas a hipótesis nula a intervalos de confianza del 95% de manera uni y multivariable. Se diseñaron las siguientes hipótesis:

$$H_0: IHC4 \neq Dx ; r < 0.72$$

$$H_a: IHC4 \cong Dx; r \geq 0.72$$

Donde H_0 es la hipótesis nula la cual indica que no existe correlación en los valores de IHC4 y el Oncotype DX®, y H_a es la hipótesis central la cual indica que el coeficiente de correlación puede modelar al Oncotype DX®.

Metodología y Análisis estadístico.

El abordaje estadístico depende del tipo de variables. Para los modelos de correlación “uno contra todos” se utilizó la correlación de Spearman, debido a la presencia de outliers (en algunas variables i.e. Ki 67) y a que las variables son “scores”. En la prueba del HER2 se implementó la prueba de Wilcoxon. Las variables cualitativas como el grado tumoral y los ganglios fueron analizados con la tendencia de Cuzick. El esquema utilizado fue el mismo que los autores sometieron a sus variables.

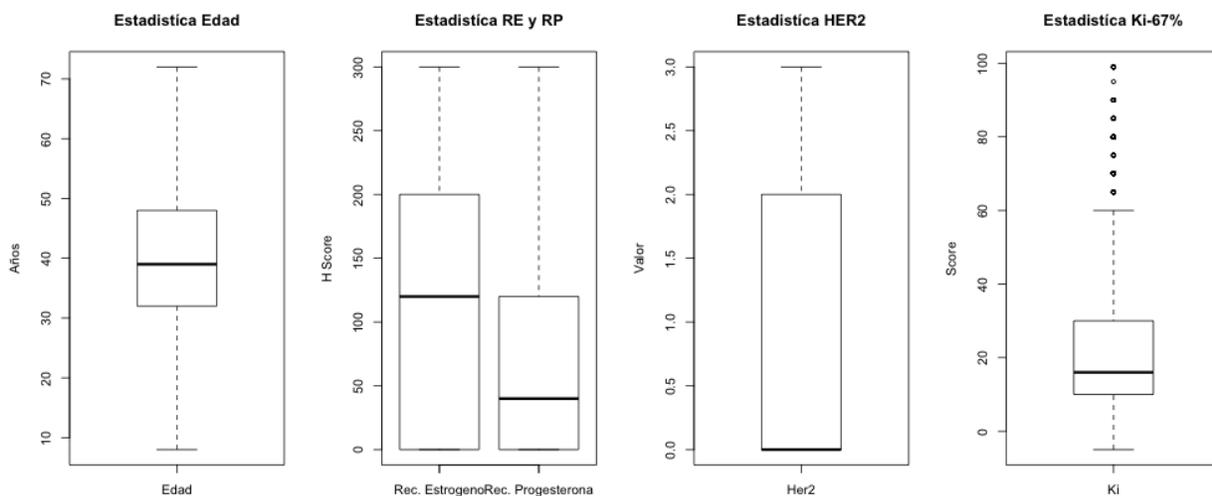
Posteriormente se calculó la ecuación IHC4 con la muestra de 93 pacientes y se obtuvo el coeficiente de correlación vs. Oncotype DX®. Para validar la distribución de la muestra con el conjunto de datos utilizados se calculó la χ^2 cuadrada a un intervalo de confianza del 95%. Por último se subdividen los datos para marginar los datos en diferentes categorías con el fin de determinar en donde existe mayor y menor sensibilidad. Dichos grupos son por el estado menopáusico, por el número de ganglios, por la edad y por la banda del Oncotype DX®.

Todos los resultados fueron procesados con el *software* para estadística *R* disponible gratuitamente en www.r-project.org.

RESULTADOS

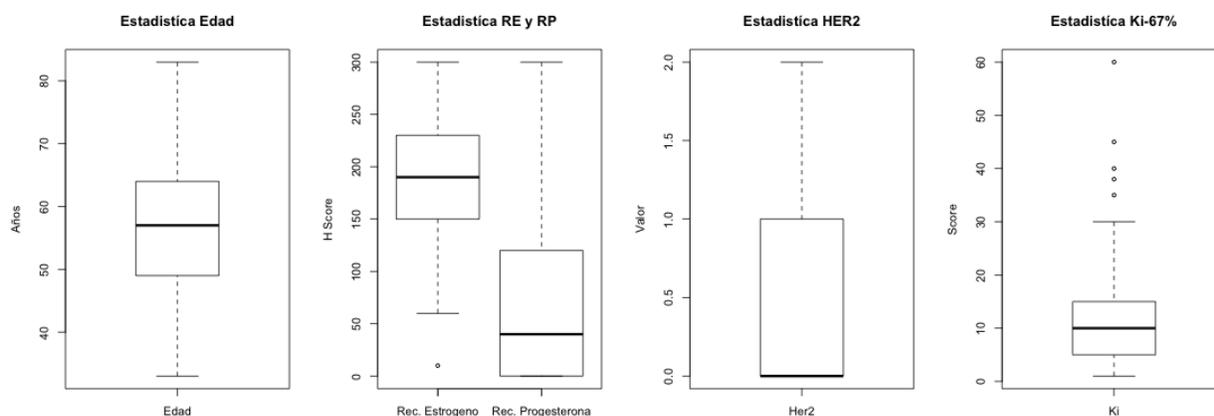
Para entender el contexto en el que se sitúa el Instituto Nacional de Cancerología de México, se procesó la base de datos de las pacientes (N = 4,956) cuyos estudios de patología datan desde el 2007 a Julio 2013.

En la base de datos encontramos la información referente a la edad así como los marcadores de RE, RP, HER2 y Ki-67%. La gráfica 1 muestra la estadística descriptiva de las variables.



Graf. 1. Población total registrada de pacientes atendidas en el INCAN en el período del 2007 al 2013. N = 4,956 pacientes. (A) Distribución por edad, con rango intercuartil RQ = 32 - 48, (B) para RE H Score el RQ = 0 - 200, (C) para PR H Score el RQ = 0 - 120, (D) para el HER2 el RQ= 0 - 2, (E) para Ki - 67% el RQ = 10 - 30.

De la población reportada, se tomó la muestra de las 93 pacientes incluidas en este estudio que cuentan con el resultado del Oncotype DX®. La gráfica 2 muestra el comportamiento de la muestra.



Graf. 2. Muestra de 93 pacientes los cuales, (A) para la edad el RQ = 49 - 64, (B) para RE H Score el RQ = 150 - 230, (C) para el PR H Score el RQ = 50 - 180, (D) para el HER2 el RQ= 0 - 1, (E) para Ki - 67% el RQ = 5 - 15.

De acuerdo a los resultados anteriores, se puede observar que la diferencia en rangos en comparación a la población es de: $|\Delta_{\mu RQ}| = 16.4$ para la edad; $|\Delta_{\mu RQ}| = 72.2$ para el RE; $|\Delta_{\mu RQ}| = 34.7$ para el RP; $|\Delta_{\mu RQ}| = 0.34$ para HER2 y $|\Delta_{\mu RQ}| = 11.72$ para Ki 67%. La tabla I muestra la población y muestra del instituto.

Tabla I Base datos del Instituto y de la muestra para análisis de IHQ				
Momento	INCAN N = 5,873		BD IH N = 93	
	No.	%	No.	%
Edad en años				
Mediana %	39		57	
IQR	32 - 48		59 - 64	
HER2				
Positivo	1,202	20.5	5	5
RE H-Score				
Mediana %	120		190	

Tabla I Base datos del Instituto y de la muestra para análisis de IHQ				
Momento	INCAN N = 5,873		BD IH N = 93	
	No.	%	No.	%
IQR	0 - 200		150 - 230	
PgR H-Score				
Mediana	40		100	
IQR	0 - 70.52		50 - 180	
Ki-67%				
Mediana %	16		10	
IQR	10 - 30		5.0 - 15.0	

