



EXPRESIÓN INMUNOHISTOQUÍMICA DEL ONCOGEN HER2 NEU EN PACIENTES CON CARCINOMA DUCTAL INVASOR DE MAMA.

Menolascino-Bratta Francisco (*) menolaf@yahoo.com Martínez- García Carolina Isabel (*); Uribe Jorge Rafael (***)

(*) Decanato de Ciencias de la salud. Universidad Centro Occidental Lisandro Alvarado (UCLA). Sociedad Anticancerosa del Estado Lara. (**) Clínica Razzetti. (***) Clínica de mama de Barquisimeto. Estado Lara. Venezuela.

RESUMEN

El conocimiento sobre marcadores tumorales ha permitido un mejor entendimiento del comportamiento de las neoplasias. Uno de los marcadores mejor estudiados es el oncogén HER 2 NEU el cual se ha relacionado como elemento pronóstico y predictivo en cáncer de mama lo que motivo a investigar la frecuencia de sobre expresión del Her2 en una serie consecutiva de casos de carcinoma ductal invasor. Se estudio la expresión inmunohistoquímica del HER 2 NEU mediante el uso del HERCEP TEST de DAKO, en 1708 casos consecutivos de carcinoma ductales invasores Paralelamente estos datos se correlacionaron con algunos datos clínicos como: edad, sexo, mama afectada y con ciertos hallazgos histopatológicos como: grado de diferenciación tumoral, invasión vascular, invasión peri neural y compromiso ganglionar. Se obtuvo una frecuencia de 16,29 % de casos HER 2 Neu positivos, 6,51% dudosos y 77,20% negativos. No observamos relaciones significativas entre grado de diferenciación tumoral, invasión vascular y perineural y el estatus del HER 2 NEU, pero si se obtuvo una relación positiva entre los resultados de este marcador y el compromiso ganglionar.

Palabras Clave: Carcinoma ductal invasor, HER2 NEU.

EXPRESSION BY INMUNOHISTOCHEMISTRY OF HER2 NEU ONCOGEN IN DUCTAL INVASIVE BREAST CANCER.

ABSTRACT

Assessment of human epidermal growth factor receptor-2 status is standard practice in women with breast cancer. Molecular markers are studied for their potential to act as prognostic or predictive factors. A prognostic factor influences the clinical outcome independently of treatment, whereas a predictive factor correlates with prognosis because it is linked to the response to a particular therapy. HER2 may function as both a prognostic and a predictive factor. This study was undertaken to validate HERCEPTEST (DAKO) as a method for assessing human epidermal growth factor receptor-2 gene amplification. We evaluated consecutive 1708 specimens with invasive breast carcinoma, correlated with age, gender and involved gland. Additional, were correlated with histological differentiation grade, vascular and perineural invasion and nodal status. RESULTS: Her 2 Neu positive in 16, 29 % of cases (score +3), negative in 77, 2% (score 0/+1) and 6, 51% were scored as 2+. We didn't founded relationship between grade of histological differentiation, vascular and neural invasion and Her 2 Neu status. Nevertheless, status nodal was associated with Her 2 Neu expression.

Keywords: Ductal invasive carcinoma, HER 2 NEU.

INTRODUCCION

Los conocimientos en biología molecular han proporcionado un mejor entendimiento de los mecanismos fundamentales de la proliferación y diferenciación celular, así como en el desarrollo de las metástasis (1). A los ya tradicionales criterios morfológicos, se han venido agregando elementos de carácter pronóstico y predictivo, que sin lugar a dudas son de invaluable valor hoy en día.

La presencia de un número cada vez mayor de anticuerpos, la posibilidad de su utilización en tejidos fijados en formol e incluidos en parafina, así como el empleo de métodos de recuperación antigénica, junto a un mejor conocimiento de la biología de las neoplasias, explican el auge de la utilización de la inmunohistoquímica, no solo en patología mamaria sino en otras entidades neoplásicas (2).

El receptor del factor de crecimiento epidérmico 2 es un proto-oncogen codificado por una glicoproteína de superficie designada como receptor HER2 o c-erbB-2 (3-4).

