



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

CENTRO MÉDICO NACIONAL SIGLO XXI

UMAE HOSPITAL DE ONCOLOGÍA

TRABAJO DE INVESTIGACION PARA OBTENER EL GRADO DE CIRUGÍA
ONCOLÓGICA

*ANÁLISIS DE LA CONCORDANCIA EN LA EXPRESIÓN DE RECEPTORES HORMONALES Y
HER2-NEU EN CÁNCER DE MAMA ENTRE EL TUMOR PRIMARIO Y GANGLIOS
METASTÁSICOS AXILARES SINCRÓNICOS.*

REALIZADO EN EL HOSPITAL DE ONCOLOGÍA CMN SXXI, IMSS.

NOMBRE DEL ALUMNO

TUTOR

DIANA PATRICIA JIMÉNEZ CARRANZA

JAIME ALONSO RESÉNDIZ COLOSIA

NÚMERO DE REGISTRO NACIONAL: **R-2015-3602-5**



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.



INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL UMAE 611 HOSPITAL DE ONCOLOGIA

CMN SXXI SERVICIO DE TUMORES DE MAMA

AUTORIZACIÓN DE TESIS

Dra. Diana Patricia Jiménez Carranza

Dr. Jaime Alonso Reséndiz Colosia.

Dr. Marcos Gutiérrez de la Barrera

Dra. Isabel Alvarado Cabrero.

Dra Patricia Piña Sánchez.

Dr. José Francisco Gallegos Hernández.
Profesor titular del curso de Especialidad Cirugía Oncológica

Dr. Gabriel Gozález Ávila
Director de Educación e Investigación en Salud
Hospital de Oncología CMN SXXI



INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL UMAE 611 HOSPITAL DE ONCOLOGIA

CMN SXXI SERVICIO DE TUMORES DE MAMA

PROFESORES SINODALES

Dr. Rafael Medrano Guzmán
Jefe de Servicio de Sarcomas

Dr. Saúl Enrique Rodríguez Ramírez
Jefe de Servicio de Colon y Recto

Dr. Félix Quijano Castro
Jefe de la División de Educación en Salud

MEXICO

Dirección de Prestaciones Médicas
Unidad de Educación, Investigación y Políticas de Salud
Coordinación de Investigación en Salud



2015, Año del Generalísimo José María Morelos y Pavón.

Dictamen de Autorizado

Comité Local de Investigación y Ética en Investigación en Salud 3602
HOSPITAL DE ONCOLOGIA, CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO XXI, D.F. SUR

FECHA 18/02/2015

DR. JAIME RESÉNDIZ COLOSIA

PRESENTE

Tengo el agrado de notificarle, que el protocolo de investigación con título:

ANÁLISIS DE LA CONCORDANCIA DE EXPRESIÓN DE RECEPTORES HORMONALES Y HER2-NEU EN CÁNCER DE MAMA ENTRE EL TUMOR PRIMARIO Y GANGLIOS METASTÁSICOS AXILARES SINCRÓNICOS.

que sometió a consideración de este Comité Local de Investigación y Ética en Investigación en Salud, de acuerdo con las recomendaciones de sus integrantes y de los revisores, cumple con la calidad metodológica y los requerimientos de Ética y de investigación, por lo que el dictamen es **AUTORIZADO**, con el número de registro institucional:

| |
|------------------|
| Núm. de Registro |
| R-2015-3602-5 |

ATENTAMENTE


DR. (A). PEDRO ESCUDERO DE LOS RÍOS
Presidente del Comité Local de Investigación y Ética en Investigación en Salud No. 3602

IMSS

ANÁLISIS DE LA CONCORDANCIA EN LA EXPRESIÓN DE RECEPTORES HORMONALES Y HER2-NEU EN CÁNCER DE MAMA ENTRE EL TUMOR PRIMARIO Y GANGLIOS METASTÁSICOS AXILARES SINCRÓNICOS.

Jiménez Carranza Diana P, Resendiz Colosia Jaime, Gutierrez de la Barrera Marcos; Alvarado Cabrero Isabel, Piña Sánchez Patricia.

INTRODUCCIÓN.

La discordancia en la expresión de los receptores de estrógenos (RE), receptores de progesterona (RP) y del receptor 2 de crecimiento epidérmico humano (HER 2) entre el tumor primario y los ganglios metastásicos axilares sincrónicos han sido reportados en varios estudios. Para receptores de estrógeno el viraje va de un 8.8 – 28.3%; en receptores de progesterona del 17.8 al 23.4 %; y para HER 2 de 8.9- 25.53%.

OBJETIVO.

Identificar la diferencia entre el estado de los receptores hormonales y la sobreexpresión del HER 2 del tumor primario y las metástasis ganglionares axilares ipsilaterales sincrónicas en pacientes con cáncer de mama del HO CMN SXXI.

MATERIAL Y MÉTODO:

El estudio se realizó en el servicio de Tumores de Mama en el Hospital de Oncología del IMSS Centro Médico Nacional Siglo XXI. Se incluyeron en forma retrospectiva aquellas pacientes con diagnóstico de cáncer de mama con etapas clínicas I a III que fueron tratadas con cirugía sin quimioterapia neoadyuvante entre el 1 de Enero del 2013 a Diciembre del 2014. En todos los casos, se realizó una nueva determinación de receptores mediante el proceso de inmunohistoquímica y de hibridación in situ cromogénica con plata dual para buscar la amplificación de HER-2 del tumor primario y ganglios metastásicos sincrónicos. Se utilizó el sistema automatizado Benchmarck^R (Ventana Medical System Inc.). Se analizó el índice kappa para determinar la concordancia inter observador.

RESULTADOS:

Se encontró un porcentaje de discordancia de 11% tanto para RE como HER -2 al analizarse con IHQ, y de hasta el 19% con CISH; para RP de 13%. En el análisis de CISH reportamos un 16.21% de ganancia de expresión de Her-2 en ganglios metastásicos. Para los receptores hormonales encontramos ganancia de expresión en el ganglio de 2.27% para RE y de 4.54% para RP.

CONCLUSIÓN:

Se corrobora discordancia entre la expresión de receptores (RE, RP, HER2) entre el tumor primario y los ganglios metastásicos sincrónicos. El significado clínico de encontrar la ausencia de expresión de receptores hormonales y/o de HER 2 en el tumor primario, y ganancia de los mismos en las metástasis axilares nos dará pauta en un futuro para indicar hormonoterapia y/o terapias anti-Her2 en tumores negativos, y probablemente mejorar el pronóstico de la enfermedad.

INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
UNIDAD MÉDICA DE ALTA ESPECIALIDAD
HOSPITAL DE ONCOLOGÍA
CENTRO MÉDICO NACIONAL SIGLO XXI

| | |
|----------|--------------------|
| SERVICIO | CIRUGÍA ONCOLÓGICA |
|----------|--------------------|

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

ANÁLISIS DE LA CONCORDANCIA EN LA EXPRESIÓN DE RECEPTORES HORMONALES Y HER2-NEU EN CÁNCER DE MAMA ENTRE EL TUMOR PRIMARIO Y GANGLIOS METASTÁSICOS AXILARES SINCRÓNICOS.

INVESTIGADOR

| | |
|---|--|
| NOMBRE: Diana Patricia Jiménez Carranza | |
| DIRECCIÓN: Mitla 66 Dpto 201 Colonia Narvarte | |
| ESPECIALIDAD: Cirugía Oncológica. | |
| Año: 2012-2015 | Matrícula: 99377229 |
| TEL. 55 100 40162 | E.mail: serendemicoenextincion@yahoo.com |
| LUGAR DE TRABAJO: HO CMN SXXI | FIRMA |

DIRECTORES

| | |
|---|---|
| NOMBRE: Dr. Jaime Alonso Reséndiz Colosia | |
| DIRECCIÓN: Av. Cuauhtémoc 330 Col. Doctores CP 03100 Del. Cuauhtémoc, México, D. F. | |
| ESPECIALIDAD: Cirujano Oncólogo. | |
| LUGAR DE TRABAJO: HO CMN SXXI | Matrícula: 9176829 |
| TEL. 55 34 31 28 20 | E. mail: resendizcolosia@gmail.com |
| FIRMA | |

| | |
|---|---|
| NOMBRE: Dr. Marcos Gutiérrez de la Barrera | |
| DIRECCIÓN: Av. Cuauhtémoc 330 Col. Doctores CP 03100 Del. Cuauhtémoc, México, D. F. | |
| ESPECIALIDAD: Cirujano Oncólogo. | |
| LUGAR DE TRABAJO: HO CMN SXXI | Matrícula: |
| TEL. | E. mail: marcosgub@gmail.com |
| FIRMA | |

| | |
|---|---|
| NOMBRE: Dra. Isabel Alvarado Cabrero | |
| DIRECCIÓN: Av. Cuauhtémoc 330 Col. Doctores CP 03100 Del. Cuauhtémoc, México, D. F. | |
| ESPECIALIDAD: Patología | |
| LUGAR DE TRABAJO: HO CMN SXXI | Matrícula: |
| TEL. | E. mail: keme2.tijax12@gmail.com |
| FIRMA | |

| | |
|---|---|
| NOMBRE: Dra. Patricia Piña Sánchez | |
| DIRECCIÓN: Av. Cuauhtémoc 330 Col. Doctores CP 03100 Del. Cuauhtémoc, México, D. F. | |
| ESPECIALIDAD: Investigador Asociado B. | |
| LUGAR DE TRABAJO: HO CMN SXXI | Matrícula: 10100032 |
| TEL. | E. mail: patricia_1307@yahoo.com.mx |
| FIRMA | |

| | |
|-------------------------------|------------------|
| # DE REGISTRO : R-2015-3602-5 | FECHA 18/02/2015 |
|-------------------------------|------------------|

ÍNDICE

| | |
|---|----|
| 1. ANTECEDENTES..... | 18 |
| 2. JUSTIFICACIÓN..... | 28 |
| 3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA..... | 29 |
| 4. PREGUNTA CIENTÍFICA..... | 30 |
| 5. HIPÓTESIS..... | 31 |
| 6. OBJETIVOS..... | 32 |
| 6.1 General..... | 32 |
| 6.2 Específicos..... | 32 |
| 7. MATERIAL Y MÉTODO..... | 33 |
| 7.1 Diseño del estudio..... | 33 |
| 7.2 Ubicación espacio y tiempo..... | 33 |
| 7.3 Estrategia de trabajo..... | 33 |
| 7.4 Marco muestral..... | 37 |
| 7.4.1 Población fuente..... | 38 |
| 7.4.2 Población elegida..... | 38 |
| 7.4.3 Criterios de selección..... | 38 |
| 7.4.3.1 Criterios de inclusión..... | 38 |
| 7.4.3.2 Criterios de exclusión..... | 38 |
| 7.4.3.3 Criterios de eliminación..... | 38 |
| 7.5 Diseño y tipo de muestreo..... | 38 |
| 7.6 Tamaño de la muestra..... | 38 |
| 7.7 Variable y escala de medición..... | 40 |
| 7.8 Método de recolección de datos..... | 40 |
| 7.9 Análisis de datos..... | 41 |
| 8. LOGÍSTICA..... | 42 |
| 8.1 Recursos humanos..... | 42 |
| 8.2 Recursos materiales..... | 42 |
| 8.3 Recursos financieros..... | 42 |
| 8.4 Consideraciones éticas..... | 42 |
| 9. RESULTADOS..... | 43 |
| 10. DISCUSIÓN..... | 51 |
| 11. CONCLUSIÓN..... | 54 |
| 12. BIBLIOGRAFÍA..... | 55 |
| 13. ANEXOS..... | 58 |
| 13.1 Hoja de recolección de datos..... | 58 |
| 13.2 Consentimiento informado..... | 59 |

1. INTRODUCCIÓN

Según el reporte del Registro Histopatológico de Neoplasias Malignas, en México, el cáncer de mama constituye desde 2006 la segunda causa de muerte por cáncer en mujeres de 30- 54 años. Con una incidencia máxima entre los 40 y 54 años. Para el 2003, se registraron 12, 488 casos de cáncer de mama y 519 de carcinomas in situ. Según registros de Globocan, en México se estimaron 20,444 nuevos casos en 2012 y 5680 muertes por cáncer de mama en 2012 ¹⁻².

Epidemiológicamente, las mujeres mexicanas desarrollan cáncer de mama más tempranamente que las europeas o estadounidenses, por aproximadamente una década (51 vs 63 años), explicado en parte por la estructura de la pirámide poblacional de nuestro país, en donde predomina un mayor porcentaje de población joven ³.

El tratamiento se basa en el estadio tumoral, las características histológicas y la presencia de receptores hormonales y de la expresión del receptor HER2. Aproximadamente 70% de los tumores son positivos a receptores hormonales, sin embargo esta expresión puede cambiar durante la progresión de la enfermedad, lo cual modifica el pronóstico de la misma. La expresión de receptores hormonales es el factor predictivo más importante para la respuesta a la terapia endócrina con tamoxifeno o inhibidores de la aromatasa.

Aproximadamente 25 – 30 % de los pacientes con cáncer de mama presentan amplificación del gen HER2 o una sobre-expresión de la proteína HER 2, lo cual se asocia a un pobre pronóstico y disminución en la supervivencia global ⁴.