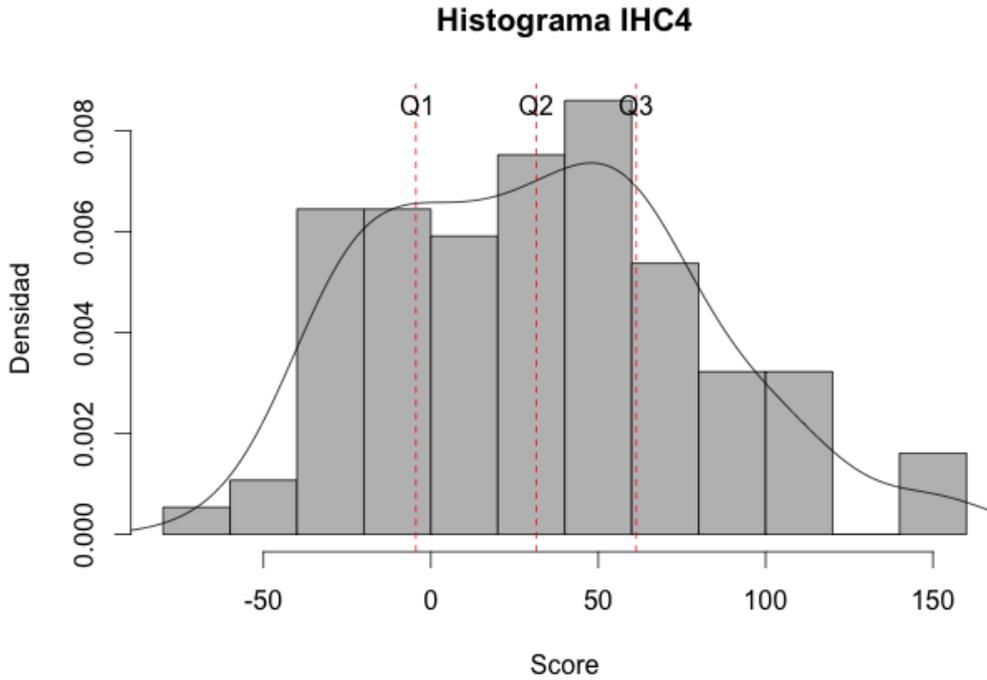
A continuación la tabla II muestra la estadística básica entre los valores reportados por Cuzick et. al., autores del reporte original del modelo de IHC4 y los valores de la muestra de 93 pacientes del Instituto.

Tabla II Estadística Comparativa Entre los Estudios						
Variable	BD Nottingham N= 786		BD TransATAC N=1,125		BD INCAn N=93	
	No.	%	No.	%	No.	%
Edad en años						
Mediana %	55		64		57	
IQR	48-63		57-70		59-64	

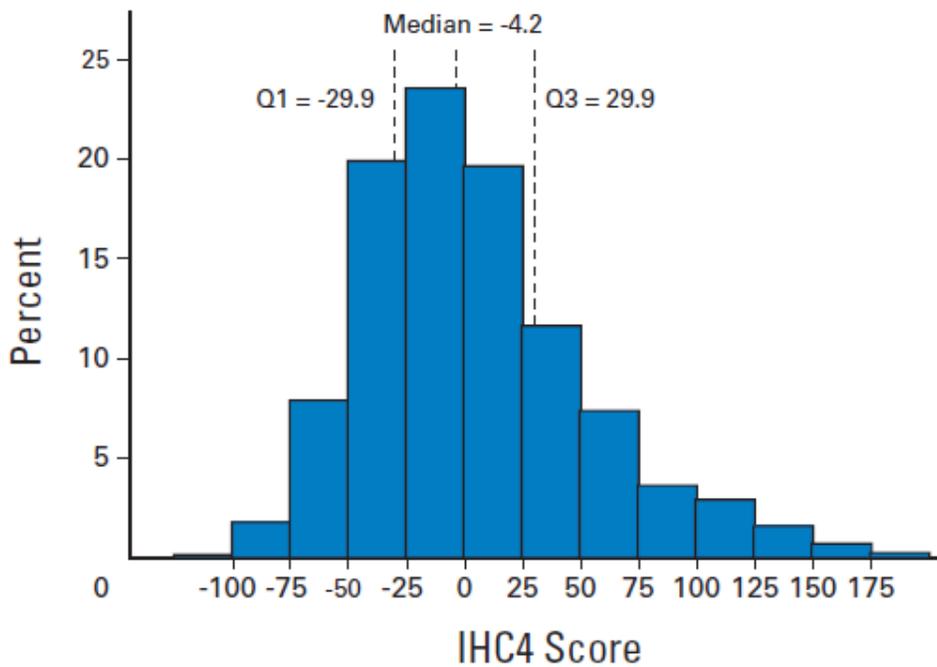
Tabla II Estadística Comparativa Entre los Estudios						
Variable	BD Nottingham N= 786		BD TransATAC N=1,125		BD INCan N=93	
	No.	%	No.	%	No.	%
Tamaño Tumor cm						
≤ 1	105	13	177	16	14	15
1-2	415	53	574	51	22	23
2-3	190	24	272	24	51	55
> 3	76	10	102	9	6	6
Grado Tumor						
Pobre	178	23	206	18	38	41
Moderado	336	43	690	61	31	33
Bien Diferenciado	272	34	229	21	24	26
Desconocido	0	0	49	4	0	0
Ganglios						
Negativo	487	62	793	70	41	44
Positivo	299	38	288	26	52	56
Desconocido	0	0	44	4	0	0
HER2						
Positivo	41	5	116	10	5	5
RE H-Score						
Mediana %	141		165		190	
IQR	99-201		135-185		150-230	
PgR %						
Mediana	50		62		60	

Tabla II Estadística Comparativa Entre los Estudios						
Variable	BD Nottingham N= 786		BD TransATAC N=1,125		BD INCan N=93	
	No.	%	No.	%	No.	%
IQR	12-77		22-92		20-75	
Ki-67%						
Mediana %	11.0		4.2		10	
IQR	5.0-35		1.8-8.9		5.0-15.0	
Tratamiento						
Anastrozol	0	0	560	50	37	40

Cabe mencionar que los valores del Instituto están en rango con los datos reportados por el autor a excepción del RE H-Score. Bajo la salvedad anterior, el autor en términos de reproducibilidad expresa lo siguiente – “La falta de reproducibilidad de los ensayos de IHC es un tema de preocupación al considerar el uso de IHC4 en otros laboratorios. Las diferencias en los valores e IHC pueden ocurrir como resultado de la variabilidad de numerosos factores, incluyendo la fijación, la recuperación de antígenos, reactivos e interpretación de datos.”-

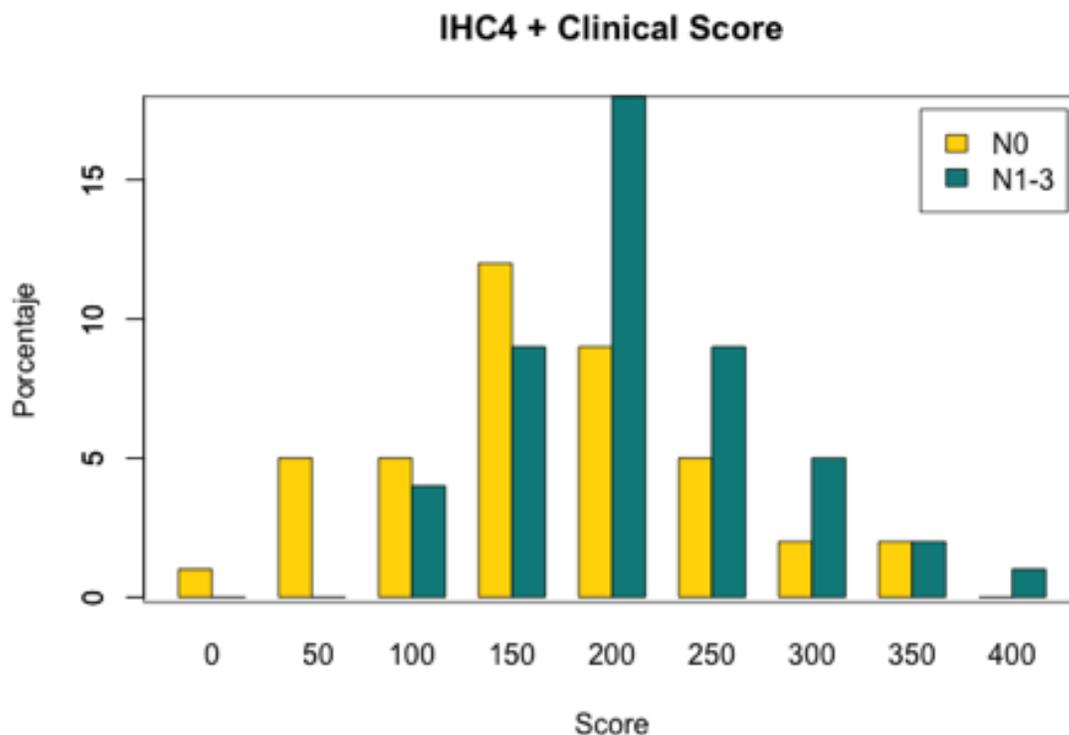


Graf. 3. Valores de IHC4 con los 93 pacientes de la muestra seleccionada, haciendo la prueba de normalidad de Shapiro refleja normalidad; $W = 0.9779$, $p = 0.1154$. Los valores Q representan los cuartiles del conjunto de datos $Q1 = -4.5$, $Q2 = 31.5$ y $Q3 = 61.3$. El valor probable a una desviación estándar de la muestra es $x = 32.86 \pm 47.42$.