El oncogén neu se identificó en las células de neuroblastoma de rata en 1981 y en 1985 se encontró en cultivos de células de carcinoma de mama humano. El equivalente del gen neu de la rata se denomina HER 2 (receptor del factor de crecimiento epidérmico humano 2) y se sabe se encuentra ubicado en el cromosoma 17 en la banda q11.2-q21 (5-7).

A partir de 1989, se ha venido observando que algunos cánceres mamarios humanos muestran sobre expresión del c-erbB-2 (8), trabajos posteriores ubican esta sobre expresión en un rango que oscila entre el 10 y el 34 % de los cánceres mamarios humanos (9).

Se ha observado que la sobre expresión de este oncogen juega un rol importante en la transformación oncogénica y en la tumorigénesis (10, 11). Desde el punto de vista clínico se ha asociado a: un peor pronóstico con reducción en el tiempo de supervivencia libre de enfermedad (3), a una respuesta disminuida a tratamientos con metotrexato, ciclofosfamida y 5 fluoracilo (12,13); y a una mejor respuesta con doxorubicina y Taxanos (12,14). De igual manera se ha observado que en paciente con receptores hormonales positivos y co expresión de HER 2 puede existir una resistencia al tratamiento con Tamoxifen (15) y que el uso de inhibidores de aromatasa podría ser una mejor indicación en estos pacientes (16). La sobre expresión del oncogén HER 2 por sí sola, confiere al tumor un riesgo intermedio a alto (17).

La reciente aparición en el mercado de medicamentos como el Trastuzumab (Herceptin) un anticuerpo monoclonal humanizado cuyo blanco específico es el HER 2, le ha conferido a la determinación del oncogén una significativa trascendencia. El uso adyuvante del trastuzumab en pacientes

con sobre expresión del HER2, ha demostrado que mejora el tiempo de sobrevida y el tiempo libre de enfermedad, reduciendo el riesgo de recurrencia por encima de un 50% y el riesgo de muerte en aproximadamente un tercio (18,19)

Todo lo anteriormente expuesto, nos ha motivado a investigar la frecuencia de sobre expresión del Her2 en una serie consecutiva de casos de carcinoma ductal invasor de la mama, estudiados en el laboratorio de inmunohistoquímica del

METODOLOGIA

En el presente estudio se relaciona el estatus del HER 2 Neu en 1708 casos consecutivos de carcinoma ductal invasor, estudiados en el laboratorio de inmunohistoquímica del Decanato de Ciencias de la Salud de la Universidad Centro Occidental Lisandro Alvarado, ubicada en la ciudad de Barquisimeto, Estado Lara, Venezuela, entre enero del año 2004 y diciembre del 2008 (5 años).

Se consideraron biopsias con aguja gruesa, biopsias insicionales, excisionales y especímenes de mastectomía parcial y total. Todas las muestras fueron fijadas en formol al 10% e incluidas en parafina. De cada una de las muestras se obtuvieron cortes de 3-5 micras que fueron teñidas con Hematoxilina y eosina a fin de corroborar el diagnóstico. En aquellos casos donde se disponía de más de

Decanato de Ciencias de la Salud de la Universidad Centro Occidental Lisandro Alvarado, ubicada en la ciudad de Barquisimeto, Estado Lara, Venezuela. Paralelamente estos resultados se correlacionan con algunos datos clínicos como: edad, sexo, mama afectada y con ciertos hallazgos histopatológicos como: grado de diferenciación tumoral, invasión vascular, invasión peri neural y compromiso ganglionar

un bloque se selecciono el área más representativa de la neoplasia.

En cada caso se lleno una ficha en la que se incluyeron los datos mínimos del paciente, tales como nombre, edad, mama afectada y datos anatomopatológicos en los que se incluyeron tipo de tumor, grado de diferenciación, grado nuclear, fibrosis, necrosis, invasión vascular y peri-neural, infiltrado mononuclear, calcificaciones, lesiones asociadas y presencia de afectación ganglionar.