La discordancia en la expresión de los receptores de estrógenos (RE), receptores de progesterona (RP) y del receptor 2 de crecimiento epidérmico humano (HER 2) entre el tumor primario y los ganglios metastásicos axilares sincrónicos han sido reportados en varios estudios. Negergaard y colaboradores encuentran una discordancia en el receptor de estrógenos en 21 % de 101 pacientes analizados ⁵.

Wang y colaboradores reportan discordancia en la expresión del HER 2 entre el tumor primario y los ganglios axilares metastásicos sincrónicos en un 25.5% de casos ⁶.

Jin y colaboradores observaron en 56 pacientes que 14.3% ganaron expresión de receptores de estrógenos en las metástasis ganglionares sincrónicas; 3.6% en receptores de progesterona y 5.4% ganaron ambos receptores hormonales, quienes posteriormente recibieron terapia endócrina ⁷.

La discordancia en el estado de receptores de estrógenos puede ser reflejo de la progresión del tumor, o bien indicar diferente origen de diferentes tipos de células en la glándula mamaria. Los tumores ER+ exhiben un fenotipo de células epiteliales luminales, mientras los tumores ER – muestran el fenotipo de células mioepiteliales (basales). Recientemente se ha propuesto que las células mioepiteliales derivan de la auto renovación de células luminales precursoras.

Sin embargo, el examen de los patrones de expresión por sí sólo no puede establecer si los fenotipos ER + o ER – reflejan la tumorigénesis de poblaciones que divergen durante la diferenciación normal ⁸.

Dentro de los errores técnicos, se han descrito, errores de muestreo, y una exactitud limitada en la reproducibilidad de pruebas de expresión de receptores. Esto se hace evidente en los resultados discordantes incluso cuando las mismas muestras se evalúan en laboratorios diferentes.

Una repetición de la biopsia del tumor se justifica claramente cuando se sospecha, sobre bases clínicas, que los resultados de los receptores originales pueden haber sido falsos negativos, o cuando el diagnóstico de la enfermedad metastásica está en cuestión. Pusztai y colaboradores, aconsejan repetir la prueba simultáneamente en ambos especímenes de tumores (primarios y recurrentes/ sincrónicos), y también considerar el uso de una prueba de confirmación (por ejemplo hibridación in situ con inmunofluorescencia o hibridación in situ con cromógeno para HER -2; y una medición basada en mRNA para RE) en los casos de discordancia en los resultados antes de emitir un diagnóstico final ⁹.

La fijación tisular, los sistemas de recuperación antigénica de técnicas de inmunohistoquímica y métodos de tinción, son algunos de los factores que pueden modificar la expresión de receptores. Por ejemplo algunos tumores ER+ pueden ser completamente negativos si el tiempo de fijación es reducido. Las tasas de falsos negativos para la condición de ER (en

relación con un laboratorio de referencia) podría ser tan alta como 60%, incluso cuando las mismas muestras son analizadas por diferentes laboratorios ¹⁰.

En estos casos la concordancia se evalúa con una combinación de probabilidades que da una estimación de las tasas de concordancia esperados basados en casos clasificados correctamente cuando el mismo ensayo se repite en la misma cohorte de muestras, y la clasificación errónea se asume al azar.

También es importante reconocer que, si el error de medición no es aleatoria, sino resultado de un sesgo inherente a la muestra (es decir, el procesamiento pre analítica), la tasa de concordancia sería más alto, pero la exactitud de diagnóstico no mejoraría mediante la repetición del ensayo, porque los mismos casos serían mal clasificados en varias ocasiones ¹¹.

El presente estudio caracterizó la expresión molecular de los receptores hormonales y la expresión del HER 2 en el tumor primario y en las metástasis ganglionares axilares ipsilaterales sincrónicas en las pacientes con diagnóstico de cáncer de mama tratadas en el servicio de Tumores de mama del Hospital de Oncología del Centro Médico Nacional Siglo XXI, para identificar si existe diferencia en la expresión de los receptores en las metástasis respecto a la lesión primaria.

El significado clínico de encontrar la ausencia de expresión de receptores hormonales y de HER 2 en el tumor primario, y ganancia de los mismos en las metástasis axilares nos dará pauta en un futuro para indicar tratamiento endócrino y mejorar el pronóstico de la enfermedad.

GLOSARIO

Cáncer de mama.

Definición conceptual.- El cáncer de mama (carcinoma) es una enfermedad maligna en donde la proliferación acelerada, desordenada y no controlada de células pertenecientes a distintos tejidos de la glándula mamaria forman un tumor que invade los tejidos vecinos y metastatiza a órganos distantes del cuerpo.

Definición operacional: presencia o ausencia de evidencia clínica, paraclínica e histológica de tumor maligno de la glándula mamaria.

Carcinoma ductal infiltrante

Definición conceptual.- es el tipo histológico más frecuente, representa del 70-80% , suelen ser lesiones de color blanco grisáceo que invaden el tejido circundante, con una forma estrada, microscópicamente se caracterizan por cordones y nidos de células tumorales

Definición operacional.- Presencia o ausencia de carcinoma ductal infiltrante como tipo histológico.

Carcinoma lobulillar infiltrante

Definición conceptual.- es el carcinoma situado en el lobulillo, es el segundo tipo de carcinoma invasor más común, representa del 5-10% de los distintos tipos histológicos del cáncer de mama, se presenta a edad tardía, mayor tamaño tumoral al momento del diagnóstico, tendencia a la multifocalidad, multicentricidad y bilateralidad, mejor diferenciación y mayor tendencia a ser positivo a receptores hormonales. Metastatizan tardíamente y en sitios inusuales como peritoneo, meninges y tracto gastrointestinal. Se asocia a la mutación del gen de la cadherina (CDH1). Se caracterizan por presentar microscópicamente células pequeñas que insidiosamente infiltran el estroma mamario y el tejido adiposo de forma individual en una configuración de blanco como alrededor de los conductos normales.

Definición operacional.- Presencia o ausencia de carcinoma lobulillar infiltrante como tipo histológico.

Carcinoma Mixto

Definición conceptual.- contiene más de un tipo histológico de carcinoma infiltrante, más frecuente (ductal y lobulillar) se reporta en un 7%

Definición operacional.- Presencia o ausencia de más de un tipo histológico de cáncer de carcinoma infiltrante.

Otros tipos histológicos :

Definición conceptual.- diferentes tipos histológicos de cáncer de mama infiltrante excluyendo al lobulillar y ductal. Mucinoso (coloide) que se reporta en un 2.4%, tubular 1.5% medular 1.2% y papilar 1%.

Definición operacional.- Presencia o ausencia de los diferentes tipos histológicos de cáncer de mama infiltrante ¹².

Edad:

Definición Conceptual: Tiempo en años transcurrido desde el nacimiento hasta la fecha actual.

Definición Operacional: Paciente de 18 años cumplidos y mayores previo al evento quirúrgico.

Tasa de Incidencia :

Definición conceptual: Principal medida de frecuencia de enfermedad y se define como el número de nuevos casos de una enfermedad que se producen durante un periodo especificado en una población de riesgo y se traduce como “ el potencial instantáneo de cambio en el estado de salud por unidad de tiempo, durante un periodo específico, en relación con el tamaño de la población susceptible en el mismo periodo” ¹³.

Definición operacional: Casos de enfermedad por cada persona-año.

Tasa de incidencia = $\frac{\text{Número de casos nuevos de cáncer de mama en el periodo de estudio}}{\text{No. De personas en riesgo de desarrollar cáncer de mama por el tiempo que cada una de ellas permanece en riesgo}}$

Estadio:

Definición conceptual: Refleja la extensión del cáncer de mama de acuerdo a la clasificación TNM (tumor node metastasis) considerando la “T” como tamaño del tumor, “N” presencia de ganglios linfáticos metastásicos y “M” metástasis a distancia. La séptima edición del sistema de estadificación TMN publicada en el 2010 es la más reciente versión. Cada característica se evalúa clínicamente y por resultado patológico ¹⁴.

Clasificación TNM

| T | Tumor Primario |
|-------------|--|
| TX | No se puede evaluar el tumor primario |
| T0 | No existe prueba de tumor primario |
| Tis | Carcinoma <i>in situ</i> |
| Tis (CDIS) | Carcinoma ductal <i>in situ</i> |
| Tis (CLIS) | Carcinoma lobulillar <i>in situ</i> |
| Tis (Paget) | Enfermedad de Paget del pezón que NO está relacionada con el carcinoma invasor o carcinoma <i>in situ</i> (CDIS o CLIS) en el parénquima mamario subyacente. Los carcinomas del parénquima mamario relacionados con la enfermedad de Paget se clasifican sobre la base del tamaño y las características de la enfermedad parenquimatosa, aunque la presencia de la enfermedad de Paget aún se debería señalar. |
| T1 | El tumor mide ≤ 20 mm en su mayor dimensión. |
| T1mi | El tumor mide ≤ 1 mm, pero ≤ 5 mm en su mayor dimensión. |
| T1a | El tumor mide > 1 mm, pero ≤ 5 mm en su mayor dimensión. |
| T1b | El tumor mide > 5 mm, pero ≤ 10 mm en su mayor dimensión. |
| T1c | El tumor mide > 10 mm, pero ≤ 20 mm en su mayor dimensión. |
| T2 | El tumor mide > 20 mm, pero ≤ 50 mm en su mayor dimensión. |
| T3 | El tumor mide > 50 mm en su mayor dimensión. |
| T4 | El tumor mide cualquier tamaño con extensión directa a la pared pectoral o la piel (ulceración o nódulos cutáneos) |
| T4a | Extensión a la pared torácica que no solo incluye adherencia o invasión a los músculos pectorales |
| T4b | Ulceración de la piel o nódulos satélites ipsilaterales o edema (incluida la piel de naranja), la cual no satisface el criterio de carcinoma inflamatorio. |
| T4c | Ambos T4a y T4b. |
| T4d | Carcinoma inflamatorio |

| N | GANGLIOS LINFÁTICOS REGIONALES (CLÍNICO) |
|-----|--|
| NX | No se puede evaluar el ganglio linfático regional (por ejemplo, fue extirpado previamente). |
| N0 | Sin ganglios linfáticos regionales palpables. |
| N1 | Metástasis palpables a uno o varios ganglios linfáticos homolaterales axilares móviles. |
| N2 | Metástasis a ganglio(s) axilares homolaterales fijos entre sí o a otras estructuras, o detectados clínicamente en la cadena mamaria interna homolateral en ausencia de metástasis axilares palpables. |
| N2a | Metástasis en ganglio(s) axilares fijos entre sí o a otras estructuras. |
| N2b | Metástasis clínicamente aparentes en la cadena mamaria interna sin evidencia clínica de metástasis axilares. |
| N3 | Metástasis a ganglio(s) linfáticos infraclaviculares homolaterales o a ganglios clínicamente aparentes de la cadena mamaria interna homolateral y en presencia de ganglio(s) axilares palpables o metástasis a ganglio(s) de la región supraclavicular homolateral con o sin ganglios. |
| N3a | Metástasis a ganglio(s) infraclavicular homolateral y ganglio(s) axilares. |
| N3b | Metástasis a ganglio(s) de la mamaria interna y axilares homolaterales. |
| N3c | Metástasis a ganglio(s) supraclaviculares homolaterales. |

| pN | GANGLIOS LINFÁTICOS REGIONALES (PATOLÓGICO) |
|-----------|--|
| pNx | No se estudiaron los ganglios regionales. |
| pN0 | Sin metástasis histopatológicas. Sin examen adicional para células tumorales aisladas. Células tumorales aisladas se definen como células aisladas o pequeños nidos no mayores a 0.2mm, generalmente detectado por métodos de inmunohistoquímica o moleculares pero verificados por hematoxilina y eosina. No necesariamente son evidencia de actividad maligna y pueden corresponder a proliferación o reacción estromal. |
| pN0(i-) | Sin metástasis histopatológicas y con inmunohistoquímica negativa. |
| pN0(i+) | Sin metástasis histopatológicas pero con inmunohistoquímica positiva. Sin nidos de células tumorales mayores a 0.2 mm. |
| pN0(mol-) | Sin metástasis por histopatología ni estudios de RT-PCR. |
| pN0(mol+) | Sin metástasis histopatológicas pero positivo a estudios de RT-PCR. La clasificación se basa en disección ganglionar axilar con o sin linfadenectomía de centinelas. La clasificación basada solo en disección de centinelas sin disección completa de ganglios axilares se designa con las siglas sn, p. ej. pN0(i+)(sn). |
| pN1 | Metástasis en uno a tres ganglios axilares y/o ganglios mamarios internos con enfermedad microscópica detectada por biopsia de ganglio centinela pero que no son clínicamente aparentes. |
| pN1mi | Micrometástasis (mayor a 0.2 mm y no mayor a 2 mm). |
| pN1a | Metástasis en uno a tres ganglios axilares. |
| pN1b | Metástasis en ganglios mamarios internos con micrometástasis o macrometástasis detectada mediante biopsia de ganglio linfático centinela pero sin detección clínica. |
| pN1c | Metástasis en ganglios de cadena mamaria interna con enfermedad microscópica detectada por biopsia de ganglio centinela pero que no son clínicamente aparentes. |
| pN2 | Metástasis en cuatro a nueve ganglios axilares o en ganglios de cadena mamaria interna clínicamente aparentes en ausencia de metástasis a ganglios axilares. |
| pN2a | Metástasis en cuatro a nueve ganglios axilares con al menos uno con diámetro mayor a 0.2 mm. |
| pN2b | Metástasis en ganglios de cadena mamaria interna clínicamente aparentes en ausencia de metástasis a ganglios axilares. |
| pN3 | Metástasis en 10 o más ganglios axilares o en ganglios infraclaviculares, o en ganglios de cadena mamaria interna junto con uno o más ganglios axilares positivos; o en más de tres ganglios axilares positivos son adenopatías clínicas en ganglios de mamaria interna; o con ganglio supraclavicular positivo homolateral. |
| pN3a | Metástasis en 10 o más ganglios axilares positivos con al menos una metástasis mayor a 2 mm, o bien metástasis a ganglios infraclaviculares. Metástasis a los ganglios infraclaviculares (ganglio axilar de grado III). |
| pN3b | Metástasis en ganglios clínicamente evidentes en cadena mamaria interna en presencia de uno o más ganglios axilares positivos; o en más de tres ganglios axilares positivos con metástasis microscópica de ganglios de mamaria interna detectados por biopsia de ganglio centinela pero no evidentes clínicamente (clínicamente evidente significa encontradas en examen clínico o por métodos de imagen). |
| pN3c | Metástasis a ganglios supraclaviculares homolaterales. |