Graf. 4. Histograma de IHC4 score con mediana e intercuartil para todas las pacientes del estudio modelo.²⁸

Los valores resultantes son contrastantes con los del autor donde sus resultados del score IHC4 son para $Q1 = -29.9$, $Q2 = -4.2$ y $Q3 = 29.9$ por su parte los resultados generados son $Q1=-4.5$, $Q2=31.5$ y $Q3=61.3$, la variación en el autor es aproximadamente de 25 unidades y la calculada es de 47 unidades. La siguiente gráfica muestra el valor de IHC4 junto con el *score* clínico. El *Score* clínico junto con el IHC4 pretende mejorar la sensibilidad del modelo.



Graf. 5. Valores de IHC4 + *score* clínico, donde las pacientes que presentan nodos negativos tienden estar más a la izquierda, a su vez las pacientes con ganglios de 1 a 3 tienden a un *score* centrado en 200. Entre más elevado sea el *score* las probabilidades de recurrencia aumentan.

Las siguientes tablas muestran los valores de correlación de las variables IHQ con respecto al Oncotype DX®, con el afán de indagar más sobre el comportamiento de las variables se separó la información en grupos de edad y banda del Oncotype DX®. Procurando homogeneidad en el grupo de edad se seleccionaron los grupos de 39 a 49 años de 49 a 57 y mayores a 57 años.

Tabla III IHC3 Vs Oncotype Dx®			
Prueba	IC 95%	p	r
Pearson	0.2808994 0.6055439	3.83E-06	0.4583786

Tabla IV IHC4 Vs Oncotype Dx®			
Prueba	IC 95%	p	r
Pearson	0.1525828 0.5131383	0.0006927	0.3455506

Tabla V Pre-menopáusicas				
IH	Prueba	IC 95%	p	r
IHC3	Pearson	0.1600389 0.7110671	0.005231	0.4818438
IHC4	Pearson	-0.01426058 0.61296105	0.06	0.3361047

Tabla VI Post-menopáusicas				
IH	Prueba	IC 95%	p	r
IHC3	Pearson	0.2124969 0.6233691	0.0003782	0.4407335
IHC4	Pearson	0.1233150 0.5639848	0.003947	0.3638374

Tabla VII 30 a 49 años				
IH	Prueba	IC 95%	p	r
IHC3	Pearson	-0.5057160 0.3295616	0.6359	-0.1069002

Tabla VII 30 a 49 años				
IH	Prueba	IC 95%	p	r
IHC4	Pearson	-0.2830932 0.5428951	0.4845	0.1572883

Tabla VIII 49 a 57 años				
IH	Prueba	IC 95%	p	r
IHC3	Pearson	0.5041330 0.8875431	2.08E-05	0.7541596
IHC4	Pearson	0.1862114 0.7793874	0.005525	0.5484129

Tabla IX mayores a 57 años				
IH	Prueba	IC 95%	p	r
IHC3	Pearson	0.07112691 0.57982471	0.01552	0.351122
IHC4	Pearson	-0.0004694861 0.5302420995	0.05069	0.286736

Tabla X IQR edad 59 a 64 años				
IH	Prueba	IC 95%	p	r
IHC3	Pearson	-0.02761736 0.71449712	0.06566	0.4089449
IHC4	Pearson	0.3101411 0.8467730	0.001293	0.6542362

Tabla XI Banda Bajo Riesgo < 18				
IH	Prueba	IC 95%	p	r
IHC3	Pearson	-0.3742305 0.2016480	0.5336	-0.09416207
IHC4	Pearson	-0.3679580 0.2086162	0.5656	-0.08694749

Tabla XII Banda Bajo Riesgo 18 < x > 31				
IH	Prueba	IC 95%	p	r
IHC3	Pearson	-0.1902117 0.4894642	0.353	0.1697404
IHC4	Pearson	-0.2161884 0.4685869	0.4339	0.1433087

Tabla XIII Banda Bajo Riesgo > 31				
IH	Prueba	IC 95%	p	r
IHC3	Pearson	-0.3609592 0.6372902	0.5077	0.1856272
IHC4	Pearson	-0.01025011 0.80803286	0.05504	0.5046626

La prueba de correlación fue Pearson y los valores de p indican si el valor de correlación r puede oscilar con respecto al tamaño de muestra. Un valor mayor a 0.05 sugiere que puede cambiar el valor.

En las siguiente serie de tablas se muestran las correlaciones que existe entre los scores IHC3, IHC4 así como por rangos de edad, estado menopáusico y banda del Oncotype DX®.

Tabla XIV IHC3 Vs Oncotype Dx®			
Prueba	IC 95%	p	r
Pearson	0.2808994 0.6055439	3.83E-06	0.4583786

Tabla XV IHC4 Vs Oncotype Dx®			
Prueba	IC 95%	p	r
Pearson	0.1525828 0.5131383	0.0006927	0.3455506

Tabla XVI Pre-menopáusicas				
IH	Prueba	IC 95%	p	r
IHC3	Pearson	0.1600389 0.7110671	0.005231	0.4818438
IHC4	Pearson	-0.01426058 0.61296105	0.06	0.3361047

Tabla XVII Post-menopáusicas				
IH	Prueba	IC 95%	p	r
IHC3	Pearson	0.2124969 0.6233691	0.0003782	0.4407335
IHC4	Pearson	0.1233150 0.5639848	0.003947	0.3638374

Tabla XVIII 30 a 49 años				
IH	Prueba	IC 95%	p	r
IHC3	Pearson	-0.5057160 0.3295616	0.6359	-0.1069002
IHC4	Pearson	-0.2830932 0.5428951	0.4845	0.1572883

Tabla XIX 49 a 57 años				
IH	Prueba	IC 95%	p	r
IHC3	Pearson	0.5041330 0.8875431	2.08E-05	0.7541596
IHC4	Pearson	0.1862114 0.7793874	0.005525	0.5484129

Tabla XX mayores a 57 años				
IH	Prueba	IC 95%	p	r
IHC3	Pearson	0.07112691 0.57982471	0.01552	0.351122
IHC4	Pearson	-0.0004694861 0.5302420995	0.05069	0.286736

Tabla XXI IQR edad 59 a 64 años				
IH	Prueba	IC 95%	p	r
IHC3	Pearson	-0.02761736 0.71449712	0.06566	0.4089449
IHC4	Pearson	0.3101411 0.8467730	0.001293	0.6542362

Tabla XXII Banda Bajo Riesgo < 18				
IH	Prueba	IC 95%	p	r
IHC3	Pearson	-0.3742305 0.2016480	0.5336	-0.09416207

Tabla XXII Banda Bajo Riesgo < 18				
IH	Prueba	IC 95%	p	r
IHC4	Pearson	-0.3679580 0.2086162	0.5656	-0.08694749

Tabla XXIII Banda Bajo Riesgo 18 < x > 31				
IH	Prueba	IC 95%	p	r
IHC3	Pearson	-0.1902117 0.4894642	0.353	0.1697404
IHC4	Pearson	-0.2161884 0.4685869	0.4339	0.1433087

Tabla XXIV Banda Bajo Riesgo > 31				
IH	Prueba	IC 95%	p	r
IHC3	Pearson	-0.3609592 0.6372902	0.5077	0.1856272
IHC4	Pearson	-0.01025011 0.80803286	0.05504	0.5046626

Los valores marcados con rojo significan que si cambia el volumen de datos, la correlación puede modificarse (eso es lo que representa el valor de p). A su vez los valores marcados con verde muestran una correlación de moderada a fuerte entre el Oncotype Dx®.

DISCUSIÓN

En la actualidad, una importante cantidad de pacientes con cáncer de mama son detectadas en etapas tempranas, en general, con un buen pronóstico. Sin embargo, es necesario determinar el riesgo de recurrencia, mejorando los marcadores o métodos que puedan impactar en la reducción de pacientes que reciban quimioterapia y sus subsecuentes efectos secundarios de forma innecesaria.²⁸

Existen estudios que han comparado variables de inmunohistoquímica y/o clínicas con otros métodos de predicción de riesgo en cáncer de mama temprano, incluyendo Oncotype DX®.

El más relevante de estos estudios, es el publicado por Cuzick y cols.²⁸ el cual se ha tomado como base para realizar el presente trabajo. En dicho estudio se desarrolló el IHC4 score que compara la información de RE, RP, HER2, Ki-67 con Oncotype DX® en la predicción del riesgo de recurrencia en pacientes con cáncer de mama temprano, concluyendo que la información brindada por IHC4 score es similar a la obtenida por Oncotype DX®, sin embargo, se requieren estudios adicionales para determinar la aplicabilidad de IHC4 score.