Comprobado el diagnóstico y realizado el estudio histológico de la muestra con especial referencia a los datos antes mencionados, se procedió a realizar el estudio inmunohistoquímico del material, para ello se obtuvieron cortes de 3-4 micras que fueron colocados en laminas previamente tratadas con xilano a fin de garantizar la adherencia del tejido a la misma.

Posteriormente cada muestra fue sometida a un proceso de desparafinación e hidratación, por pases sucesivos de 5-10 minutos por tres xiloles y cinco alcoholes de concentración decreciente hasta llegar a agua destilada. Culminado este proceso se siguieron todas las consideraciones técnicas recomendadas por la casa DAKO en el instructivo que acompaña a cada caja de HERCEP TEST™ Cod 5204 y según las cuales los tejidos fueron sometidos a un proceso de recuperación antigénica. Dicho proceso consistió en el empleo de jarros de coplin llenos de una solución de buffer citrato a 10mmol/L, colocados en baño María hasta lograr una temperatura estable entre 95 y 99°C. Lograda esta temperatura en la solución recuperadora, se colocaron en ella los tejidos durante un tiempo de 40 (+/-1) minutos. Una vez cumplido el periodo de incubación, los coplin fueron retirados del baño y enfriados a temperatura ambiente durante 20 minutos, posterior a lo cual se decanto la solución recuperadora y se procedió a lavado con buffer durante 5 minutos.

Cumplido los pasos del proceso de recuperación antigénica, se procedió al bloqueo de la peroxidasa endógena, con peróxido de hidrogeno en metanol al 3% durante 5 minutos con posterior lavado con buffer por 5 minutos.

Eliminado el exceso de buffer se colocaron 3 gotas (100 uL) de proteína anti HER 2 a cada caso en estudio y a los

controles positivos y 100 ml del reactivo de control negativo a los casos control negativos.

Como se observa en todos los casos se emplearon controles positivos y controles negativos. En el primer caso se emplearon los controles suministrados por DAKO en el estuche respectivo y que incluyen en una sola lamina células con marcaje de HER de 1+, 2+ y 3+. En los controles negativos solo se sustituyo el anticuerpo anti HER por inmunoglobulina G.

Los casos se incubaron por 30 min, luego de los cuales se procedió al lavado con solución buffer por 5 minutos, eliminación del exceso de buffer y colocación del reactivo de visualización por 30min, con lavado posterior con buffer por 5 minutos, eliminación del exceso de este y colocación de la solución cromógena de Diaminobencidida (DAB) por 10 min.

Finalmente se procedió a lavado con agua destilada por 5 min, contraste con Hematoxilina por 3 minutos y montaje con medio sintético.

Es conveniente precisar que posterior a la recuperación antigénica todos los pasos siguientes se realizaron en cámara húmeda a temperatura ambiente (25-30 °C)

La interpretación de la reacción se realizo siguiendo los criterios establecidos en el manual del fabricante (20) y en las guías o recomendaciones aprobadas por la Sociedad americana de oncólogos clínicos (ASCO) y el

colegio americano de patólogos (21) y que incluye:

Reporte	Interpretación	Patrón de coloración
0	Negativo	No se observa coloración de membrana o esta es menor del 10 % de las células
1+	Negativo	Se observa tinción débil de membrana en menos del 10 % de las células o las células solo se tiñen en parte de la membrana
2+	Dudoso	Tinción completa, débil o moderada en la membrana de más del 10 % de las células
3+	Positivo	Tinción fuerte y completa de membrana es observada en más del 10 % de las células.

Casos con tinción citoplasmática sin marcaje de membrana, fueron considerados como negativos. Finalmente aquellos casos con 0 o 1+ fueron considerados negativos. Aquellos casos que resultaron dudosos (2+) se les recomendó practicar Hibridación in situ fluorescente (FISH) o hibridación in situ cromogenica (CISH) y solo los casos 3+ se consideraron positivos al HER.