| M | METÁSTASIS A DISTANCIA |
|----------|-------------------------------|
| MX | No evaluable |
| M0 | Sin metástasis a distancia. |
| M1 | Con metástasis a distancia. |

| ETAPA CLINICA | | | |
|----------------------|--------------------|-------------|----|
| 0 | Tis | N0 | M0 |
| IA | T1(incluye T1 mi) | N0 | M0 |
| IB | T0 | N1mi | M0 |
| | T1 (incluye T1 mi) | N1mi | M0 |
| IIA | T0 | N1 | M0 |
| | T1 (incluye T1 mi) | N1 | M0 |
| | T2 | N0 | M0 |
| IIB | T2 | N1 | M0 |
| | T3 | N0 | M0 |
| IIIA | T0 | N2 | M0 |
| | T1 (incluye T1 mi) | | M0 |
| | T2 | N2 | M0 |
| | T3 | N2 | M0 |
| | T3 | N1 | M0 |
| | T3 | N2 | M0 |
| IIIB | T4 | N0 | M0 |
| | T4 | N1 | M0 |
| | T4 | N2 | M0 |
| IIIC | Cualquier T | N3 | M0 |
| IV | Cualquier T | Cualquier N | M1 |

1. ANTECEDENTES.

El cáncer de mama (carcinoma) es una enfermedad maligna en donde la proliferación acelerada, desordenada y no controlada de células pertenecientes a distintos tejidos de la glándula mamaria forman un tumor que invade los tejidos vecinos y metastatiza a órganos distantes del cuerpo.

Según el reporte del Registro Histopatológico de Neoplasias Malignas, en México, el cáncer de mama constituye desde 2006 la primer causa de muerte por cáncer en mujeres mayores de 25 años. Con una incidencia máxima entre los 40 y 54 años. Para el 2003, se registraron 12, 488 casos de cáncer de mama y 519 de carcinomas in situ ¹.

Epidemiológicamente, las mujeres mexicanas desarrollan cáncer de mama más tempranamente que las europeas o estadounidenses, por aproximadamente una década (51 contra 63 años), explicado en parte por la estructura de la pirámide poblacional de nuestro país, en donde predomina un mayor porcentaje de población joven.

Los factores de riesgo vinculados con el cáncer son menarca temprana, menopausia tardía, ciclos de corta duración, nuliparidad, edad tardía de primera gestación, ausencia de embarazos y lactancia, dieta hipercalórica con grasas saturadas, obesidad, administración de terapia de sustitución hormonal, anticonceptivos orales.

La predisposición hereditaria se presenta en un 5-10%, los más relevantes son las mutaciones de los genes BRCA 1 y BRCA 2, los síndromes de Li-Fraumeni, de Ataxia-Telangiectasia, Peutz-Jeghers, Muir-Torre y la enfermedad de Cowden. Los cambios proliferativos ductales o lobulillares, ya que confieren un riesgo relativo de 1.5 a 2.0 de desarrollar cáncer. La hiperplasia atípica representa un riesgo relativo de 3-5. ¹⁵

La mayor parte son neoplasias epiteliales, desde el punto de vista histológico los tumores infiltrantes son heterogéneos y casi todos son adenocarcinomas que se originan en los conductos terminales. El carcinoma ductal infiltrante representa el 85% de las lesiones invasoras y le sigue el carcinoma lobulillar infiltrante con un 5- 10 %. Las características histológicas importantes son el grado nuclear, la invasión vascular y linfática, presencia de metástasis axilares, el tamaño y perfil biológico del tumor.

El diagnóstico se realiza con anamnesis cuidadosa del cuadro clínico, el cual es variable, oscila desde la enfermedad subclínica hasta la enfermedad florida con tumor palpable y adenomegalias palpables, cambios en piel como retracción, piel de naranja y ulceración, secreción espontánea de líquido serohemático a través del pezón (poco frecuente); exploración física y estudios de imagen. La mastografía es el mejor método de detección con una sensibilidad diagnóstica de 70-75%, 10 % de los tumores pueden pasar desapercibidos; el ultrasonido es un complemento esencial de la mastografía e incluso herramienta útil en procedimientos intervencionistas que incluyen lesiones no palpables; la resonancia magnética tiene una sensibilidad elevada de 94-100%, pero baja especificidad 37-97% y un valor predictivo positivo del 33 %, con indicaciones específicas. La obtención de tejido para diagnóstico se obtiene por aguja fina, tru-cut o estereotáxica con una exactitud diagnóstica de más del 90%, es imperativo el análisis del perfil biológico ¹⁶.

El tratamiento de pacientes con cáncer de mama suele incluir un grupo multidisciplinario en el que se encuentran cirujanos oncólogos, radio oncólogos, oncólogos médicos, cirujanos reconstructivos, imagenólogos, psicooncólogos, patólogos y grupos de apoyo. El tratamiento depende de la etapa clínica del paciente y por ello se divide en enfermedad temprana, localmente avanzada y metastásica.

El cáncer de mama es un tipo de tumor dependiente de hormonas en un 70% de los casos; la expresión del receptor de estrógeno (ER) y receptor de progesterona (PR) es el indicador más importante para la eficacia y el pronóstico en pacientes con terapias endocrinas.

El receptor del factor de crecimiento epidérmico humano 2 (HER2) se amplifica en aproximadamente el 20% de los cánceres de mama, y la amplificación del gen HER2 se ha asociado con la invasividad tumoral, metástasis regionales y distantes progresivos, y pronóstico adverso. La positividad de HER 2 predice respuesta a los tratamientos anti HER (Trastuzumab, lapatinib, pertuzumab entre otros) ¹⁷.

El receptor de estrógenos (RE) es una proteína de 65 kDa que se encuentra expresada en un 75 % de los tumores de mama, y actualmente se considera el mejor predictor de respuesta al tratamiento hormonal. Se ha descrito respuesta en un 60 % de los tumores con expresión de receptores de estrógenos y en un 10 % de los que carecen de ella. Pertenece a una superfamilia de receptores hormonales nucleares de otras hormonas esteroideas, hormonas tiroideas, vitamina D y

ácido retinoico. Se han descrito dos formas de receptor de estrógenos (RE): RE α y RE- β . RE- α fue el primero en describirse y se distribuye en útero, endometrio, ovario y mama. El RE- β se distribuye en útero, mama, ovario, próstata, epidídimo, testículo, hipófisis, riñón, timo, hueso y SNC, y puede jugar un papel en la hormonorresistencia. Al actuar el estradiol sobre el RE- α se produce una activación con dos funciones (AF-1 y AF-2) que conducen a la transcripción de genes con inducción de la proliferación tumoral. Existen ligandos de RE que en unos tejidos actúan como estrógenos, en cambio, en otros bloquean la acción estrogénica, son los llamados moduladores selectivos del RE, entre los que se encuentra el Tamoxifeno. En función del ligando que se una al RE, tienen lugar modificaciones estructurales que alteran la interacción con otras proteínas (co-activadores o co-represores) críticas en la regulación génica de la proliferación celular. Además, a través de mediadores intracelulares, se ha descrito la acción de factores de crecimiento sobre el RE. El tratamiento hormonal puede actuar sobre tumores con expresión de RE de dos formas: a través de una acción directa sobre el receptor, o compitiendo por la unión al mismo con los estrógenos circulantes.

El receptor de progesterona (RP) también es un receptor de la membrana nuclear y está en el citosol de ciertas células. Parece ejercer una influencia positiva en la producción del RE. Los tumores RE + / RP + son los que mejor responden a terapia hormonal con una tasa de respuestas objetivas del 40 % en enfermedad metastásica, alcanzando estabilizaciones prolongadas. Los tumores RE + / RP - son menos sensibles a los SERM (reguladores selectivos del receptor de estrógenos). Los tumores RE - / RP + suponen un 5 % del total de los carcinomas de mama y tienen una tasa de respuesta a manejo hormonal similar a los RE + / RP +. Los tumores RE - / RP - no se benefician de la terapia hormonal y tienden a sobre expresar EGFR, y HER2 (factores que influyen en una regulación a la baja de RE).

La producción de estrógenos tiene lugar por acción de la aromatasa, que controla la conversión de testosterona en estradiol, así como de androstendiona en estrona, que, por la acción de la 17 β -hidroxiesteroide deshidrogenasa pasa a estradiol. En mujeres pre menopáusicas la actividad de la aromatasa tiene lugar principalmente en las células de la granulosa en los ovarios, siendo esta la principal fuente de estrógenos. Con la edad decrece la actividad de estas células, y la actividad de la aromatasa se desempeña en otros tejidos como la grasa, el hígado, el músculo o el folículo piloso, donde se encuentra la principal fuente de estrógenos tras la menopausia. Además, los sustratos de la aromatasa (androstendiona, y testosterona en menor cuantía) son producidos en la

suprarrenal, siendo indetectables en el tejido ovárico residual. Los inhibidores de la aromatasa bloquean dicha enzima disminuyendo los niveles de estrógenos circulantes ¹⁸.

De 10 a 30% de las pacientes con cáncer de mama sobreexpresan la proteína HER2-neu, generalmente son tumores de alto grado y receptores hormonales negativos. El gen humano ERBB2 está localizado en el cromosoma 17 y codifica una proteína transmembrana (p-105) cuya estructura es homóloga al receptor del factor del crecimiento epidermoide (HER1), con un dominio intracelular que posee actividad tirosina cinasa, relacionada a su vez con la proliferación, motilidad celular, invasión tumoral y supervivencia. La positividad de HER2 predice respuesta a los tratamientos anti HER (trastuzumab, lapatinib, pertuzumab, entre otros) tanto en el contexto adyuvante como metastásico.

La detección de ésta proteína se realiza con técnica de inmunohistoquímica (IHQ) y la amplificación del gen mediante FISH (hibridación in situ con inmunofluorescencia), CISH (hibridación in situ con cromógeno) o Dual-SISH (hibridación in situ con base cromógeno y plata). Para la interpretación debe valorarse sólo en componente infiltrante, dejando a un lado el componente in situ. En caso de reportarse por positividad dos cruces por IHQ, se debe estudiar la amplificación del Her2.

La discordancia en la expresión de los receptores hormonales (de estrógenos y de progesterona) y HER-2, en el cáncer de mama, entre el tumor primario y ganglios axilares metastásicos sincrónico puede presentar hasta en un 21%, lo que se traduce en un cambio en el tratamiento de acuerdo al estado hormonal de las metástasis ganglionares, ya que éstas pueden representar las células con potencial metastásico mejor que los carcinomas primarios, por lo cual se recomienda una biopsia rutinaria con determinación de RE, RP y HER2, junto con el tumor primario, para guiar la decisión del tratamiento de los pacientes con cáncer de mama invasivos primarios con metástasis ganglionares axilares sincrónicas ¹⁹.

La heterogeneidad del tumor en cáncer de mama es un factor importante que afecta el curso clínico, así de acuerdo con Las Guías de la Sociedad Estadounidense de Oncología (ASCO, American Society of Clinical Oncology), el Colegio Estadounidense de Patólogos y las guías de NCCN (National Comprehensive Cancer Network) recomiendan que el estado de receptores de estrógenos y de progesterona deben ser determinados en todos los cánceres invasivos primarios y en todas las recurrencias.