Recientemente fue publicado un estudio adicional, donde se analizaron 235 pacientes, en quienes se comparó el panel de inmunohistoquímica (RE, RP, HER2 y Ki-67), - Ku-IHC4 Score -, con un perfil de expresión génica (Ku-FFPE4 score), el cual consiste en el análisis de 4 genes de tejido tumoral fijo en parafina, clasificando a las pacientes en tres grupos de riesgo (bajo, intermedio y alto) y determinando el riesgo de recurrencia a 5 años.²⁵ Este estudio mostró que Ku-IHC4 score es un predictor independiente de recurrencia a diferencia de Ku-FFPE4, en un análisis multivariado analizado por parámetros clínicos clásicos (Ku-IHC4 score vs Ku-FFPE4 score; v2: 14.2

vs 2.5, P: 0.0002 vs 0.11). Cuando las pacientes se estratificaron de acuerdo al grupo de riesgo, el análisis de Kaplan-Meier mostró una diferencia significativa, entre los distintos grupos de riesgo de Ku-IHC4 score (log-rank, P=0.0001), pero no con Ku-FFPE4 score. El grupo de alto riesgo según Ku-FFPE4 score mostró resultados contradictorios, con bajas tasas de recurrencia (Ku-IHC4 score vs Ku-FFPE4 score, 53.1 vs 24.8%), lo cual pudo ser causado por errores extendidos dependientes del riesgo. En conclusión, este estudio mostró que Ku-IHC4 score, provee mejor información pronóstica que la medición cuantitativa de RNA, dejando como posibilidad la utilización de herramientas basadas en inmunohistoquímica, como Ku-IHC4 score para determinar el pronóstico, quedando a consideración el análisis de otras variables, además de RE, RP, HER2 y Ki-67 para determinar aspectos críticos en la toma de decisiones terapéuticas.

Otro estudio relevante en la utilización de IHC4 + C score recientemente publicado, determinó su utilidad al compararlo con otros métodos de predicción de riesgo como Adjuvant! Online (AoL) y el Índice Pronóstico de Nottingham. Se analizaron de forma retrospectiva 101 pacientes post-menopáusicas con cáncer de mama temprano con receptores hormonales positivos, HER2 negativo y con 0-3 ganglios resecados. El objetivo de este estudio fue determinar la proporción de pacientes reclasificadas del grupo intermedio, determinado por AoL mediante la aplicación del IHC4+C score. La edad media de las pacientes fue de 63 años. Quince de 26 clasificadas como riesgo intermedio por AoL fueron reclasificadas como de riesgo bajo mediante la aplicación de IHC4 +C score, ninguna paciente fue reclasificada al grupo de alto riesgo. Con estos resultados, podemos concluir que el uso de IHC4 +C

score puede influir en la toma de decisión acerca del uso de quimioterapia adyuvante, al reclasificar a las pacientes de riesgo intermedio a bajo.²⁹

El motivo más importante por el cual no se realiza la prueba de Oncotype DX® en nuestras pacientes, es el económico. Al respecto, existe un estudio publicado que analiza el costo-beneficio de Oncotype DX® en una población mexicana, reportando que en pacientes con recomendación de quimioterapia adyuvante, el uso de Oncotype DX® llevó a un cambio en la recomendación en alrededor del 46% de las pacientes, omitiendo el manejo sistémico, lo cual se reflejó en el ahorro de aproximadamente 27,414 pesos por paciente. Este estudio concluye que el uso de Oncotype DX® en la práctica clínica, es costo-efectiva en la población general, sobre todo en pacientes que tienen recomendación de quimioterapia adyuvante.³⁰

Existen diferencias entre los diferentes estudios publicados y este trabajo de investigación. El estudio de Cuzick y cols., el cual analizó una muestra de pacientes del estudio ATAC, incluyó únicamente a pacientes post-menopáusicas, a diferencia de este estudio, donde se incluyeron tanto pre, como post-menopáusicas.

En nuestro estudio, el score clínico IHC4 muestra un *offset* de entre 100 a 50 unidades con respecto al estudio del autor, lo cual respalda la evidencia de que las pacientes del Instituto tienen un estadio más avanzado de la enfermedad en comparación a la población del estudio de referencia.

Los resultados sugieren que las variables IHC entre sí pueden mejorar la correlación entre ellas usando un tamaño de muestra más grande. Debido a que algunos valores de p no caen por debajo de 0.05, no se puede rechazar la hipótesis nula que da sustento a un bajo tamaño de muestra, a un sesgo en la variabilidad, etc.

Los mejores modelos de correlación con respecto al Oncotype DX® se encuentran en el rango de 47 a 59 años en el IHC3 y de 59 a 64 años en el IHC4 sin embargo, el modelo IHC4 no alcanza una correlación de 0.72 que es la reportada por el autor; Por lo tanto no podemos asegurar H_a . Es importante resaltar que la diferencia entre IHC3 e IHC4 radica en el HER2, dicha variable parece sensibilizar al *score* en determinado grupo de edad. En general los *scores* IHC tienden a estimar el resultado del Oncotype DX® en el rango de edad de 47 a 64 años.

El análisis por la banda del Oncotype DX® no es significativa y no debe considerarse como estrategia de análisis sino la combinación del *score* clínico y el IHC4.

Los resultados en cuanto a la dependencia estadística muestra un patrón; primero que la dependencia que existe con las pacientes de edad joven—menores a 45 años— no es tan marcada como el grupo de pacientes mayores a 45 años en términos del IHC4 y el Oncotype DX®. Segundo, cuando el modelo de dependencia considera la edad, resulta evidente que en el grupo mayor a 45 años muestra fuerte dependencia a comparación del grupo joven. Basta con observar los valores de p en dichos grupos, cuando son menores la dependencia aunque significativa es mucho menor al grupo mayor a 45 años y a su vez cuando se juntan los grupos, el valor de p se sitúa en un punto intermedio. La evidencia anterior parece respaldar la hipótesis que el HER2 es la variable que mejora la sensibilidad en el IHC4 en pacientes post menopáusicas.

Los resultados sugieren que las pacientes menores a 45 años aunque tienen dependencia con los resultados del Oncotype DX® y IHC4 no son tan contundentes como el grupo de pacientes mayores a 45 años. Esto se refleja con los valores de p : en menores a 45 años la p es 0.0011, en mayores la p es $8.38 e^{-16}$.

CONCLUSIONES

A diferencia de lo publicado en el estudio de Cuzick et al., dónde se reportó una moderada correlación de IHC4 score con Oncotype DX®, esta correlación es baja en el presente estudio de investigación. Con $r=0.34$ para IHC4 Score, llegando a $r=0.45$ con la aplicación de IHC3 score, esta correlación incrementó cuando se realizó un análisis por subgrupos, encontrando que el modelo tiene mayor sensibilidad en pacientes mayores de 45 años con $r=0.54$ mediante IHC4 score, y alcanzó una moderada correlación con la aplicación de IHC3 score con **$r=0.75$** , sugiriendo que el modelo en pacientes mayores de 45 años tiene mejor sensibilidad. Cabe recordar, que en el estudio original de Cuzick, **sólo se incluyeron pacientes post-menopáusicas**, por lo que este resultado, confirma que la mayor utilidad de IHC4 score es precisamente en este subgrupo de pacientes.

Aunque exista correlación de IHC3 e IHC4 en los grupos de edad de 47 a 59 y 59 a 64 respectivamente, no se logra integrar las variables clínicas lo suficiente para suplir al Oncotype DX®; al contrario es un referente que al sumarse al Oncotype DX® otorga mejores argumentos en la selección terapéutica. Lo anterior no pretende descartar al IHC4 como modelo de predicción del Oncotype DX®, más bien propone la búsqueda de una o varias variables que ponderen la variación entre grupos de edad y homogeneización del IHC4, que por lo pronto modela parcialmente al Oncotype DX®.

De acuerdo a los resultados, se puede concluir que las pacientes que llegan al instituto presentan rasgos de enfermedad más avanzada en comparación a los estudios de Nottingham y TransATAC, aunque debemos considerar que el presente es un

estudio retrospectivo, con datos tomados de dos estudios previos, en los que se incluyeron pacientes con enfermedad ganglionar positiva, por lo que estos resultados deben tomarse con reserva.

Aunque los resultados arrojan contundencia sobre que el IHC4 no puede modelar a Oncotype DX®, proponemos no descartarlo como modelo de predicción; basados en los resultados, consideramos que se pueden desarrollar o entrenar múltiples clasificadores IHC4 atenuados a la edad; con el tamaño de muestra adecuado. Además consideramos que se pueden integrar más variables estrechamente relacionadas con la enfermedad como lo son las del score clínico, con el fin de tener un modelo más robusto y generalizado.