RESULTADOS

En el periodo comprendido entre enero del 2004 y Diciembre del 2008 en el laboratorio de inmunohistoquímica del Decanato de Ciencias de la Salud de la Universidad Centro Occidental Lisandro Alvarado se estudiaron 1708 casos de carcinomas ductales invasores, de estos el 99,88 % (1706 casos) fueron mujeres y solo dos (0,12 %) fueron pacientes masculinos (Tabla 1)

Tabla 1.- Distribución por sexo, carcinomas ductales invasores.

	N	%
Femenino	1706	99,88
Masculino	2	0,12
TOTAL	1708	100

Las edades de los pacientes estuvieron comprendidas entre los 23 años y los 92 años. Concentrándose el

72,43 de las mismas entre los 41 y 70 años de edad. En el 4,8 % de los casos la edad fue desconocida. (Tabla 2)

Tabla 2.- Distribución por edad, carcinomas ductales invasores.

Edad (años)	N	%
0-10	0	0,00
11-20	0	0,00
21-30	27	1,58
31-40	221	12,94
41-50	490	28,69
51-60	477	27,93
61-70	270	15,81
71-80	111	6,50
81-90	26	1,52
Más de 91	4	0,23
Desconocida	82	4,80
TOTAL	1708	100

En cuanto a la localización el 41,33 % (706 casos) se ubicaron en mama derecha; 38,23 % en mama izquierda, 0,76 % fueron bilaterales, en

19,38 % de los casos no se conoció la localización de la lesión y 0,29 % fueron lesiones metastásicas. (Tabla 3)

Tabla 3.- Distribución según localización, carcinomas ductales invasores.

Localización	N	%
Mama Derecha	706	41,33
Mama Izquierda	653	38,23
Bilateral	13	0,76
Desconocida	331	19,38
Metástasis	5	0,29
TOTAL	1708	100

En cuanto a los procedimientos de toma del material, el 54,07 % de los casos fueron biopsias con aguja gruesa, 0,29 % biopsias insicionales, 22,26 % biopsia

excisionales o tumorectomias, 14,46% mastectomias preservadoras o parciales, 8,9% mastectomias radicales (Tabla 4)

Tabla 4.- Distribución según procedimiento de toma de muestra, carcinomas ductales invasores.

PROCEDIMIENTO	NR	%
TRU CUT	924	54,10
Bx Incisional	5	0,29
Bx Excisional	380	22,25
Mastectomia Parcial	247	14,46
Mastectomia Radical	152	8,9
Total	1708	100,00

En cuanto al grado de diferenciación de cada uno de los tumores estudiados, se observó la distribución representada en la tabla 5. El

grado de diferenciación tumoral fue desconocido en 6,79 % de los casos (116 pacientes)

Tabla 5.- Distribución según grado de diferenciación, carcinomas ductales invasores.

GRADO HISTOLOGICO	N	%
Bien	193,00	11,30
Moderado	891,00	52,17
Poco diferenciado	508,00	29,74
Desconocido	116,00	6,79
TOTAL	1708	100

En cuanto a los resultados obtenidos en el análisis de las diferentes pruebas de HERCEP TEST, observamos que solo un 16,29 % de los casos mostró

positividad de tres cruces (3+) para el He 2 NEU, mostrándose la distribución obtenida en la tabla 6.

Tabla 6.- Distribución de los resultados obtenidos con el HERCEP TEST, carcinomas ductales invasores.

Resultado en cruces	N	%
0	1221	71,50
1	97	5,70
2	111	6,51
3	278	16,29
	1708	100

Siguiendo los parámetros establecidos a nivel internacional y según los cuales resultados de 0+ y 1+ se Consideran negativos, 2+ dudosos y 3+ positivos encontramos la siguiente distribución definitiva (Tabla 7).

TABLA 7.- Distribución de los resultados definitivos obtenidos con el HERCEP TEST, carcinomas ductales invasores.