En el estudio retrospectivo de Lindstrom, se comparó el viraje de receptores hormonales (RE y RP) y HER2 neu entre el tumor primario y las recurrencias en 459, 430 y 104 pacientes respectivamente, encontró 32.4% (149/459, $P < 0.001$), 40.7% (175/430, $P < 0.001$), y 14.5% (15/104, $P = 0.44$) respectivamente. El estado hormonal (RE y RP) cambio de positivo en el tumor primario a negativo en la recurrencia en 24.6% y 33%; de negativo a positivo en un 7.8 y 7.7%. Los pacientes que tuvieron el viraje de receptores hormonales de positivos a negativos presentaron incremento del riesgo de muerte incluyendo riesgo de recaída local y sistémica (hazard ratio 1.48; 95% IC 1.08-2.05). Los autores demostraron que los pacientes con cáncer de mama experimentan alteraciones del estado hormonal y de HER2 secundario a la progresión del tumor que potencialmente cambian el tratamiento y la sobrevida²⁰.

Dieci y colaboradores en otro estudio retrospectivo evaluaron la discordancia de RE, RP y HER3 en el tumor primario y el recurrente en 119 pacientes. Encontraron viraje de RE en 13.4%, RP 39% y HER 2 11.8%; la pérdida y ganancia de RE+ se presentó en 13.8 % y 12% respectivamente; para RP 50% y 21.7%; HER 2 19% y 10.2%, éstos últimos recibieron tratamiento con trastuzumab. A los pacientes con ganancia de RE se les otorgó tratamiento endócrino. La sobrevida global media para los pacientes con viraje RE+ a RE- fue de 59 meses vs 130 meses para el grupo de RE+ ($P = 0.001$) sin diferencia significativa en términos de sobrevida post-recurrencia (survival postrecurrence) PRS $P = 0.07$. La discordancia en el estado de RP no influyó en la sobrevida global, ni en la PRS ($P = 0.8$ y 0.1 respectivamente). Los pacientes con pérdida de expresión tuvieron una disminución de la sobrevida post-recurrencia de 16 vs 88 meses ($P = 0.008$); y una sobrevida global de 40 vs 108 meses ($P = 0.06$) comparado con aquellos que mantuvieron HER2 +. Los pacientes que se viraron a un fenotipo triple negativo presentaron peor PRS (media 27 vs 51 meses, hazard ratio 4.35; 95%IC 2.07-9.15, $P < 0.0001$) y SG (media 59.3 vs 119.2 meses, hazard ratio 2.70; 95% IC 1.31-5.55, $P = 0.007$) cuando se comparó con el grupo concordante. Los autores demuestran que la discordancia en la expresión de receptores entre el tumor primario y el metastásico tiene un impacto pronóstico²¹.

En el análisis conjunto de dos grandes estudios prospectivos (The Canadian DESTINY study and The UK Breast Recurrent In Tissues Study UK BRITS) se encontró discordancia de RE en un 12.6%, RP 31.2% y HER 2 5.5%. En 14.2% (95%IC 10.44-18.85, $P \leq 0.0001$) se modificó el tratamiento inicial; el tiempo entre la recurrencia y el sitio no afectaron el porcentaje de discordancia²².

Niikura y col reporta en un estudio retrospectivo, 24% de discordancia de HER-2 en las recurrencias; la pérdida de positividad fue asociado a pacientes que recibieron quimioterapia; ésta asociación no se encontró en aquellos que fueron tratados con trastuzumab. Los pacientes que mostraron discordancia tuvieron una peor sobrevida²³.

Aurilio y col²⁴, realizaron un meta-análisis que incluyó 48 artículos sobre la discordancia entre el tumor primario y las metástasis; reportaron discordancia de 20% para RE, 33% en RP y de 8% para HER 2. La pérdida del receptor fue mayor que la ganancia tanto para receptores hormonales como para HER2; RE 24 vs 14%; RP 46% vs 15%; HER 2 13 vs 5%. Éstos hallazgos fortalecieron el concepto de que los cambios en la expresión de los receptores ocurre durante la historia natural del cáncer de mama, ya que la discordancia secundaria a una discrepancia técnica debía ser similar en todos los receptores, y disminuir con técnicas más objetivas y reproducibles como FISH, por el contrario ellos encontraron una discordancia de HER-2 de 10% en estudios que usaban IHQ y FISH, y de 5% en estudios que sólo utilizaron IHQ.

Con respecto a los estudios retrospectivos que analizan la discordancia de receptores hormonales y HER-2 entre el tumor primario y las metástasis ganglionares axilares sincrónicas tenemos el realizado por Aitken y colaboradores, quienes encuentran en 55 pacientes cambio del estado hormonal en RE en un 28.3%: RE+ a RE – en 31.8%; RE- a RE+ 28%. RP 23.4%: RP+ a RP- 35%; RP- a RP+ 15.2%. HER-2 8.9%: HER-2 + a HER-2 – 10.7%; HER-2 – a HER-2 + 8.9%. Pacientes triple negativo en tumor primario presentaron en los ganglios sincrónicos un 12.8% RE y RP + y 7.7% HER 2 +²⁵.

Iguchi y col, estudiaron la discordancia de RE entre tumor primario y ganglios metastásicos, encontraron discrepancia en un 24%; la expresión de RE en los ganglios tuvo menor influencia en el pronóstico que la expresión en el tumor primario correspondiente. La sobrevida fue mayor en tumores primarios con expresión RE + en comparación con los RE – (P=0.0086); no se encontró diferencia significativa al comparar ganglios metastásicos RE + vs RE-²⁶.

La discordancia en la expresión del receptor de estrógeno y el estado del receptor del factor 2 de crecimiento epidérmico humano entre el tumor primario y la recurrencia, puede explicarse tanto por factores biológicos, como por variaciones técnicas en el procesamiento de los tejidos. La contribución relativa de cada uno de estos factores a los resultados discordantes es desconocida.

Dentro de los factores biológicos, se han propuesto las siguientes teorías:

- a) Heterogeneidad intratumoral.
- b) Selección clonal

- c) Diferenciación del linaje de receptores de estrógenos en la célula madre durante el curso de la enfermedad.
- d) Cambios genómicos como mutaciones y alteraciones en la expresión de genes durante la evolución de la enfermedad.

Sofia Gruvberger y colaboradores, describieron mediante el estudio de microarreglos, que los perfiles de expresión génica de tumores ER + y ER – difieren en forma compleja, lo que sugiere la existencia de dos grupos fenotípicamente muy distintos. Por ejemplo tumores RE- sobre expresan P-cadherina, lipocalina 2, C/EPB beta, mientras que en tumores ER + se encuentra sobre-expresión de GATA3, TTF3, ciclina D1 y anhidrasa carbonica XII.

Para disminuir el sesgo o error atribuible al procesamiento técnico, el Consenso Mexicano sobre diagnóstico y tratamiento del cáncer mamario en su Sexta revisión realiza las siguientes recomendaciones ²⁷:

1. Manejo de tejido mamario neoplásico

- a) Se debe utilizar formol amortiguado al 10%.
- b) El tejido debe ser colocado lo más rápido posible en el fijador, máximo 30 minutos después de la cirugía.
- c) El tejido debe estar seccionado en cortes de 0.5 a 1.0 cm de espesor y en el caso de biopsia Trucut se recomienda incluirla máximo en 2 cápsulas, debido a la reconocida heterogeneidad del cáncer de mama en la expresión de marcadores.
- d) La relación entre el volumen de la muestra y el fijador debe ser de 20 a 1.
- e) Se recomienda la fijación mínima de 6 horas y máxima de 48 horas; para evitar la fijación prolongada es deseable que antes de alcanzar las 48 horas se cambie a solución amortiguadora.
- f) Está indicado determinar receptores hormonales, HER-2 neu en el tumor primario, tumor residual y metástasis. La evaluación de Ki67 para este consenso no se consideró necesaria; sin embargo, se puede realizar como protocolo de investigación.

2. Criterios de interpretación

- a) Los siguientes lineamientos disminuyen la probabilidad de interpretaciones equivocadas:
 - Se deben emplear clonas de anticuerpos validadas.
- I. Clonas para receptores de estrógeno: 1D5, 6F11, SP1, 1D5+ER.2.123.
- II. Clonas para receptores de progesterona: 1A6, 1294, 312.
- III. Clonas para HER-2: 4D5, CB11, A085.

- Siempre se deben revisar controles positivos y negativos. No debe haber tinción inespecífica ni en el control ni en el caso problema (por ejemplo, tejido sano positivo para HER-2 neu).
- Interpretar cada tinción sólo en muestras que tengan más de 50% de tejido bien conservado. El área mínima de tumor recomendado para la evaluación confiable de marcadores es equivalente a 2 cilindros de biopsia Tru-cut con al menos 60% de tejido neoplásico viable.

b) Los receptores de estrógeno (RE) y progesterona (RPr) son positivos cuando se expresan como tinción nuclear en más de 1% de las células neoplásicas.

Se sugieren los sistemas H-score y Allred, especificando porcentaje de células positivas.

- Sistema H-score:

% de células positivas x 3 (tinción nuclear intensa), más

% de células positivas x 2 (tinción nuclear moderada), más

% de células positivas x 1 (tinción nuclear débil).

El resultado es el índice H-score que va de 0 a 300.

- Sistema Allred:

Área positiva con más intensidad de la tinción calculada de la siguiente manera:

Área positiva:

0: Sin células positivas

1: < 1% de células positivas

2: 1 a 10% de células positivas

3: 11 a 33% de células positivas

4: 34 a 66% de células positivas

5: 67% o más de células positivas

Intensidad de la tinción: 1 - débil, 2 - moderada y 3 - intensa. El resultado es el índice Allred que va de 0 a 8.

c) Sobreexpresión de HER-2:

- Positivo (3+): Tinción de membrana intensa y uniforme en > 10% de células neoplásicas.
- Indeterminado (2+): Tinción de membrana completa y débil en > 10% de células neoplásicas.
- Negativo (0-1+): No se identifica tinción o ésta es débil e incompleta en al menos 10% de las células neoplásicas. En HER-2, la clasificación sólo aplica en carcinoma invasor, no para carcinoma in situ. Los casos que presenten positividad de HER-2 en conductos y lobulillos normales no son valorables y deben repetirse.

3. Formato de reporte

- El reporte de IHQ debe ser vinculado al reporte principal de patología para asegurar que los

resultados se incorporen al diagnóstico final.

- Para garantizar que los resultados sean reproducibles, el reporte debe incluir la clona, dilución y marca del anticuerpo, el estatus (positivo o negativo), así como los criterios y sistema utilizados.

4. Control de calidad rutinario

El control de calidad de rutina es esencial para el éxito de la reacción de IHQ.

- Se deben incluir controles positivo y negativo en la misma laminilla donde se analice el tejido problema. Si estos controles están en una laminilla separada, se debe asegurar que sean sometidos a procedimientos simultáneos e idénticos a la muestra problema.
- Los controles deben ser fijados y procesados de manera idéntica al tejido estudiado y sometidos al mismo protocolo de recuperación antigénica e inmunotinción.
- Para obtener una tinción adecuada, es necesario el uso de controles que tengan tres niveles de tinción (negativa, débil/moderada, intensa).

5. Control de calidad externo

- Los laboratorios de patología que realizan pruebas de IHQ deben participar en un programa de control de calidad externo.
- Se considera que para tener adecuado control de calidad en IHQ, es necesario que el laboratorio procese como mínimo las muestras de 200 casos por año.

7. Recomendaciones para biología molecular

Amplificación de HER-2

En la actualidad existen diferentes técnicas para identificar la amplificación del gen HER-2; la hibridación in situ fluorescente (FISH) se considera el estándar de oro. Otras variantes de la técnica son la hibridación in situ cromogénica (CISH) y la hibridación in situ con plata (SISH), técnicas que pueden ser sencillas (basándose solamente en la detección de HER-2) o duales (basándose en la relación de HER-2 y del centrómero del cromosoma 17).

Se debe buscar la amplificación de HER-2 en los casos que resulten indeterminados (positivo 2+) por IHQ. Se pueden emplear las técnicas de CISH o SISH siempre y cuando se haya realizado un proceso de validación de las mismas en paralelo con la técnica de FISH y se haya demostrado una concordancia de al menos 95% entre la FISH y la otra metodología.

Criterios de interpretación de las reacciones de hibridación para HER-2:

I. Los siguientes lineamientos disminuyen la probabilidad de errores en la interpretación:

- a. En el corte del tumor con H-E se debe seleccionar la zona de carcinoma invasor; el estudio no se realizará en áreas de carcinoma in situ.
- b. Inicialmente se evalúa el control, si no es adecuado, se debe repetir la prueba.
- c. Se debe contar un mínimo de 20 células neoplásicas para SISH o CISH y 40 para FISH en al menos dos campos diferentes de carcinoma invasor. En caso de haber áreas con y sin amplificación se deben contar por separado. Se debe informar como amplificado con una nota que especifique que hay zonas sin amplificación.

II. Puntos de corte para FISH y SISH dual:

- Positivo: Razón HER-2/CEP 17 > 2.0
- HER-2/CEP 17 < 2 pero con una cuenta absoluta de HER-2 por núcleo > 6 .
- Indeterminado: Razón HER-2/CEP 17 < 2 y con una cuenta absoluta de HER-2 por núcleo ≥ 4 y < 6 .
- Negativo: Razón HER-2/CEP 17 < 2 y una cuenta absoluta < 4 .