BIBLIOGRAFÍA

1. American Cancer Society: Cancer Facts and Figures 2012. Atlanta GACS, 2012. <http://www.cancer.org/acs/groups/content/@epidemiologysurveillance/documents/document/acspc-031941.pdf>
2. INEGI. Instituto Nacional de Estadística y Geografía. “A propósito del Día Mundial contra el cáncer”. Datos Nacionales. Disponible en: <http://www.inegi.org.mx/inegi/contenidos/espanol/prensa/aPropositom.asp?s=inegi&c=2859&ep=113>
3. Knaul FM, Nigenda G, Lozano R, Arreola-Ornelas H, Langer A, Frenk J. Breast cancer in Mexico: a pressing priority. *Reprod Health Matters* 2008; 16: 113–23.
4. International Agency for Research on Cancer, WHO. GLOBOCAN 2008: cancer incidence and mortality worldwide in 2008. <http://globocan.iarc.fr/>
5. Yanin Chávarri-Guerra, Cynthia Villarreal-Garza, Pedro E R Liedke, Felicia Knaul, Alejandro Mohar, Dianne M Finkelstein, Paul E Goss. Breast cancer in Mexico: a growing challenge to health and the health system. *Lancet Oncol* 2012; 13: e335–43.
6. NCCN Clinical Practice Guidelines (NCCN Guidelines)®. Breast Cancer. Version 3.2013. http://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/breast.pdf
7. Joseph A. Sparano, MD. Early Breast Cancer. in *Practice Oncology*. 2011.: http://www.clinicaloptions.com/inPractice/Oncology/Breast_Cancer/ch3_Breast-Early/Pages/Page%201.aspx.
8. Goldhirsch A, Wood WC, Gelber RD, Coates AS, Thurlimann B, Senn HJ. Progress and promise: highlights of the international expert consensus on the primary therapy of early breast cancer 2007. *Ann Oncol*. 2007 Jul;18(7):1133-44.
9. Fisher B, Jeong JH, Dignam J, Anderson S, Mamounas E, Wickerham DL, Wolmark N. Findings from recent National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project adjuvant studies in stage I breast cancer. *J Natl Cancer Inst Monogr*. 2001;(30):62-6
10. Carlson RW, Brown E, Burstein HJ, Gradishar WJ, Hudis CA, Loprinzi C, Mamounas EP, Perez EA, Pritchard K, Ravdin P, Recht A, Somlo G, Theriault RL, Winer EP, Wolff AC. NCCN Task Force Report: Adjuvant Therapy for Breast Cancer. *J Natl Compr Canc Netw*. 2006 Mar;4 Suppl 1:S1-26.
11. Olivotto IA, Bajdik CD, Ravdin PM, Speers CH, Coldman AJ, Norris BD, Davis GJ, Chia SK, Gelmon KA. Population-based validation of the prognostic model ADJUVANT! for early breast cancer. *J Clin Oncol*. 2005 Apr 20;23(12):2716-25.

12. Whelan T, Levine M, Willan A, Gafni A, Sanders K, Mirsky D, Chambers S, O'Brien MA, Reid S, Dubois S. Effect of a decision aid on knowledge and treatment decision making for breast cancer surgery: a randomized trial. *JAMA*. 2004 Jul 28;292(4):435-41.
 13. Julie Gralow. A Phase III, Randomized Clinical Trial Of Standard Adjuvant Endocrine Therapy +/-Chemotherapy In Patients With 1-3 Positive Nodes, Hormone Receptor-Positive And Her2-Negative Breast Cancer With Recurrence Score (RS) Of 25 Or Less. RxPonder: A Clinical Trial Rx For Positive Node, Endocrine Responsive Breast Cancer. <http://clinicaltrials.gov/show/NCT01272037>
 14. Paik S, Shak S, Tang G, Kim C, Baker J, Cronin M, Baehner FL, Walker MG, Watson D, Park T, Hiller W, Fisher ER, Wickerham DL, Bryant J, Wolmark N. A multigene assay to predict recurrence of tamoxifen-treated, node-negative breast cancer. *N Engl J Med*. 2004 Dec 30;351(27):2817-26. Epub 2004 Dec 10.
 15. A Study Of The Impact Of The 21-Gene Breast Cancer Assay On The Use Of Adjuvant Chemotherapy In Women With Breast Cancer In A Mexican Public Hospital. J.E.R. Bargallo¹, F. Lara¹, R.J. Shaw Dulin¹, V. Perez-Sánchez¹, C. Villarreal-Garza' Et Al. Abstract 2126. Esmo 2012.
 16. Tang G, Shak S, Paik S, Anderson SJ, Costantino JP, Geyer CE Jr, Mamounas EP, Wickerham DL, Wolmark N. Comparison of the prognostic and predictive utilities of the 21-gene Recurrence Score assay and Adjuvant! for women with node-negative, ER-positive breast cancer: results from NSABP B-14 and NSABP B-20. *Breast Cancer Res Treat*. 2011 May;127(1):133-42. doi: 10.1007/s10549-010-1331-z. Epub 2011 Jan 11.
 17. Mamounas EP, Tang G, Fisher B, Paik S, Shak S, Costantino JP, Watson D, Geyer CE Jr, Wickerham DL, Wolmark N. Association between the 21-gene recurrence score assay and risk of locoregional recurrence in node-negative, estrogen receptor-positive breast cancer: results from NSABP B-14 and NSABP B-20. *J Clin Oncol*. 2010 Apr 1;28(10):1677-83. doi: 10.1200/JCO.2009.23.7610. Epub 2010 Jan 11.
 18. Dowsett M, Cuzick J, Wale C, Forbes J, Mallon EA, Salter J, Quinn E, Dunbier A, Baum M, Buzdar A, Howell A, Bugarini R, Baehner FL, Shak S. Prediction of risk of distant recurrence using the 21-gene recurrence score in node-negative and node-positive postmenopausal patients with breast cancer treated with anastrozole or tamoxifen: a TransATAC study. *J Clin Oncol*. 2010 Apr 10;28(11):1829-34. doi: 10.1200/JCO.2009.24.4798. Epub 2010 Mar 8.
-

19. Paik S, Tang G, Shak S, et al. Gene expression and benefit of chemotherapy in women with node-negative, estrogen receptor-positive breast cancer. *J Clin Oncol*. 2006 Aug 10;24(23):3726-34. Epub 2006 May 23.
20. Albain KS, Barlow WE, Shak S, et al.. Prognostic and predictive value of the 21-gene recurrence score assay in postmenopausal women with node-positive, oestrogen-receptor-positive breast cancer on chemotherapy: a retrospective analysis of a randomised trial. *Lancet Oncol*. 2010 Jan;11(1):55-65. doi: 10.1016/S1470-2045(09)70314-6. Epub 2009 Dec 10.
21. Lo SS, Mumby PB, Norton J, Rychlik K, Smerage J, Kash J, Chew HK, Gaynor ER, Hayes DF, Epstein A, Albain KS. Prospective multicenter study of the impact of the 21-gene recurrence score assay on medical oncologist and patient adjuvant breast cancer treatment selection. *J Clin Oncol*. 2010 Apr 1;28(10):1671-6. doi: 10.1200/JCO.2008.20.2119. Epub 2010 Jan 11.
22. Partin JF, Mamounas EP. Impact of the 21-gene recurrence score assay compared with standard clinicopathologic guidelines in adjuvant therapy selection for node-negative, estrogen receptor-positive breast cancer. *Ann Surg Oncol*. 2011 Nov;18(12):3399-406. doi: 10.1245/s10434-011-1698-z. Epub 2011 May 3.
23. J.E.R. Bargallo, F. Lara, R.J. Shaw Dulin, V. Perez-Sánchez, C. Villarreal-Garza, H. Maldonado-Martinez, A. Mohar-Betancourt, C. Yoshizawa, E. Burke, C. Chao. A STUDY OF THE IMPACT OF THE 21-GENE BREAST CANCER ASSAY ON THE USE OF ADJUVANT CHEMOTHERAPY IN WOMEN WITH BREAST CANCER IN A MEXICAN PUBLIC HOSPITAL. P289 European Society for Medical Oncology. 2012 Congress.
24. J. H. Todd, C. Dowle, M. R. Williams, C. W. Elston, I. O. Ellis, C. P. Hinton, R. W. Blamey, and J. L. Haybittle. Confirmation of a prognostic index in primary breast cancer. *Br J Cancer*. 1987 October; 56(4): 489–492.
25. Yamamoto-Ibusuki M, Yamamoto Y, Yamamoto S, Fujiwara S, Fu P, Honda Y, Iyama K, Iwase H. Comparison of prognostic values between combined immunohistochemical score of estrogen receptor, progesterone receptor, human epidermal growth factor receptor 2, Ki-67 and the corresponding gene expression score in breast cancer. *Mod Pathol*. 2013 Jan;26(1):79-86.
26. Geffen DB, Abu-Ghanem S, Sion-Vardy N, Braunstein R, Tokar M, Ariad S, Delgado B, Bayme M, Koretz M. The impact of the 21-gene recurrence score assay on decision making about adjuvant chemotherapy in early-stage estrogen-receptor-positive breast cancer in an oncology practice with a unified treatment policy. *Ann Oncol*. 2011 Nov;22(11):2381-6. doi: 10.1093/annonc/mdq769. Epub 2011 Mar 1.