Resultado	N	%
Negativo	1319	77,20
Dudoso	111	6,51
Positivo	278	16,29
Total	1708	100

Como es sabido, los parámetros internacionales establecen que a aquellos casos de HER 2 NEU dudosos por inmunohistoquímica, debe realizarse estudio confirmatorio con hibridación in situ fluorescente (FISH) o hibridación in situ cromogenica (CISH); sin embargo estos procedimientos no se realizan en el país y su costo es muy elevado, pese a ello, a 70 (63,06 %) de los 111 casos dudosos se les pudo practicar FISH fuera del país, de estos el 88,57 % (62 pacientes) fueron negativos y el 11,43 % (8 casos) fueron positivos, sin embargo como este parámetro no fue considerado en el planteamiento inicial del estudio, el mismo no será considerado en los sucesivos análisis.

Al tratar de correlacionar los resultados obtenidos con el HERCEP TEST con el grado de diferenciación tumoral, observamos que el 94 % de los carcinomas bien diferenciados fue negativo a HER 2 NEU, 77,89% de los moderadamente diferenciados y 70,87 % de los poco diferenciados fueron negativos. El mayor porcentaje de casos positivos a HER 2 NEU se encontró en el grupo de los poco diferenciados con un 24,80 % (tabla 8)

TABLA 8.- Comparación entre el estatus del HER NEU 2 y el grado de diferenciación tumoral de los carcinomas ductales invasores.

Grado Histológico	NEGATIVO		DUDOSO		POSITIVO		TOTAL	
	N	%	N	%	N	%	N	%
Bien	182	94,30	4	2,07	7	3,63	193	100
Moderado	694	77,89	77	8,64	120	13,47	891	100
Poco	360	70,87	22	4,33	126	24,80	508	100
Desconocido	83	71,55	8	6,90	25	21,55	116	100
Total	1319	77,22	111	6,50	278	16,28	1708	100

Al tratar de ver qué grupo de neoplasias predominó dependiendo del estado del HER 2 y eliminando el grupo en que se desconoce el grado de diferenciación, observamos que en el grupo de HER negativos y dudosos predominaron los carcinomas

moderadamente diferenciados, mientras que en el grupo de HER positivos predominaron los carcinomas poco diferenciados con muy poca diferencia con respecto al grupo moderadamente diferenciado (49,80 % vs 47,43 % respectivamente)

TABLA 9.- Comparación entre el estatus del HER NEU 2 y el grado de diferenciación tumoral de los carcinomas ductales invasores.

Grado Histológico	Negativo		Dudoso		Positivo		TOTAL	
	N	%	N	%	N	%	N	%
Bien	182	14,72	4	3,88	7	2,77	193	12,12
Moderado	694	56,15	77	74,76	120	47,43	891	55,97
Poco	360	29,13	22	21,36	126	49,80	508	31,91
Total	1236	100	103	100	253	100	1592	100

De los 1708 casos estudiados solo 960 (56,20 %) poseían información sobre la presencia o no de invasión vascular, al correlacionar este hallazgo con el Resultado del HER , observamos un

claro predominio de los HER negativos, dudosos y positivos en el grupo de neoplasias donde no había invasión vascular (tabla 10)

TABLA 10.- Comparación entre el estatus del HER NEU 2 y la presencia o no de invasión vascular en los carcinomas ductales invasores.

Inv. Vasca	Negativo		Dudoso		Positivos		Total	
	N	%	NR	%	N	%	N	%
NEG	559,00	79,07	58,00	72,50	134,00	77,46	751,00	78,23
POS	148,00	20,93	22,00	27,50	39,00	22,54	209,00	21,77
	707,00	100,00	80,00	100,00	173,00	100,00	960,00	100,00

De los 1708 casos estudiados solo 1093 (63,99 %) poseían información sobre la presencia o no de invasión perineural. Al correlacionar este hallazgo con el resultado del HER, observamos

que al igual que en el caso de la invasión vascular existe un claro predominio de los HER negativos, dudosos y positivos en el grupo de neoplasias donde no había invasión peri neural (Tabla 11)

TABLA 11.- Comparación entre el estatus del HER NEU 2 y la presencia o no de invasión perineural en los carcinomas ductales invasores.