III. Puntos de corte para CISH sencilla:

- Positivo: > 6 copias/núcleo.
- Indeterminado: De 4 a 6 copias/núcleo (en dos conteos).
- Negativo: < 4 copias/núcleo.

2. JUSTIFICACIÓN

La evaluación de los receptores hormonales, de proliferación celular y Her2-neu es fundamental en el cáncer de mama primario y en el metastásico, ya que de esto depende otorgar o no una terapia hormonal, y también sirven de marcadores de valor pronóstico.

Aunque las guías de la Sociedad Estadounidense de Oncología (ASCO, *American Society of Clinical Oncology*) y el Colegio Estadounidense de Patólogos, recomiendan que el estado de receptores estrogénicos y progesterona deben ser determinados en todos los cánceres invasivos primarios y en todas las recurrencias, no es una práctica común en la mayoría de los centros oncológicos, aún menos la determinación en los ganglios axilares sincrónicos metastásicos.

En nuestro hospital, determinación de receptores hormonales y HER 2 se realiza de forma habitual en el tumor primario, no así, en las metástasis ganglionares sincrónicas, por lo que desconocemos cual es el porcentaje de concordancia en la expresión de receptores entre ambos tejidos en nuestra población.

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

La determinación de receptores en tejido metastásico axilar no se realiza de forma rutinaria en nuestro hospital, por lo que se desconoce cuál es la concordancia en la expresión respecto al tumor primario en pacientes con cáncer de mama.

4. PREGUNTA CIENTÍFICA.

¿Existe concordancia entre la expresión de receptores hormonales y Her2-neu entre el tumor primario y los ganglios axilares metastásicos sincrónicos en las pacientes con cáncer de mama atendidas en el servicio de Tumores de Mama en el Hospital de Oncología del IMSS Centro Médico Nacional Siglo XXI, en el periodo comprendido del 1 de Enero del 2013 al 31 de Diciembre del 2014?

5. HIPÓTESIS.

Existe diferencia entre la expresión-de los receptores hormonales de estrógeno, progesterona y la expresión de HER 2 en el tumor primario y en los ganglios axilares metastásicos sincrónicos, en pacientes con cáncer de mama.

6. OBJETIVOS.

6.1 OBJETIVO GENERAL.

Identificar si existe diferencia entre el estado de los receptores hormonales y la sobreexpresión del HER 2 del tumor primario y las metástasis ganglionares axilares ipsilaterales sincrónicas en pacientes con cáncer de mama del HO CMN SXXI.

6.2 ESPECÍFICOS.

- 1.- Conocer el porcentaje de cáncer de mama con enfermedad ganglionar axilar metastásica sincrónica, en el servicio de Tumores de Mama en el Hospital de Oncología del IMSS Centro Médico Nacional Siglo XXI en el período del estudio.
- 2.- Determinar los tipos histológicos y moleculares más frecuentes de cáncer de mama con actividad ganglionar metastásica axilar sincrónica en el servicio de Tumores de Mama en el Hospital de Oncología del IMSS Centro Médico Nacional Siglo XXI en el periodo del estudio.
3. Conocer la proporción por estadio del cáncer de mama en el servicio de Tumores de Mama en el Hospital de Oncología del IMSS Centro Médico Nacional Siglo XXI en el período del estudio.
- 4.-Conocer las características demográficas de las pacientes con cáncer de mama con actividad ganglionar metastásica axilar sincrónica en el servicio de Tumores de Mama en el Hospital de Oncología del IMSS Centro Médico Nacional Siglo XXI en el período de estudio.
5. Caracterizar la expresión de los receptores hormonales de estrógeno, progesterona y de HER 2 en el tumor primario de pacientes con cáncer de mama con metástasis ganglionares axilares sincrónicas tratadas en nuestra unidad en el período de estudio.
6. Caracterizar la expresión de receptores hormonales de estrógeno, progesterona y de HER 2 en los ganglios axilares metastásicos sincrónicos en pacientes con cáncer de mama tratadas en nuestra unidad en el período de estudio.
7. Analizar la concordancia en la expresión de receptores hormonales de estrógeno, progesterona y de HER 2 entre el tumor primario y las metástasis ganglionares en pacientes con cáncer de mama en nuestra unidad en el período de estudio, para identificar aquellos casos positivos en el tumor primario y para la metástasis ganglionar (+/+), positivo en el tumor primario y negativo en la metástasis (+/-), negativo en ambos (-/-), y negativo en el primario y positivo en la metástasis (-/+).
8. Obtener el porcentaje de pacientes con cambio (o discordancia) en la expresión de los receptores hormonales.

7. MATERIAL Y MÉTODOS.

7.1 Diseño del estudio.

Estudio observacional, analítico, transversal y unicéntrico.

7.2 Ubicación espacio y tiempo.

El estudio se realizó en el servicio de Tumores de Mama en el Hospital de Oncología del IMSS Centro Médico Nacional Siglo XXI.

Se incluyeron en forma retrospectiva aquellas pacientes con diagnóstico de cáncer de mama con etapas clínicas I a III que fueron tratadas con cirugía sin quimioterapia neoadyuvante entre el 1 de Enero del 2013 al 31 de Diciembre del 2014.

7.3 Estrategia de trabajo.

Se llevó a cabo la identificación de pacientes con diagnóstico de cáncer de mama en etapas clínicas I a III que fueron tratadas en el Hospital de Oncología en el periodo de Enero del 2013 a Diciembre del 2014, una vez identificados, se revisaron los expedientes encontrados y en la hoja de registro se recopilaron el estadio clínico de acuerdo a la clasificación TNM, se consignó el estado de los receptores hormonales y de la expresión de Her 2 en los tumores primarios.

En todos los casos, se realizó una nueva determinación de receptores mediante el proceso de inmunohistoquímica del tumor primario, paralelo a la determinación de la expresión en ganglios metastásicos sincrónicos obteniendo los porcentajes de variabilidad.

La expresión de receptores se evaluó mediante estudio de inmunohistoquímica, clasificándose el resultado como positivo/negativo, tanto para el tumor primario como para las metástasis axilares sincrónicas.

Además se realizó determinación de Her -2 con CISH y se compararon los resultados obtenidos con inmunohistoquímica; se comparó la discordancia de expresión de receptores determinado con métodos diferentes de inmunohistoquímica (manual vs automatizado con un equipo de Ventana) para un mismo tejido (tumor primario). Con base en estos resultados se evaluó mediante tablas cruzadas y cálculo de índice kappa

Inmunohistoquímica (IHQ)

Se realizaron cortes histológicos a 4 µm de espesor con el micrótopo Leica y se colocaron sobre laminillas electrocargadas. Se realizó inmunohistoquímica con los anticuerpos CONFIRM anti-Estrogen Receptor (ER) (SP1) Rabbit Monoclonal Primary Antibody, CONFIRM anti-Progesterone Receptor (PR) (1E2) Rabbit Monoclonal Primary Antibody, PATHWAY anti-HER-2/neu (4B5) Rabbit Monoclonal Primary Antibody, (Ventana Medical System Inc.) utilizando el sistema automatizado Benchmarck Autostainer™ (Ventana Medical System Inc.). La reacción se desarrolló usando el Kit de tinción UltraView Universal DAB Kit de detección (Ventana Medical System Inc.) siguiendo las instrucciones del fabricante. Todas las reacciones fueron contrastadas con hematoxilina, deshidratadas y montadas con resina sintética.

Los resultados se interpretaron de acuerdo a las guías internacionales actualizadas de la ASCO/CAP para receptores hormonales y HER2^{28,29}.

Hibridación in situ cromogénica dual

Se realizó hibridación in situ cromogénica dual para buscar la amplificación de HER-2 en todos los casos, utilizando el sistema automatizado Benchmarck^R (Ventana Medical System Inc.). La reacción se desarrolló usando la sonda INFORM HER2 Dual ISH DNA Probe Cocktail y los Kits de tinción ultraView SISH DNP Detection Kit y ultraView Red ISH DIG Detection Kit (Ventana Medical System Inc.), y reactivos accesorios en módulos de tinción automatizados VENTANA. Los resultados se interpretaron de acuerdo a la guía Interpretation *Guide VENTANA INFORM HER2 Dual ISH DNA Probe Cocktail Assay*.



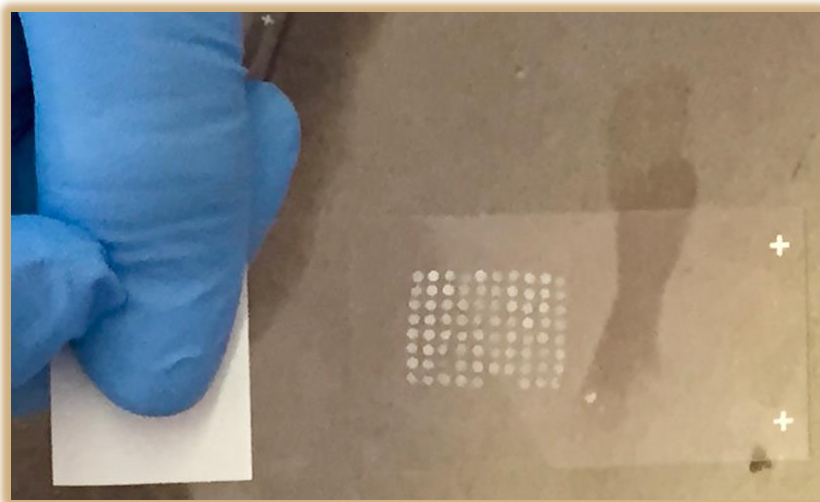
Fotografía 1. Sistema automatizado Benchmarck Autostainer™ (Ventana Medical System Inc.).



Fotografía 2. Kit de tinción UltraView Universal DAB Kit de detección (Ventana Medical System Inc.)



Fotografía 3. Kit de tinción UltraView Universal DAB Kit de detección (Ventana Medical System Inc.)



Fotografía 4. Laminilla



Fotografía 5. Laminillas

7.4 Marco Muestral.

7.4.1. Población fuente.

Pacientes del Hospital de Oncología del IMSS Centro Médico Nacional Siglo XXI con diagnóstico de cáncer de mama corroborado por histología, con etapas clínicas I a III, tratadas quirúrgicamente en servicio Tumores de mama.

7.4.2. Población elegida.

Pacientes del Hospital de Oncología del IMSS Centro Médico Nacional Siglo XXI con diagnóstico de cáncer de mama corroborado por histología, atendidas durante el período del estudio, que cumplieron los criterios de selección.

7.4.3 Criterios de selección.

7.4.3.1 Criterios de inclusión.

Pacientes de sexo femenino, mayores de 18 años de edad, con diagnóstico de cáncer de mama corroborado por estudio histopatológico tratadas quirúrgicamente en servicio de Tumores de mama en Hospital de Oncología del IMSS Centro Médico Nacional Siglo XXI, con determinación de receptores hormonales y Her2-neu del tumor primario y los ganglios axilares metastásicos sincrónicos, en el período de Enero del 2013 a Diciembre del 2014.

7.4.3.2 Criterios de exclusión.

Pacientes con muestra insuficiente para realizar la determinación de la expresión molecular, o en quienes el resultado no sea concluyente.

Pacientes que presentaron diagnóstico final distinto al estudiado.

Pacientes tratadas con quimioterapia neoadyuvante

7.4.3.3 Criterios de eliminación.

Expedientes clínicos incompletos o extraviados.

Pacientes que no contaran con bloques de parafina y laminillas del tumor y ganglios axilares metastásicos

7.5 Diseño y tipo de muestreo.

Muestreo por conveniencia, no probabilístico.

7.6 Tamaño de la muestra.

Conveniente al investigador, para término del trabajo en el período establecido del 1 de Enero del 2013 al 31 de Diciembre del 2014.

En base a los resultados reportados por Negergard, (quién reporta una discordancia de 21%), se calculó el tamaño de muestra utilizando la fórmula para estimación de una proporción, obteniendo que, para una proporción esperada de 21%, con una confianza de 95% ($Z\alpha = 1.96$) y un error de 8% (precisión), será necesaria la inclusión de por lo menos 51 pacientes³⁰.

$$n = \frac{Z_{\alpha} \times p_0 \times q_0}{d^2}$$

$$Z\alpha = 1.96$$

$$p_0 = 0.21$$

$$q_0 = 0.79$$

$$d^2 = (0.08)^2 = (0.0064)$$

$$N = \frac{(1.96) \times (0.21) \times (0.79)}{(0.0064)} = \frac{0.3251}{(0.0064)} = 50.8$$

7.7 Variables y escala de medición.

| DETERMINANTES | VARIABLE | TIPO | ESCALA | UNIDAD DE MEDICIÓN | EQUIPO |
|--|---|----------------------------|------------|---------------------------------|---------------------|
| Edad | Edad | Independiente Cuantitativa | Discreta | Años | Hoja de recolección |
| Estadio clínico y patológico. | IB IIA IIB IIIA IIIB IIIC | Independiente Cualitativa | Ordinal | Porcentaje. | Hoja de recolección |
| Tipo histológico | Carcinoma ductal infiltrante Carcinoma lobulillar infiltrante Mixto | Cualitativa | Nominal | Porcentaje | Hoja de recolección |
| Receptores hormonales (estrógenos y progesterona) En tumor primario y ganglios axilares metastásicos sincrónicos. | Receptor Estrógeno Receptor Progesterona | Cualitativa | Dicotómica | Positivo/Negativo | Hoja de recolección |
| Expresión de Her2-neu (IHQ) En tumor primario y ganglios axilares metastásicos sincrónicos. | Her2-neu | Cualitativa | Nominal | Positivo/Negativo/Indeterminado | Hoja de recolección |
| Expresión de Her2-neu (CISH) Tumor primario y Ganglios axilares metastásicos sincrónicos. | Her2-neu | Cualitativa | Nominal | Positivo/Negativo/Indeterminado | Hoja de recolección |

7.8 Método de recolección de datos.

A través de la hoja de recolección de datos.