27. Dowsett M, Allred C, Knox J, et al: Relationship between quantitative estrogen and progesterone receptor expression and human epidermal growth factor receptor 2 (HER-2) status with recurrence in the Arimidex, Tamoxifen, Alone or in Combination trial. *J Clin Oncol* 26:1059-1065, 2008.
28. Cuzick J, Dowsett M, Pineda S, Wale C, Salter J, Quinn E, Zabaglo L, Mallon E, Green AR, Ellis IO, Howell A, Buzdar AU, Forbes JF. Prognostic value of a combined estrogen receptor, progesterone receptor, Ki-67, and human epidermal growth factor receptor 2 immunohistochemical score and comparison with the Genomic Health recurrence score in early breast cancer. *J Clin Oncol*. 2011 Nov 10;29(32):4273-8.
29. S Barton¹, L Zabaglo², R A'Hern³, N Turner^{1,4}, T Ferguson¹, S O'Neill¹, M Hills², I Smith^{1,5} and M Dowsett Assessment of the contribution of the IHC4+C score to decision making in clinical practice in early breast cancer. *British Journal of Cancer* (2012) 106, 1760–1765
-

APÉNDICE

CORRELACIONES ENTRE DISTINTAS VARIABLES DEL ESTUDIO

La siguiente serie de tablas realiza las siguientes pruebas estadísticas:

- 1.- Correlación de Spearman.
- 2.- Wilcoxon prueba de suma de rangos.
- 3.- Tendencia de Cuzick.

Las pruebas tienen el objetivo de cuantificar la correlación en el caso de Spearman se utiliza cuando las variables presentan outliers o los valores provienen de un margen cualitativo aunque numérico no es una variable producida en tiempo continuo. La prueba de Wilcoxon es el similar de la correlación cuando alguna de las variables esta en rango. A su vez la tendencia de Cuzick muestra si las variables analizadas oscilan en el mismo patrón, es un similar a la prueba de Wilcoxon. En resumen estas pruebas determinan que tan relacionadas están las variables independientes.

Para las siguientes tablas el valor de p determina si es significativo el volumen de datos para el coeficiente de correlación o tendencia. Esto significa que si con el volumen de datos obtenido es suficiente para poder concluir una máxima correlación entre las variables independientes. Un valor de p mayor a 0.5 en un intervalo de confianza de 95% indica que es posible que al modifica el volumen de las muestras la correlación pueda cambiar. En cambio un valor de p menor a 0.5 muestra evidencia sólida que el coeficiente de correlación o tendencia no se modificara considerablemente en el intervalo de confianza.

Tabla I Receptor Estrógeno H-Score Vs Receptor Progesterona %			
Prueba	IC 95%	p	ρ
Spearman	-0.1266055 - 0.2783643	0.4415	0.0877

Tabla II Receptor Estrógeno H-Score Vs Ki-67 %			
Prueba	IC 95%	p	ρ
Spearman	0.01464259 - 0.40351486	0.003352	0.3011638

Tabla III Receptor Estrógeno H-Score Vs HER		
Prueba	IC 95%	p
Wilcoxon	180 - 200	< 0.0001

Tabla IV Receptor Estrógeno H-Score Vs Estado Menopáusico		
Prueba	IC 95%	p
Wilcoxon	178 - 199	< 0.0001

Tabla V Receptor Estrógeno H-Score Vs Ganglios Positivos		
Prueba	IC 95%	p
Wilcoxon	179 - 200	< 0.0001

Tabla VI Receptor Estrógeno H-Score Vs Tumor		
Prueba	IC 95%	p
Wilcoxon	179 - 199	< 0.0001

Tabla VII Receptor Estrógeno H-Score Vs Tamaño Tumor [cm]		
Prueba	IC 95%	p
Wilcoxon	178 - 198.4	< 0.0001

Tabla VIII Receptor Estrógeno H-Score Grado		
Prueba	IC 95%	p
Wilcoxon	178 - 199	< 0.0001

Tabla IX Receptor Progesterona % Vs Ki-67			
Prueba	IC 95%	p	p
Spearman	-0.1175032 - 0.2868663	0.3981	0.0886529

Tabla X Receptor de Progesterona % Vs HER		
Prueba	IC 95%	p
Wilcoxon	4 - 6	< 0.0001

Tabla XI Receptor de Progesterona % Vs Estado Menopáusico		
Prueba	IC 95%	p
Wilcoxon	3 - 5	< 0.0001

Tabla XII Receptor de Progesterona % Vs Ganglios Positivos		
Prueba	IC 95%	p
Wilcoxon	4 - 5.5	< 0.0001

Tabla XIII Receptor de Porogesterona % Vs Tumor		
Prueba	IC 95%	p
Wilcoxon	3 - 5	< 0.0001

Tabla XIV Receptor de Porogesterona % Vs Tamaño Tumor [cm]		
Prueba	IC 95%	p
Wilcoxon	2.5 - 4.199	< 0.0001

Tabla XV Receptor de Porogesterona % Vs Grado		
Prueba	IC 95%	p
Wilcoxon	3 - 4	< 0.0001

Tabla XVI Ki-67% % Vs HER		
Prueba	IC 95%	p
Wilcoxon	8 - 10	< 0.0001

Tabla XVII Ki-67% % Vs Estado Menopáusico		
Prueba	IC 95%	p
Wilcoxon	8 - 9	< 0.0001

Tabla XVIII Ki-67% % Vs Gnglios Positivos		
Prueba	IC 95%	p
Wilcoxon	8 - 10	< 0.0001

Tabla XIX Ki-67% % Vs Tumor		
Prueba	IC 95%	p
Wilcoxon	8 - 9	< 0.0001

Tabla XX Ki-67% % Vs Tamaño Tumor [cm]		
Prueba	IC 95%	p
Wilcoxon	6.899 - 8.799	< 0.0001

Tabla XXI Ki-67% % Vs Grado		
Prueba	IC 95%	p
Wilcoxon	7 - 9	< 0.0001

Tabla XXII Receptor Estrógeno Vs Grado		
Prueba	Z	p
Cuzick	8.94	< 0.0001

Tabla XXIII Receptor Progesterona Vs Grado		
Prueba	Z	p
Cuzick	8.95	< 0.0001

Tabla XXIV Ki-67% Vs Grado		
Prueba	Z	p
Cuzick	8.95	< 0.0001

Tabla XXV RE H-Score Vs Ganglios Positivos		
Prueba	IC 95%	p
Cuzick	8.55	< 0.0001

Tabla XXVI RP % Vs Ganglios Positivos		
Prueba	Z	p
Cuzick	8.47	< 0.0001

Tabla XXVII Receptor Ki-67% % Vs Ganglios Positivos		
Prueba	IC 95%	p
Cuzick	8.45	< 0.0001

Las siguientes pretenden ayudar a dilucidar la similitud entre muestras y asegurar que la muestra obtenida para calcular el IHC4 es un reflejo del comportamiento poblacional del instituto. Para comparar las muestras con comportamiento se prueba con un análisis de varianza (ANOVA) cuyo valor de p sugiere si se rechaza la hipótesis nula, lo mismo aplica en las pruebas Kruskal Wallis similar de la ANOVA cuando la variable no se comporta de manera normal. Por último la prueba de Wilcoxon se utiliza en variables por rango como el HER.

En las siguientes tablas un valor de p alto sugiere que las muestras son similares en contraste, un valor de p elevado sugiere que las muestras son diferentes.

Edad: INCan VS Muestra IH		
Prueba	IC 95%	Pr(>F)
ANOVA	21.532 - 26.707	< 0.0001

HER2: INCan VS Muestra IH		
Prueba	K	p
Wilcoxon	48.5685	0.4826

RE H Score: INCan VS Muestra IH		
Prueba	K	p
Kruskal Wallis	48.5685	< 0.0001

RP H Score: INCan VS Muestra IH		
Prueba	K	p
Kruskal Wallis	26.4929	< 0.0001

Ki 67%: INCan VS Muestra IH		
Prueba	K	p
Kruskal Wallis	37.756	< 0.0001

Al filtrar los valores por edad los valores pierden normalidad (lo cual es de esperarse), por lo que a prueba por grupos de edad se convierte en una prueba Kruskal Wallis χ^2 . Lo anterior para analizar las varianzas entre las dos muestras con un patrón no normal.