INV per	Negativo		Dudoso		Positivos		Total	
	N	%	NR	%	N	%	N	%
NEG	776,00	91,83	70,00	83,33	150,00	91,46	996,00	91,13
POS	69,00	8,17	14,00	16,67	14,00	8,54	97,00	8,87
TOTAL	845,00	100,00	84,00	100,00	164,00	100,00	1093,00	100,00

Como se menciona previamente de los 1708 casos estudiados solo 399 (23,33 %) fueron producto de mastectomías (tabla 4) a las que además se les practico disección ganglionar de diferentes niveles; observando que el 52,38 % de los casos tenían ganglios negativos y 47,62 ganglios positivos. Al

correlacionar este hallazgo con el resultado del HER, observamos que la mayoría de los tumores ganglios negativos fueron HER 2 NEU negativos, mientras que en los casos dudosos y positivos poseían con mayor frecuencia afectación de ganglios (74,93 y 65,14 % respectivamente) (Tabla 12)

TABLA 12.- Comparación entre el estatus del HER NEU 2 y el estado ganglionar en los carcinomas ductales invasores.

Ganglios	Negativo		Dudoso		Positivos		Total	
	N	%	NR	%	N	%	N	%
NEG	172	60,34	7	25,07	29	34,86	209	52,38
POS	113	39,66	22	74,93	55	65,14	190	47,62
	286	100,00	29	100,00	84	100,00	399	100,00

DISCUSION

El cáncer de mama constituye una de las neoplasias más comunes en mujeres. Se considera que un tercio de los cánceres femeninos en el mundo son cánceres de la glándula mamaria, observando que la incidencia tiende a un aumento constante, mientras que la mortalidad tiende a disminuir (22-23). En nuestro país y según el anuario de mortalidad del año 2004 (24) emitido por el Ministerio de Salud de la República Bolivariana de Venezuela el cáncer constituye la segunda causa de muerte luego de las enfermedades del corazón, registrándose 17507 muertes por cáncer para el referido año, de estas 1387 fueron por cáncer de mama (1375 mujeres y 12 hombres), se desconocen datos a nivel nacional sobre la incidencia de esta enfermedad. .

Según el anuario de Mortalidad del Ministerio de salud de la República Bolivariana de Venezuela para el año 2004 (24), el estado Lara ocupó el cuarto lugar a nivel nacional en cuanto a muertes por cáncer de mama con 103 casos, precedido por

Miranda con 214 casos, Zulia con 168 casos y Distrito capital con 159 casos.

En cuanto al cáncer de mama en el sexo masculino, sabemos que el mismo es raro estimándose su incidencia en 1000 a 1400 nuevos casos por año (25,26), en nuestro estudio de 1708 casos de carcinomas ductales invasores estudiados en cinco años, solo logramos evidenciar 2 casos de cánceres en hombres constituyendo el 0,12 %. En el anuario de Mortalidad del Ministerio de Salud de la República Bolivariana de Venezuela, para el año 2004 se reportaron 12 muertes por cáncer de mama en hombres lo que constituye un 0,86 % de muertes atribuibles a cáncer de mama (24).

En cuanto a la edad de las pacientes estudiadas observamos que el 72% de los casos se concentro entre los 41 y 70 años, con un pico entre los 41 y 50 años de edad, este resultado resulta diferente a lo establecido en la literatura internacional donde se señala que el cáncer de mama aumenta de manera casi lineal con la edad y que la mayoría de los casos (75-80 %) se diagnostican después de los 50 años (27), sin embargo Marchant en 1992 señalaba que se observaba un aumento

de la incidencia de cáncer de mama en mujeres jóvenes de países occidentales, lo cual atribuye a un retraso en la edad de tener hijos y a una menor paridad (28)

En cuanto a la localización de los tumores no observamos un claro predominio de afectación de una mama sobre la otra, apreciando una frecuencia levemente mayor de compromiso de la mama derecha (41,33 %) sobre la izquierda (38,23 %) con apenas un 0,76 % de cánceres bilaterales. En la literatura se hace hincapié en la localización del tumor en cada cuadrante, señalando una mayor frecuencia de presentación (hasta 50 %) en el cuadrante superior externo (29), sin embargo en nuestro estudio este elemento no estaba informado por lo que no se pudo tabular, siendo importante recordar al gremio médico la importancia de señalar con exactitud la localización precisa del tumor dentro de la mama, considerando que algunos autores han señalado que existe una relación entre este hecho y la supervivencia de la paciente.