7.9 Análisis de datos.

Estadística descriptiva e inferencial, con software estadístico SPSS Versión 22. Para las variables demográficas se calcularon medidas de tendencia central y de resumen. Para el análisis de la concordancia se realizó estudio con Chi² de Pearson y en caso de considerarlo necesario ajuste con Prueba exacta de Fisher.

La relación de ER, PR o HER-2 entre los tumores primarios y los ganglios linfáticos metastásicos emparejados se expresó en porcentaje de concordancia; y la variabilidad entre los métodos diferentes (inmunohistoquímica manual vs equipo de Ventana e inmunohistoquímica vs CISH) para tejido de tumor primario se expresó con el coeficiente de Cohen κ . La relación entre el valor kappa y la fuerza de concordancia es la siguiente: con valores de 0,00-0,20 (pobre) ; 0,21 a 0,40 (débil) ; 0,41-0,60 (moderada); 0,61 a 0,80 (buena); y 0,81 a 1,00 (muy buena).

Los cálculos se realizaron con SPSS 22 (SPSS, Inc., Chicago, IL, EE.UU.).

8. LOGÍSTICA

8.1 Recursos humanos.

Investigador principal.

Asesores expertos

8.2 Recursos materiales.

Expedientes clínicos

Material bibliográfico recopilado

Hojas de recolección de datos

Papelería, computadora, impresora, paquete para análisis estadístico

8.3 Recursos financieros.

Recursos propios del investigador principal

Recursos del Hospital de Oncología Centro Médico Nacional Siglo XXI

Recursos del laboratorio de Oncología Molecular de la Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Oncológicas

8.4 Consideraciones éticas.

El estudio se realizó en apego a las guías vigentes de práctica clínica y a la legislación nacional e internacional vigente en materia de investigación en salud, por tratarse de un estudio descriptivo, observacional, con riesgo menor al mínimo, no requiere de consentimiento informado. Todos los datos se manejaron de forma confidencial. El estudio molecular se realizó en los bloques de tejidos que se encuentran en la unidad de patología.

9. RESULTADOS

En el período comprendido de Enero del 2013 a Diciembre del 2014, se revisaron 1093 expedientes, se identificaron un total de 58 pacientes del género femenino, con diagnóstico de Cáncer de mama con metástasis ganglionares sincrónicas, tratadas con cirugía en el servicio de Tumores de mama del Hospital de Oncología de CMN SXXI, de las cuáles, 12 no contaron con laminillas disponibles para procesamiento, quedando una muestra de 46 casos, con las siguientes características:

TABLA 1. CARACTERÍSTICAS DE PACIENTES

| | Grupo | N | % |
|---|-----------------|----|--------|
| Edad (años) Promedio 53.13 a Rango 31 – 82 a | | | |
| | <40 | 4 | 8.69% |
| | 41-50 | 22 | 47.82% |
| | 51-60 | 7 | 15.24% |
| | 61-70 | 8 | 17.39% |
| | >70 | 5 | 10.86% |
| pTNM | | | |
| | IIA | 6 | 13.04% |
| | IIB | 19 | 41.3% |
| | IIIA | 7 | 15.2% |
| | IIIB | 0 | 0 |
| | IIIC | 14 | 30.43% |
| Grado histológico | | | |
| | GI | 1 | 2.17% |
| | GII | 24 | 52.17% |
| | GIII | 21 | 45.65% |
| Tipo Histológico | | | |
| | Ductal | 39 | 84.78% |
| | Lobulillar | 4 | 8.69% |
| | Mixto | 1 | 2.17% |
| | Apócrino | 1 | 2.17% |
| | Micropapilar | 1 | 2.17% |
| Subtipo Molecular | | | |
| | Luminal A | 22 | 47.82% |
| | Luminal B | 18 | 39.13% |
| | HER 2 | 2 | 4.34% |
| | Triple negativo | 4 | 8.69% |

En los 46 casos se realizó determinación de la expresión de receptores de estrógenos, progesterona, HER-2 y además amplificación con CISH, tanto en el tumor primario, como en el tejido ganglionar.

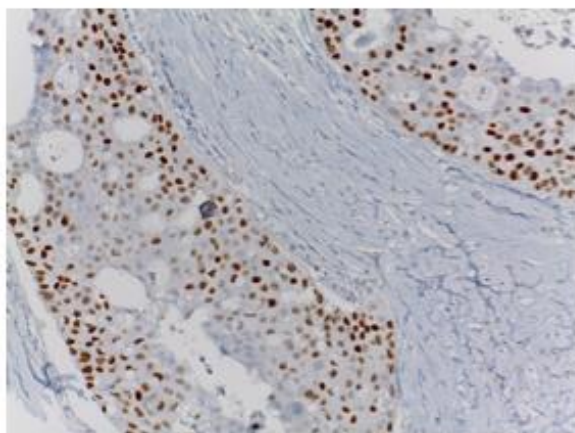
TABLA 2. RECEPTORES DE ESTRÓGENOS (RE)

| Receptores Estrógenos | Tumor | Ganglio |
|-----------------------------|------------|------------|
| Positivo | 39 (84.8%) | 35 (76.1%) |
| Negativo | 7 (15.2%) | 9 (19.6%) |
| Muestra no valorable | 0 | 2 (4.3%) |
| Total | 46 (100%) | 46 (100%) |

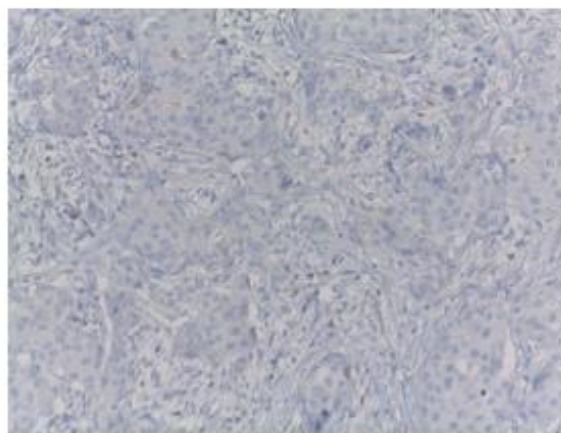
Se analizó la concordancia de la expresión, encontrando 39 casos (88.63%) sin cambio, y una discordancia del 11.36%, con ganancia de receptor en la metástasis de 2.27%.

TABLA 3. CONCORDANCIA RE

| Tumor/ Ganglio | +/+ | +/- | -/+ | -/- |
|-------------------|--------|-------|-------|--------|
| | 34 | 4 | 1 | 5 |
| % | 77.27% | 9.09% | 2.27% | 11.36% |



A. Tumor primario con RE positivo.



B. Ganglio sincrónico con RE negativo.

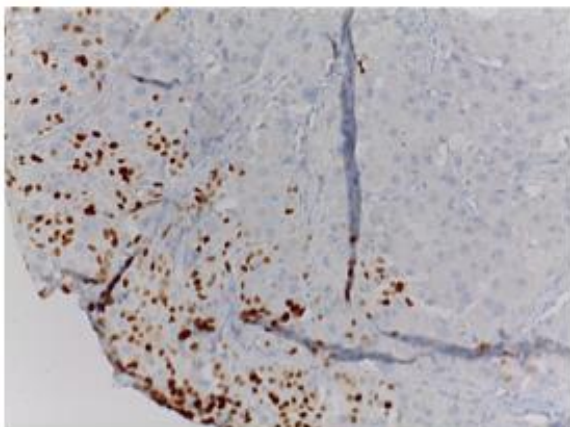
TABLA 4. RECEPTORES DE PROGESTERONA (RP)

| Receptores Progesterona | Tumor | Ganglio |
|-----------------------------|------------|------------|
| Positivo | 33 (71.7%) | 30 (65.2%) |
| Negativo | 13 (28.3%) | 14 (30.4%) |
| Muestra no valorable | 0 | 2 (4.3%) |
| Total | 46 (100%) | 46 (100%) |

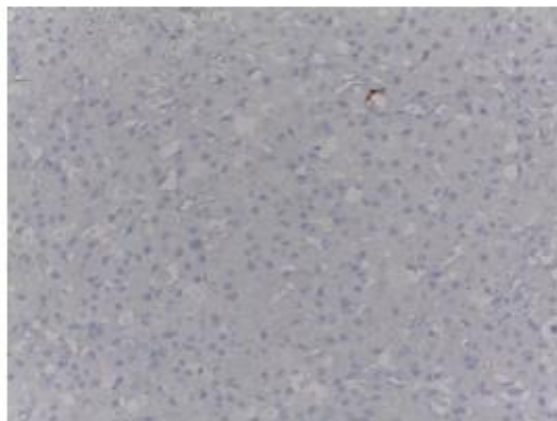
Se analizó la concordancia de la expresión, encontrando 38 casos (86.35%) sin cambio, y una discordancia de 13.63%, con ganancia de receptor en la metástasis de 4.54%.

TABLA 5. CONCORDANCIA RP

| Tumor/ Ganglio | + / + | + / - | - / + | - / - |
|-------------------|--------|-------|-------|--------|
| | 28 | 4 | 2 | 10 |
| % | 63.63% | 9.09% | 4.54% | 22.72% |



A. Tumor primario con RP positivo.



B. Ganglio sincrónico con RP negativo.

TABLA 6. RECEPTORES HER-2

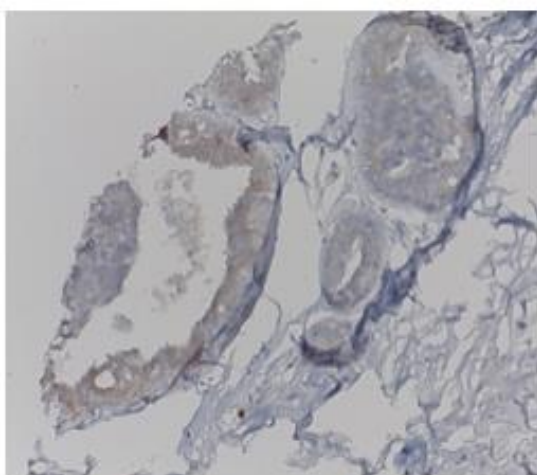
| HER 2 | Tumor | Ganglio |
|-----------------------------|------------|------------|
| Positivo | 20 (43.5%) | 18 (39.1%) |
| Negativo | 26 (56.5%) | 24 (52.2%) |
| Indeterminado (2+) | 0 | 2 (4.3%) |
| Muestra no valorable | 0 | 2 (4.3%) |
| Total | 46 (100%) | 46 (100%) |

Se analizó la concordancia de la expresión, encontrando, 39 casos (88.63%) sin cambios, con una discordancia de 11.35 %, con ganancia del receptor en la metástasis un 2.27%.

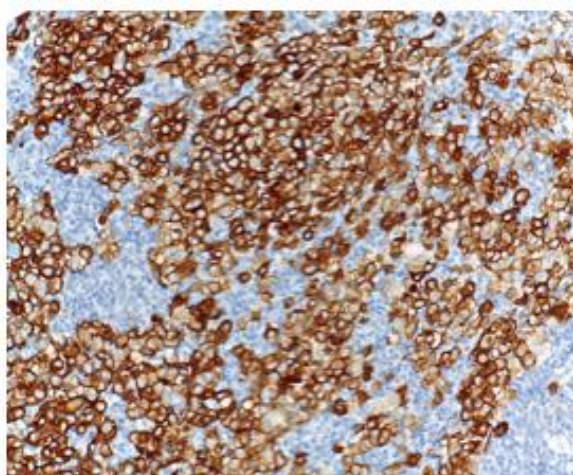
TABLA 7. CONCORDANCIA HER -2 POR IHQ

| Tumor/Ganglio | + / + | + / - | - / + | - / - | - / Indeterminado |
|----------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------------------|
| | 17 | 2 | 1 | 22 | 2 |
| % | 38.63% | 4.54% | 2.27% | 50% | 4.54% |

Se realizó además determinación de la expresión de HER-2 mediante amplificación con CISH, tanto en tumor como en ganglio:



A. Tumor primario con HER-2 negativo.



B. Ganglio sincrónico con HER-2 positivo.

TABLA 8. CISH

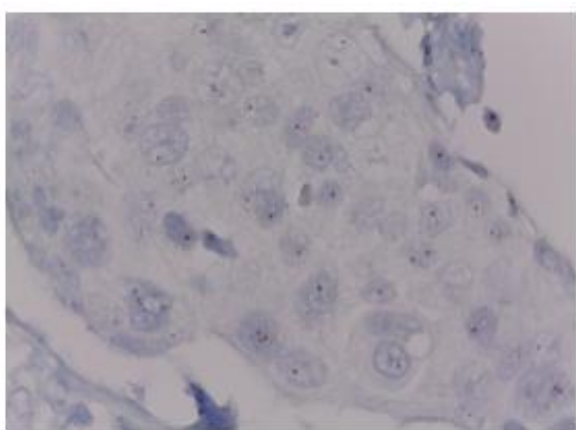
| CISH | Tumor | Ganglio |
|-----------------------------|--------------|----------------|
| Positivo | 18 (39.1%) | 22 (47.8%) |
| Negativo | 23 (50%) | 20 (43.5%) |
| Muestra no valorable | 5 (10.9%) | 4 (8.7%) |
| Total | 46 (100%) | 46 (100%) |

Se analizó la concordancia de la expresión, encontrando 30 casos (81.08%) sin cambios, discordancia en un 18.91%; ganancia de receptor en un 16.21%.