Edad menores a 50: INCan VS Muestra IH		
Prueba	K	p
Kruskal Wallis	34.514	< 0.0001

Edad mayores a 50: INCan VS Muestra IH		
Prueba	K	p
Kruskal Wallis	9.119	0.002529

Los recuadros marcados en rojo indican que la muestra y la población son diferentes en dichas variables como se mencionó anteriormente esto es sugerido por los valores de p. Al comparar los valores de p se observa claramente que la muestra en pacientes mayores a 50 años es más similar a la muestra de menores de 50.

Las siguientes tablas muestran la bondad de ajuste que existen en estas variables, la prueba estadística para modelar es la Pearson χ^2 la cual indica que tan bien están ajustadas las variables con respecto a su valor esperado la media μ . El valor

de p para las siguientes tablas refleja si el modelo puede tomarse como un modelo significativo, un valor de p mayor a 0.05 indica que existe varianza considerable en la distribución de la variable independiente. En cambio un valor de p menor 0.05 sugiere lo contrario.

χ^2 Edad		
χ^2	df	p
30.1229	4	4.62E-06

χ^2 Oncotype Dx®		
χ^2	df	p
77.9107	4	4.83E-16

χ^2 menores a 45 años		
χ^2	df	p
11.3291	4	0.0231

χ^2 mayores a 45 años		
χ^2	df	p
26.533	4	2.47E-05

Los valores de p en las tablas anteriores proponen realizar un análisis de dependencia estadística con los resultados del estudio, lo anterior se cuantifica con una prueba χ^2 la cual indica si las variables entre sí muestran dependencia. En otras palabras es, ¿cuál es el efecto una con la otra? y si eso impacta en la generalidad de los resultados.

Para generar los resultados anteriores se requirió generar diversas tablas de contingencia por los rangos intercuantiles para determinar la χ^2 . El valor de p resultante

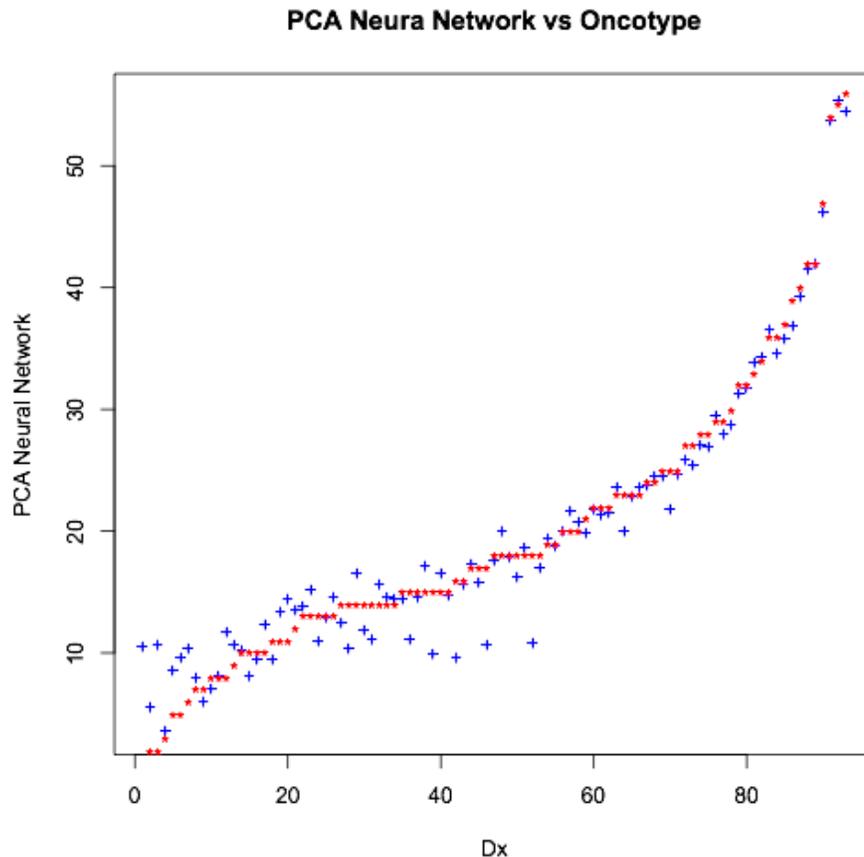
indica que tanta dependencia puede existir entre las variables, un valor de p mayor a 0.5 no sugiere dependencia al contrario de un valor menor a 0.5 nos indica la dependencia de las variables.

χ^2 Dependencia Edad + IHC4 + Dx menores de 45		
χ^2	df	p
31.4394	8	0.0001173

χ^2 Dependencia Edad + IHC4 + Dx mayores de 45		
χ^2	df	p
88.7406	8	8.38E-16

χ^2 Dependencia Edad + IHC4 + Dx		
χ^2	df	p
94.9932	8	2.20E-16

A continuación se muestra un pequeño ejemplo al utilizar todas las variables disponibles en un algoritmo de clasificación con el objetivo de ilustrar la multi-clasificación. Los siguientes valores deben de considerarse de carácter preliminar ya que no existe n muestras suficientes para entrenar y verificara la validez del modelo.



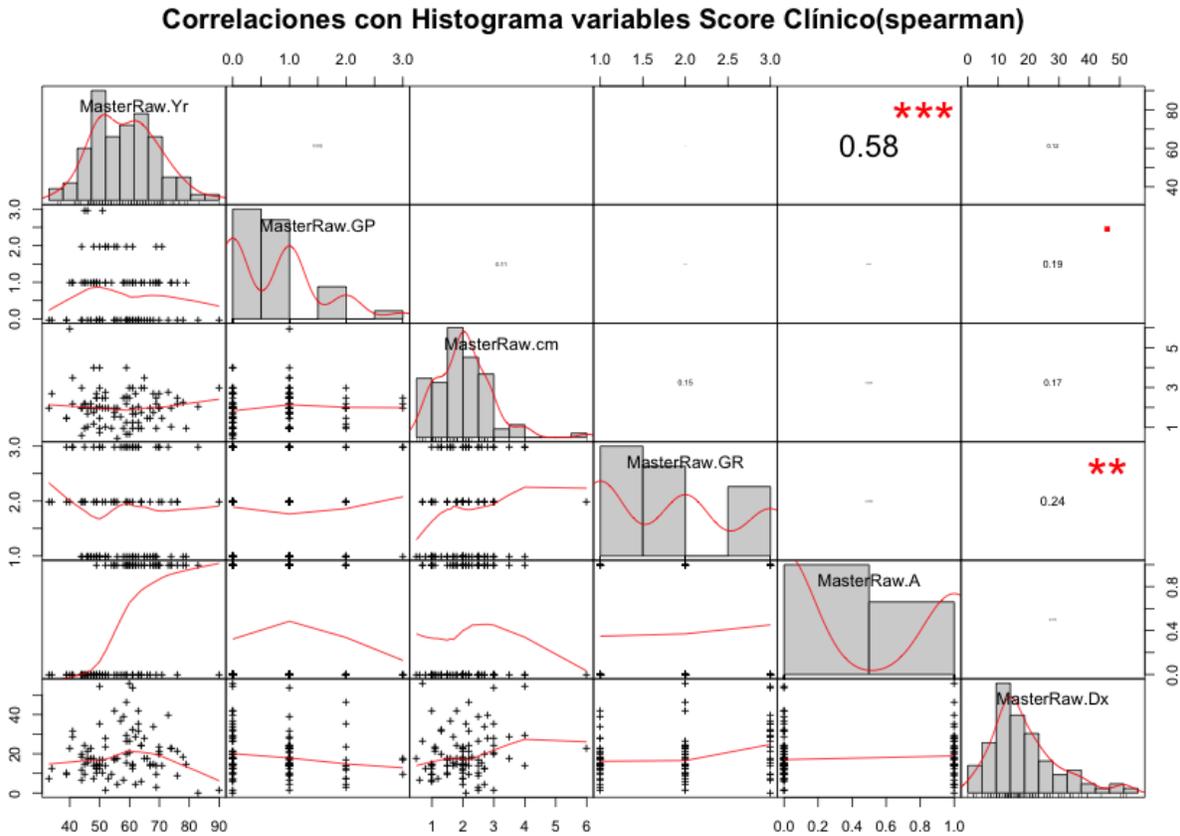
Graf. 1 Los puntos en azul son las perdicciones del modelo clasificador y los valores en rojo son los resultados del Oncotype Dx®.