En cuanto a los procedimientos de toma de la muestra observamos un franco predominio de biopsias con aguja gruesa (54,10 %) con apenas un 0,29 % de biopsias insicionales, esto evidentemente nos habla de la predilección que tiene los médicos a usar procedimientos menos invasivos que permitan un manejo ambulatorio del paciente. De igual manera y apoyando esta idea, notamos como existe una franca tendencia al

empleo de cirugías preservadoras de la mama con 22,25 % de tumorectomias o biopsias excisionales y 14,46 % de mastectomias preservadoras, sobre un 8,9 % de mastectomias radicales.

En relación a lo que fue el objetivo básico del presente estudio, cual fue determinar la expresión inmunohistoquímica del HER2 NEU, observamos un 16,29 % de casos positivos, en este sentido debemos realizar la observación que los reportes iniciales señalaban reacciones positivas para el HER 2 NEU de un 30 % (3, 30-36), sin embargo existen observaciones por encima de este rango, por ejemplo en Egipto se informó una incidencia del 40 % (37), en Irán de 41% (38), en Alemania 42 % (38) y en uno de los pocos trabajos latinoamericanos realizados sobre este tema por Córdova en Perú, se reportó una expresión del 54,37 % (39), esta enorme disparidad en cuanto a los resultados fue atribuida a diferentes factores entre los cuales se mencionaron: empleo de diferentes métodos de detección, variaciones en las técnicas empleadas, diferentes criterios en la interpretación de los resultados y hasta selección de las muestras estudiadas. Faló y col (40) encontraron una sobre expresión del HER2 NEU del 17% empleando anticuerpos monoclonales, la cual se incrementaba a un 37 % cuando se empleaban anticuerpos policlonales.

Todo lo anteriormente expuesto condujo a que la Sociedad Americana de

Oncólogos Clínicos (ASCO) y el Colegio Americano de Patólogos (21) elaborara un conjunto de recomendaciones que fueron implementadas en USA, Canadá y otros países tales como Australia y posteriormente aplicados en países latinoamericanos como el nuestro. Dichas recomendaciones buscaban mejorar la utilidad del HER2 NEU como marcador pronostico y predictivo, partiendo de estudios realizados en el año 2002 (41, 42) y en los que se comparaban los resultados del HER 2 NEU ejecutados en laboratorios locales con laboratorios de referencia, se demostró que cerca del 20 % de las pruebas de Her 2 NEU podían ser catalogadas como inadecuadas, a esto se agrego la aplicación de las nuevas normas establecidas por la Administración de drogas y alimentos de USA en la que se requería que las pruebas de marcadores tumorales fueran cuidadosamente validadas (43)

La evaluación de las pruebas con que se determinaba el HER 2 NEU condujo a un intento de estandarizar de los procedimientos de ejecución y de interpretación, es así como la Sociedad Americana de Oncólogos Clínicos (ASCO) y el Colegio Americano de Patólogos (21) recomendaron que el estado del HER 2 NEU debería determinarse en todo cáncer invasivo de mama, empleando marcadores y metodologías aprobadas por la Administración de drogas y alimentos de USA (FDA), de igual manera se recomiendan

algunos algoritmos para la interpretación y evaluación de los resultados que permitieran uniformar los criterios en la expresión e interpretación de los resultados.

Basado en todos los hechos a los que se ha hecho referencia, resulta de gran importancia trabajos como este, en el que se determino de manera prospectiva el estado del HER 2 NEU siguiendo todas las normas establecidas por la Sociedad Americana de Oncólogos Clínicos (ASCO) y el Colegio Americano de Patólogos (21) y por la Administración de drogas y alimentos de USA (FDA), como una forma de contribuir al conocimiento que a nivel regional, nacional e internacional se posee sobre el tema.