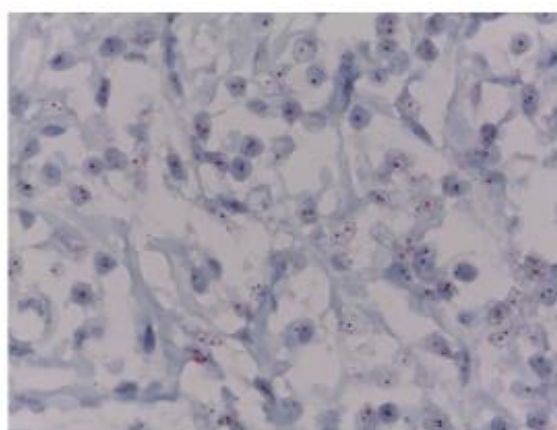
TABLA 9. CONCORDANCIA DE HER-2 POR CISH

| Tumor/Ganglio | + / + | + / - | - / + | - / - |
|---------------|--------|-------|--------|--------|
| | 16 | 1 | 6 | 14 |
| % | 43.24% | 2.70% | 16.21% | 37.83% |

Se comparó así mismo la expresión de HER 2 con inmunohistoquímica (IHQ) con equipo de Ventana , contra la amplificación con CISH, tanto en tumor como en ganglio, para analizar la concordancia entre ambos métodos:



A. Tumor primario con HER-2 negativo determinado por CISH.



B. Ganglio sincrónico con HER-2 positivo determinado por CISH.

TABLA 10. CONCORDANCIA EN TUMOR POR DIFERENTES MÉTODOS

| HER 2 IHQ/CISH | + / + | + / - | - / + | - / - | Kappa |
|-------------------|--------|-------|-------|--------|-------|
| | 17 | 3 | 1 | 20 | 0.804 |
| % | 41.46% | 7.31% | 2.43% | 48.78% | |

Encontrando concordancia en 37 casos (90.24%), con un índice kappa de 0.804, en el caso de las muestras provenientes del tumor primario.

En el caso de las muestras provenientes de ganglio sincrónico, se obtuvieron los siguientes resultados:

TABLA 11. CONCORDANCIA EN GANGLIO POR DIFERENTES MÉTODOS.

| HER 2 IHQ/CISH | +/+ | +/- | -/+ | -/- | IND/- | Kappa |
|-------------------|--------|-------|--------|--------|-------|-------|
| | 17 | 1 | 5 | 17 | 2 | 0.638 |
| % | 40.47% | 2.38% | 11.90% | 40.47% | 4.76% | |

Con una concordancia de 34 casos (80.95%) y un índice kappa de 0.638.

Se comparó así mismo, el reporte de inmunohistoquímica manual del tumor primario (otorgado por el servicio de patología del Hospital de Oncología del CMNSXXI), con los resultados obtenidos mediante el método de ventana, encontrando lo siguiente:

TABLA 12. IHQ MANUAL / EQUIPO DE VENTANA (RE)

| Receptores Estrógenos (tumor) | Equipo de Ventana | Inmunohistoquímica manual |
|----------------------------------|-------------------|------------------------------|
| Positivo | 39 (84.8%) | 35 (76.1%) |
| Negativo | 7 (15.2%) | 6 (13%) |
| Sin reporte | 0 | 5 (10.9%) |
| Total | 46 (100%) | 46 (100%) |

Se analizó la concordancia de la expresión encontrando, 39 casos (95.11%) sin cambios, con un índice Kappa de 0.805 ($p < 0.01$).

TABLA 13. CONCORDANCIA DE RE EN TUMOR POR DIFERENTES MÉTODOS

| Ventana/Inmunohistoquímica manual. | +/+ | +/- | -/+ | -/- | Kappa |
|---------------------------------------|-------|------|------|-------|-------|
| | 34 | 1 | 1 | 5 | 0.805 |
| % | 82.92 | 2.43 | 2.43 | 12.19 | |

TABLA 14. IHQ MANUAL / EQUIPO DE VENTANA (RP)

| Receptores Progesterona (tumor) | Equipo de ventana. | Inmunohistoquímica. |
|------------------------------------|--------------------|---------------------|
| Positivo | 33 (71.7%) | 33 (71.7%) |
| Negativo | 13 (28.3%) | 9 (19.6%) |
| Sin reporte | 0 | 4 (8.7%) |
| Total | 46 (100%) | 46 (100%) |

Se analizó la concordancia de la expresión, encontrando, 38 casos (90.46%) sin cambios, con un índice Kappa de 0.738 ($p < 0.01$).

TABLA 15. CONCORDANCIA DE RP EN TUMOR POR DIFERENTES MÉTODOS

| Ventana/Inmunohistoquímica manual | + / + | + / - | - / + | - / - | Kappa |
|--|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| | 30 | 1 | 3 | 8 | 0.738 |
| % | 71.42% | 2.38% | 7.14% | 19.04% | |

TABLA 16. IHQ MANUAL/ EQUIPO DE VENTANA (HER-2)

| HER 2 | Equipo de ventana. | Inmunohistoquímica |
|-----------------------------|---------------------------|---------------------------|
| Positivo | 20 (43.5%) | 13 (28.3%) |
| Negativo | 26 (56.5%) | 24 (52.2%) |
| Indeterminado (2+) | 0 | 5 (10.9%) |
| Muestra no valorable | 0 | 4 (8.7%) |
| Total | 46 (100%) | 46 (100%) |

Se analizó la concordancia de la expresión, encontrando, 31 casos (73.79%) sin cambios, con un índice Kappa de 0.521 ($p < 0.01$).

TABLA 17. CONCORDANCIA HER-2 EN TUMOR POR DIFERENTES MÉTODOS.

| HER 2 | + / + | + / - | - / + | - / - | + / Indeter | - / Indeter | Kappa |
|--|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------------|--------------------|--------------|
| Tumor (Ventana/ Inmunohistoquímica) | 11 | 4 | 2 | 20 | 4 | 1 | 0.521 |
| % | 26.19 | 9.52 | 4.76 | 47.6 | 9.52 | 2.38 | |

También se comparó el reporte de inmunohistoquímica manual, contra la amplificación con CISH, encontrando:

TABLA 18. IHQ MANUAL/ EQUIPO DE VENTANA (CISH)

| | | CISH Amplificación | CISH No amplificación |
|---------------------------|-------------|-------------------------------|----------------------------------|
| Inmunohistoquímica | | | |
| Negativo | 19 (51.35%) | 4 (10.8%) | 15 (40.5%) |
| Indeterminado (2+) | 5 (13.51%) | 3 (8.1%) | 2 (5.4%) |
| Positivo | 13 (35.13%) | 10 (27.0%) | 3 (8.1%) |
| Total | 37 (100%) | 17 (45.9%) | 20 (54.1%) |

Es decir, de los casos reportados como negativos en la inmunohistoquímica (19), 15 no tuvieron amplificación con la técnica de CISH (78.94%).

De los clasificados como positivos (13), 10 tuvieron amplificación con CISH (76.92%).

De los 5 casos indeterminados, 3 presentaron amplificación (60%) con la técnica de CISH y 2 no la presentaron (40%).

Lo anterior se traduce en una concordancia de 78.12% (en aquellos casos en los que se reporta como positivo/negativo); si tomamos en cuenta los reportes indeterminados, esta concordancia es solo de 67.62%, con un índice kappa de 0.422 ($p < 0.001$).

10. DISCUSIÓN.

Las características epidemiológicas de la muestra fueron similares en estudios previos en nuestro país. El promedio de edad fue de 53 años con un rango de 31-82 años. Comparado con los Estados Unidos de América (EUA), Canadá y algunos países de Europa, donde el promedio está alrededor de los 60 años, las mexicanas se diagnostican casi una década menor.

La mayoría de las pacientes estuvieron etapificadas en una fase II B (41%) y III C (30%), considerando que se incluyeron solo pacientes con metástasis sincrónicas ganglionares y se excluyeron aquellas con etapa clínica IV. Encontramos que en la etapa II fue más frecuente que la III (54.34 % vs 45.65%), y que dentro de la etapa clínica III, la IIIC tuvo mayor porcentaje.

El grado histológico del carcinoma ductal infiltrante, con excepción del medular se graduaron con el esquema de Scarff-Bloom-Richardson; y el carcinoma lobulillar con la escala de SBR modificada. El grado histológico II fue el más frecuente, seguido del III, en un 52 y 45% respectivamente.

En población mexicana la frecuencia en promedio de subtipos moleculares de cáncer de mama y su aproximación por inmunohistoquímica de RE, RP y HER-2 es la siguiente: Receptores hormonales positivos 56.5%, HER 2 positivos 20.4% y triples negativos 23.1%^{31, 32}.

Específicamente en el Hospital de Oncología de CMN SXXI encontramos por subtipo molecular, de acuerdo al Consenso de Colima 2015 menor porcentaje de HER-2 (4.3 %), menor frecuencia de triples negativos (8.69%), luminal A y luminal B (47.8 y 39.13% respectivamente).

El 85% de los tumores fueron carcinomas ductal infiltrante; el 85% de los tumores expresaron receptores de estrógenos, 72% de progesterona y 43% Her-2. En un reciente estudio chino reportan expresión de receptores en el tumor de mama 43.9% para RE, 46.7% para RP y 34.6% para HER-2³³.

En nuestro estudio la expresión de receptores de las metástasis linfáticas sincrónicas fue de 76% para RE, 65% para progesterona y 39% para Her-2. Se realizó nuevamente la determinación de receptores hormonales con método de inmunohistoquímica automatizado tanto en el tumor primario como en la metástasis ganglionar, con el objetivo de disminuir el porcentaje de

discrepancia técnica entre métodos y entre observadores, fortaleciendo la teoría de heterogeneidad tumoral; además para la determinación de HER2 se realizó tanto la IHQ como CISH en sistema de Ventana, ya que en estudios previos se ha sugerido que la variabilidad de la prueba de IHQ, incluyendo diferentes tipos de fijación, los diferentes métodos de recuperación antigénica y subjetividad del observador pueden alterar los resultados.

La discordancia que encontramos entre el tumor y las metástasis sincrónicas para receptores de estrógeno de 11.36; HER 2 fue de 11.35% y para RP de 13.63% . Lo reportado en la literatura varia para RE desde un 8.8% hasta un 28.3 %; para RP de un 17.8 a un 23.4%; y para HER-2 de un 8.9 a un 25.53%.

Consideramos que la heterogeneidad de la expresión entre el tumor primario y el ganglio metastásico sincrónico por biología tumoral se argumenta, ya que la discrepancia no es la misma para todos los receptores y la prevalencia de conversión negativa supera en número a la conversión positiva, si se tratara de razones técnicas, se esperaría un porcentaje similar para ambos escenarios.

Al compararlo con otras publicaciones encontramos lo siguiente:

| ESTUDIO | NO. DE PACIENTES | %VIRAJE RE | +/- -/+ | %VIRAJE RP | +/- -/+ | %VIRAJE HER 2 | +/- -/+ |
|------------------------------------|--|------------|------------------------|------------|----------------|---------------|----------------|
| Nedergaard et al. Dinamarca (1995) | 101 RE | 21% | 18p (33%) 3p (6.5%) | | | | |
| Aitken et al. Inglaterra (2009) | 385 p 39 TN 23% TN; VIRÓ: 12.5%- RH+; 7.7 % HER-2 + | 28.3% | 31.8% 28% | 23.4% | 35% 15.2% | 8.9% | 10.7% 8.9% |
| Wang et. al China, (2009) | 47 p | | | | | 25.53% | 38.9% 17.2% |
| Jin et. al China (2013) | Ganancia de RE y RP 5.4% | | - 14.3% | | - 3.6% | | |
| Tian et.al China (2012) | 80 p | 8.8% | - 10.9% | | | 11.3% | |
| Min Hua Li et.al China (2016) | 107p | 22.4% | 15.88% 6.54% | 17.8% | 11.2% 6.54% | 15.9 | 8.4% 7.47% |

Cuando se analizó la concordancia según la determinación de HER -2 mediante hibridación cromogénica in situ (CISH) encontramos una discordancia entre tumor y metástasis mayor (19%), con un índice de kappa de 0.627 ($p<0.01$). Comparándolo con los resultados con la determinación de HER -2 con IHQ en donde sólo en un caso se encontró ganancia de expresión en el ganglio metastásico, cuando se evaluó con CISH se hallaron 6 casos con ganancia de HER-2 en los nódulos sincrónicos. No tenemos algún parámetro comparativo en la literatura revisada.