La siguiente gráfica muestra las correlaciones que existen entre las variables del score clínico (Ganglios, Tamaño del tumor, Grado, Edad, Anastrozol) y el Oncotype DX®. El score fue calculado de la siguiente manera:

$$C = 100 \{0.41N_{1-3} + 1.566N_4$$

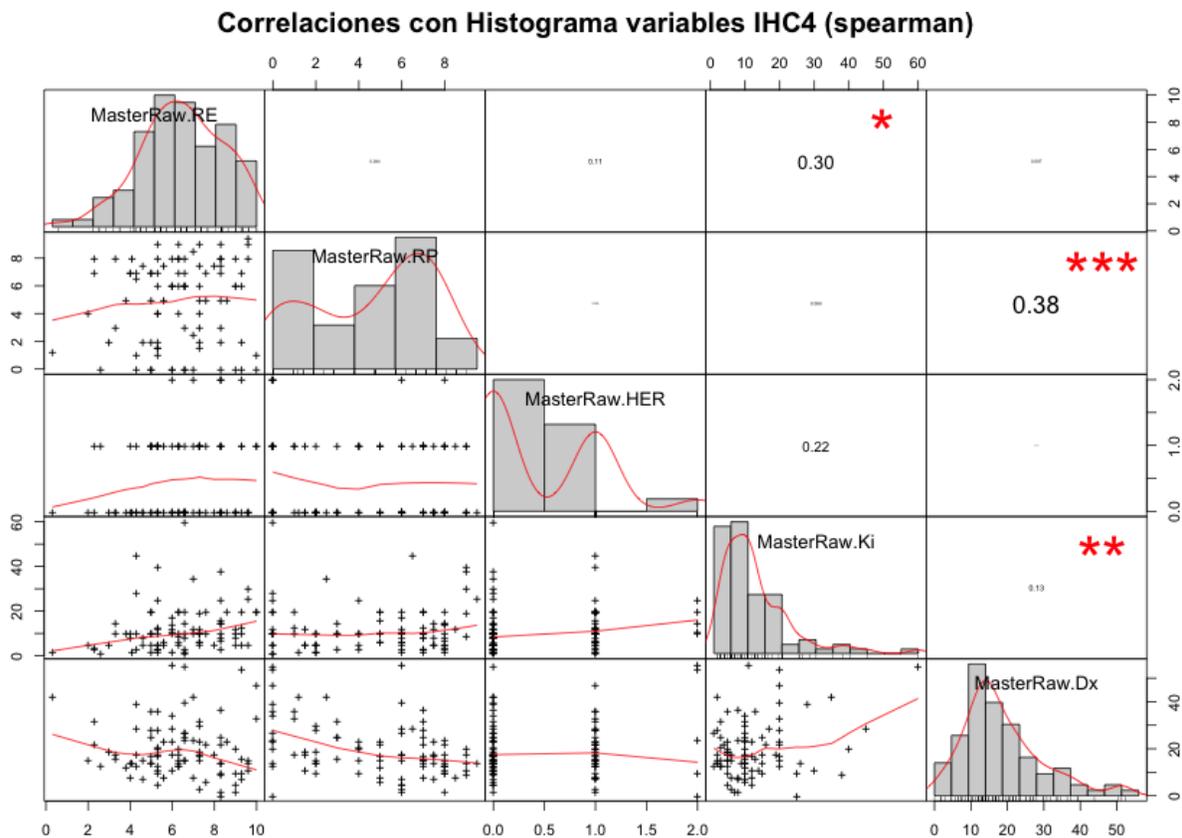
$$+ 0.930(0.49T_{1-2} + 0.882T_{2-3} + 1.383T_{>3} + 0.559Gr_2 + 0.097Gr_3$$

$$+ 0.13Edad_{>65} - 0.149Ana)\}$$



Graf. 2. Se muestran los histogramas de las variables del score clínico junto con el valor del Oncotype DX® en diagonal, por debajo se muestra la dispersión de las variables y su línea de ajuste por mínimos cuadrados. En la parte superior el coeficiente de correlación que entre más cercano a 1 es más grande. Para los datos del score clínico la única correlación significativa es de 0.58 entre la edad y el Anastrozol.

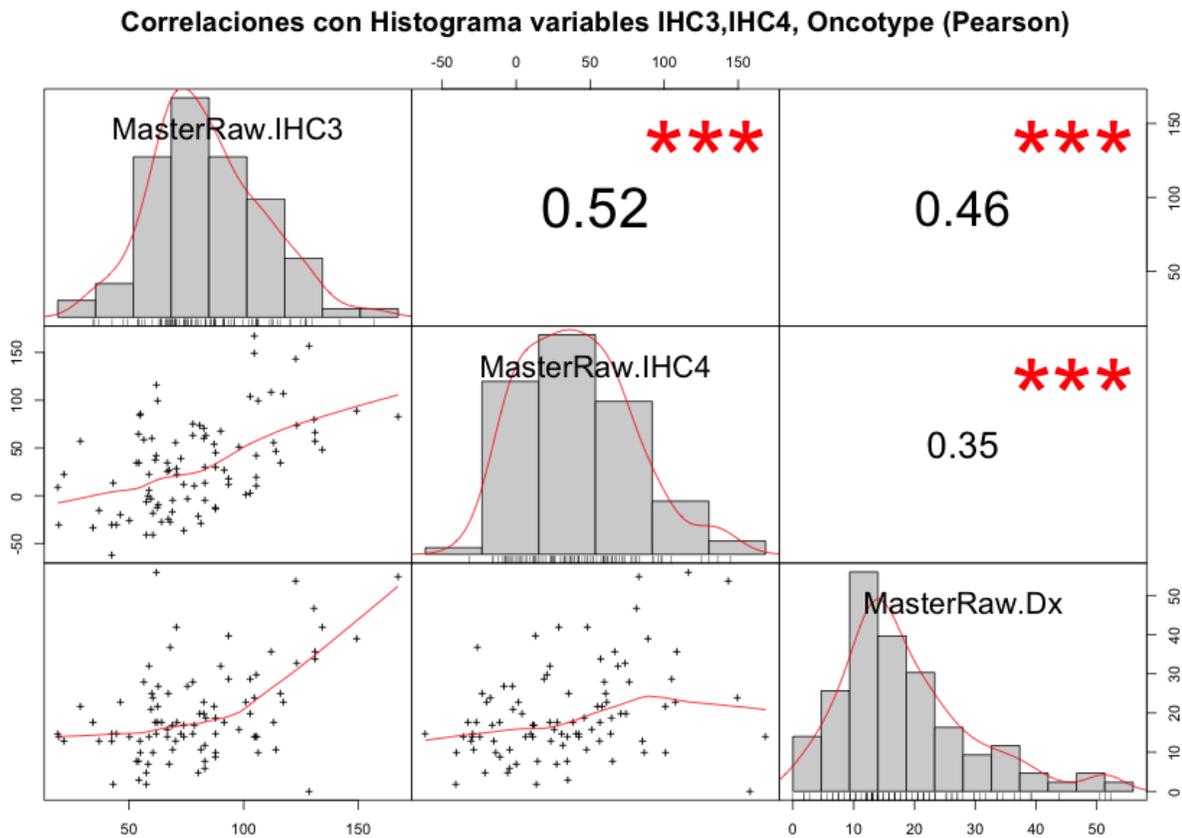
La siguiente gráfica muestra la correlación que existe entre los valores de IHC4 y el Oncotype DX®:



Graf. 3. Se muestran los histogramas de las variables del IHC4 junto con el valor del Oncotype DX® en diagonal, por debajo se muestra la dispersión de las variables y su línea de ajuste por mínimos cuadrados. En la parte superior el coeficiente de correlación que entre más cercano a 1 es más grande. Los valores de correlación son bajos y son aproximadamente los que reporta el autor.

La siguiente gráfica muestra la correlación que existe entre los valores IHC3, IHC4 y Oncotype DX®. La ecuación IHC3 es calcula de la siguiente manera:

$$IHC3 = 93.1\{-0.086ER_{10} - 0.081PgR_{10} + 0.281 \ln(1 + 10Ki67) \}$$



Graf. 4. Se muestran los histogramas de los scores IHC3, IHC4 y Oncotype DX® en diagonal, por debajo se muestra la dispersión de las variables y su línea de ajuste por mínimos cuadrados. En la parte superior el coeficiente de correlación que entre más cercano a 1 es más grande. Los valores de correlación bajos a moderados, el coeficiente de correlación entre IHC3 y IHC4 $r = 0.52$. La correlación entre el IHC3 y el Oncotype DX® es $r = 0.46$, la correlación entre IHC4 y el Oncotype DX® es $r = 0.35$.