Se comparó la concordancia entre inmunohistoquímica con equipo de ventana y CISH tanto en el tumor como en el ganglio, encontramos índices de kappa con una fuerza de concordancia muy buena en el tumor 90.24% ($k=0.804$) y menor en el ganglio 80.95% ($k=0.638$). En un estudio mexicano realizado por Valencia et.al reportaron una concordancia del 94% entre IHQ y CISH ³⁴.

Al analizar la variabilidad entre observadores en los reportes de inmunohistoquímica manual y el método de ventana en la expresión de receptores en el tumor, encontramos una concordancia alta del 95.12% para RE, con índice de Kappa de 0.805 ($p<0.01$); RP 90.47% de concordancia, $k= 0.738$ ($p<0.01$); HER- 2 con una concordancia de 73.80%, con valores de kapa de 0.521 ($p<0.01$).

11. CONCLUSIÓN.

En éste estudio se evaluó la discordancia entre la expresión de receptores (RE, RP, HER2) entre el tumor primario y los ganglios metastásicos sincrónicos en 46 mujeres con cáncer de mama tratadas quirúrgicamente, sin recibir quimioterapia neoadyuvante en el Hospital de Oncología de Centro Médico Nacional SXXI en el periodo de Enero del 2013 a Diciembre del 2014. Se encontró un porcentaje de discordancia de 11.6% tanto para RE como HER -2 al analizarse con IHQ, y de hasta el 19% con CISH; para RP de 13%. HER-2 es probablemente el marcador biológico con mayor valor predictivo para el tratamiento del cáncer de mama, encontramos en el análisis de CISH un 16.21% de ganancia de expresión de Her-2 en ganglios metastásicos con tumores primarios negativos a Her-2. Para los receptores hormonales encontramos ganancia de expresión en el ganglio de 2.27% para RE y de 4.54% para RP, lo cual fue menor a lo encontrado en la literatura.

Ya era conocido el hecho de mostrar un viraje en los receptores hormonales y Her-2 en las metástasis metacrónicas, sin embargo ahora también es evaluado y demostrado por éste estudio la pérdida o ganancia de expresión de receptores en las metástasis ganglionares sincrónicas comparándolo con el tumor.

Dando una probable explicación a casos de respuesta a terapia endócrina de pacientes con tumores RE y RP negativos que tuvieron ganancia de los mismos en las metástasis ganglionares, o por el contrario, poca respuesta a la terapia endócrina en tumores con receptores hormonales positivos, pero negativos en las metástasis ganglionares.

12. BIBLIOGRAFÍA

1. Perfil epidemiológico de los tumores malignos en México. SINAIS/ SINAVE/ DGE/ SALUD. México, 2011. Disponible en: www.salud.gob.mx | www.dgepi.salud.gob.mx . Consultado el 30 de Mayo de 2016.
2. GLOBOCAN 2012. Disponible en: <http://globocan.iarc.fr> . Consultado el 30 de mayo de 2016.
3. Estadísticas a propósito del día mundial contra el cáncer. INEGI, México: 2007.
4. Jung Chang H, Won Han S, Youn Oh D, Ah Im S, Kyung J, Ae Park In. Discordant Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 and Hormone Receptor Status in Primary and Metastatic Breast Cancer and Response to Trastuzumab. *Jpn J Clin Oncol* 2011; 41(5): 593-599.
5. Nedergaard L, Haerslev T, Jacobsen GK. Immunohistochemical study of estrogen receptors in primary breast carcinomas and their lymph node metastases including comparison of two monoclonal antibodies. *AMPIS* 1995; 103: 20-24.
6. Wang Y, Song KY, Wang JF, Qiu SL, Xiang FH. Expression of oncogene c-erbB-2 and its relationship with clinicopathologic factors in infiltrating ductal breast cancer and metastatic axillary lymph nodes. *Chin J Curr Adv Gen Surg* 2009;12:123-126.
7. Jin LB, Yao ZX, Kong LQ, Wu K. Clinical significance of hormone receptor status detection in simultaneous axillary metastasis for hormone receptor-negative primary breast cancer patients. *Chin J Clin Oncol* 2013; 15: 911-913.
8. Gruvberger S, Ringnér M, Chen Y, Panavally S, Seal LH, Borg A, et al. Estrogen receptor status in breast cancer is associated with remarkably distinct gene expression patterns. *Cancer Res* 2001; 61: 5979 –5984.
9. Pusztai L, Viale G, Kelly CM, Hudis CA. Estrogen and HER-2 receptor discordance between primary breast cancer and metastasis. *Oncologist* 2010; 15:1164-1168.
10. Rhodes A, Jasani B, Barnes DM, Bobrow LG, Miller KD. Reliability of immunohistochemical demonstration of estrogen receptors in routine practice: Interlaboratory variance in the sensitivity of detection and evaluation of scoring systems. *J Clin Pathol* 2000; 53: 125–130.
11. Miller K, Ibrahim M, Barnett S, Jasani B. Technical aspects of predictive and prognostic markers in breast cancer: What UK NEQAS data shows. *Curr Diagn Pathol* 2007; 13: 135–149.
12. Li CI, Uribe DJ, Daling JR. Clinical characteristics of different histologic types of breast cancer. *Br J Cancer* 2005; 93:1046.
13. Moreno A, López S, Corcho A. Principales medidas en epidemiología. *Salud Pública de México* 2000; 42 (4): 337-348.

14. Edge SB, Byrd DR, Compton CC, Fritz AG, Greene FL, Trotti A, editors. *AJCC Cancer Staging Manual*. 7th ed. New York: Springer, 2010: 347-376.
15. Cummings SR, Lee JS, Lui LY, Stone K, Ljung BM, Cauleys JA, et al. Sex hormones, risk factors and risk of estrogen receptor-positive breast cancer in older women: a long-term prospective study. *Cancer Epidemiol Biomarker Prev* 2005; 14: 1047-1051.
16. Berg WA, Gutierrez L, Ness Aiver MS, Carter WB, Bhargavan M, Lewis RS, et al. Diagnostic accuracy of mammography, clinical examination, US and MR imaging in preoperative assessment of breast cancer. *Radiology* 2004; 233: 830-849.
17. Moasser MM. The Oncogene HER2: Its signaling and transforming functions and its role in human cancer pathogenesis. *Oncogene* 2007; 26: 6469-6487.
18. Espinós J, Reyna C, de la Cruz S, Olier C, Hernández A, Fernández O, et al. Tratamiento hormonal del cáncer de mama. *Rev Med Univ Navarra* 2008; 52 (1): 40-48.
19. Zi-Xiang Y, Lin-Jie L, Rui-Jue Wang, Liang-Bin J, Sheng-Chun L, Hong-Yuan L, et al. Discordance and clinical significance of ER, PR and HER2 status between primary breast cancer and synchronous axillary lymph node metastasis. *Med Oncol* 2014; 31: 798-804.
20. Lindstrom LS, Karlsson E, Wilking UM, Johansson U, Hartman J, Lidbrink EK, et al. Clinically used breast cancer markers such as estrogen receptor, progesterone receptor, and human epidermal growth factor receptor 2 unstable throughout tumor progression. *J Clin Oncol* 2012; 30: 2601-2608.
21. Dieci MV, Barbieri E, Piacentini F, Ficarra G, Bettelli S, Dominici M, et al. Discordance in receptor between primary and recurrent breast cancer has a prognostic impact: a single-institution analysis. *Ann Oncol* 2013; 24: 101-108.
22. Amir E, Clemons M, Purdie CA, Miller N, Quinlan P, Geddie W, et al. Tissue confirmation of disease recurrence in breast cancer patients: pooled analysis of multi-center, multi-disciplinary prospective studies. *Cancer Treat Rev* 2012; 38 708-714.
23. Niikura N, Liu J, Hayashi N, Mittendorf EA, Gong Y, Palla SL, et al. Loss of human epidermal growth factor receptor 2 (HER2) expression in metastatic sites of HER2-overexpressing primary breast tumors. *J Clin Oncol* 2012;30(6):593-599.
24. Aurilio G, Disalvatore D, Pruneri G, Bagnardi V, Viale G, Curigliano G, et al. A meta-analysis of oestrogen receptor, progesterone receptor and human epidermal growth factor receptor 2 discordance between primary breast cancer and metastases. *European Journal of Cancer* 50(2):277-289.
25. Aitken SJ, Thomas JS, Langdon SP, Harrison DJ, Faratian D. Quantitative analysis of changes in ER, PR and HER2 expression in primary breast cancer and paired nodal metastases. *Ann Oncol* 2010; 21: 1254-1261.

26. Iguchi C, Nio Y, Itakura M. Heterogeneous expression of estrogen receptor between the primary tumor and the corresponding involved lymph nodes in patients with node-positive breast cancer and its implications in patient outcome. *J Surg Oncol* 2003;83(2):85-93.
27. Cárdenas J, Bargalló J, Erazo A, Poitevin A, Valero V, Pérez V. Consenso Mexicano sobre diagnóstico y tratamiento del cáncer mamario. Sexta revisión. Elsevier 2015: 28- 31.
28. Hammond ME, Hayes DF, Dowsett M, Allred DC, Hagerty KL, Badve S, et al. American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologist Guideline Recommendations for Immunohistochemical Testing of Estrogen and Progesterone Receptors in Breast Cancer. *J Clin Oncol* 2010; 28 (16): 2784- 2795.
29. Wolff AC, Hammond ME, Hicks DG, Dowsett M, McShane LM, Allison KH, et al. Recommendations for Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 Testing in Breast Cancer: American Society of Clinical Oncology/ College of American Pathologist Clinical Practice Guideline Update. *J Clin Oncol* 2013; 31 (31):3997-4013.
30. Talavera JO. Tamaño de muestra. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc* 2011; 49 (5): 517-522
31. Lara-Medina F, Pérez-Sánchez V, Saavedra-Pérez D, Blake-Cerda M, Arce C, Motola-Kuba D, et al. Triple-negative breast cancer in Hispanic patients. High prevalence, poor prognosis, and association with menopausal status, body mass index and parity. *Cancer* 2011; 117: 3658-3689.
32. Robles-Castillo J, Ruvalcaba-Limón E, Maffuz A, Rodríguez-Cuevas S. Cáncer de mama en mujeres mexicanas menores de 40 años. *Ginecol Obstet Mex* 2011; 79(8): 482-488.
33. Li MH, Hou CL, Wang C, Sun AJ. HER-2 ER, PR status concordance in primary breast cancer and corresponding metastatic lesion in lymph node in Chinese women. *Pathol Res Pract* 2016; 212 (4): 252-257.
34. Valencia R, De Anda J, Rodríguez S, Avilés A, Bautista V, Alvarado I. Evaluación de la hibridación in situ cromogénica comparado con inmunohistoquímica en mujeres con cáncer de mama con sobreexpresión del gen Her2-ne. *GAMO* 2012; 11 (3):169-174.

13. ANEXOS

13.1 Hoja de recolección de datos.

ANÁLISIS DE LA CONCORDANCIA EN LA EXPRESIÓN DE RECEPTORES HORMONALES Y HER2-NEU EN CÁNCER DE MAMA ENTRE EL TUMOR PRIMARIO Y GANGLIOS METASTÁSICOS AXILARES SINCRÓNICOS.

Instituto Mexicano del Seguro Social.
Servicio de Cirugía Oncológica.

| | |
|----------------|--------------------|
| NOMBRE: | AFILIACIÓN: |
| DX: | FECHA: |

Edad: ____ años.

Histología del tumor primario:

1. Ductal infiltrante
2. Lobulillar infiltrante
3. Mixto (ductal y lobulillar)
4. Otros tipos histológicos (Mucinoso, tubular, medular y papilar)

ESTADIFICACIÓN CLÍNICA:

| |
|----|
| T: |
| N: |
| M: |

ESTADIFICACIÓN PATOLÓGICA.

- 1.- IB
- 2.- IIA
- 3.- IIB
- 4.- IIIA
- 5.- IIIB
- 6.- IIIC

Expresión de receptores en tumor primario

1. Receptores de Estrógeno (Porcentaje de expresión)
2. Receptores de Progesterona (Porcentaje de expresión)
3. Expresión de Her2-neu

Expresión de receptores en metástasis axilares ipsilaterales

1. Receptores de Estrógeno (Porcentaje de expresión)
2. Receptores de Progesterona (Porcentaje de expresión)
4. Expresión de Her2-neu

13.2 Carta de consentimiento informado.

No es necesaria.

La determinación del estado de los receptores hormonales y de la expresión del Her 2 Neu en el tumor primario es una rutina en el análisis histopatológico convencional.

El análisis del estado de los receptores hormonales y de la expresión del Her2Neu en los ganglios axilares metastásicos no implica ningún procedimiento terapéutico diferente al manejo convencional.