Como objetivo secundario al estudio, se comparo el estado del HER 2 NEU con el grado de diferenciación tumoral, observando que la gran mayoría de los casos positivos al HER fueron carcinomas poco diferenciados (49,80 %) seguidos por los moderadamente diferenciados (47,43 %) y por último los bien diferenciados (2,77 %), lo cual haría suponer que a mayor expresión del HER menor grado de diferenciación, sin embargo al observar los casos que fueron negativos al HER, esta relación no se hace tan evidente ya que continúan predominando los carcinomas poco diferenciados (29,13%) sobre los bien diferenciados (14,72 %), esto probablemente sea debido al elevado número de casos dudosos y moderadamente diferenciados que impiden llegar a una conclusión clara sobre la

relación entre el estado del Her 2 Neu y el grado de diferenciación tumoral. En este aspecto existen también opiniones encontradas en las que algunos autores han informado una relación directa entre el estado del HER y el grado de diferenciación (41-46), mientras que otros señalan que son factores independientes (47)

En cuanto al estatus del HER 2 NEU y la presencia o no de invasión tumoral observamos que en todos los grupos (HER negativo, dudoso y positivo) predominaron los casos sin invasión tumoral, con lo cual no encontramos ninguna relación entre el estado del HER y la presencia o no de invasión vascular, iguales resultados se obtuvieron al relacionar el estado del HER con la invasión perineural. En este punto debemos aclarar que considerando que la gran mayoría de las muestras examinadas fueron muestras pequeñas obtenidas por aguja gruesa se corre el riesgo de que la misma no sea del todo representativa de la lesión total y que por tanto la invasión perineural y vascular no sea adecuadamente evaluada. Carecemos de información sobre trabajos previos en los que se relacionen estos elementos sin embargo en un estudio realizado por de Sousa y col (48) en cáncer gástrico, los autores encuentran relación entre la expresión del c-erbB-2, la localización tumoral y la invasión a vasos venosos.

Un hecho diferente se encontró al correlacionar los resultados del HER con el

estado ganglionar, observando que la mayoría de los casos HER positivos (65,14%) fueron ganglios positivos, mientras que la mayoría de los HER negativos (60,34 %) fueron ganglios negativos, lo que nos induce a pensar que hay una relación directa entre el estado ganglionar y el estado del HER 2, sin querer obviar el problema de los casos dudoso que podrían inclinar la balanza a uno u otro lado de la relación. De igual manera en este punto existen en la literatura diferentes trabajos a favor y en contra, así por ejemplo algunos autores señalan una relación directa entre el estado ganglionar y el resultado del HER (49) mientras que otros no encuentran ninguna relación (44, 50,51).

Definitivamente los factores que influyen en el pronóstico del cáncer de mama incluyen diversas variables, algunas de carácter morfológico, tales como; tipo de tumor, tamaño, grado de diferenciación, estado ganglionar, invasión vascular etc. y otras de carácter no morfológico como el estatus de los receptores de estrógeno, progesterona, proliferación celular, ploidia del ADN, factores de crecimiento, oncogenes, genes supresores tumorales etc. De todos estos elementos uno de los más estudiados en mama ha sido el status del HER 2 NEU. En una revisión realizada por Ross y Fletcher (51) quienes analizaron 47 estudios con 15000 pacientes, observaron que el 60 % de los estudios la positividad al HER 2 neu fue un factor pronostico independiente, lo cual

está acorde con lo señalado con el Colegio Americano de patólogos quienes desde el año 2000 (12) han señalado que: "el valor pronostico y predictivo del erbB-2 (Her 2-neu) en cáncer de mama invasivo es indispensable".

La relación entre el estatus del HER 2 y la respuesta a tratamiento en cáncer de mama, se ha investigado en numerosos estudios clínicos. La positividad del HER 2 neu es un elemento predictivo del uso eficiente del Trantuzumab (HERCEPTIN™), anticuerpo monoclonal humanizado que se une específicamente al receptor Her 2, en cáncer de mama (18,19, 52). De igual manera es un elemento predictivo del uso de taxanos (14,53) y antraciclinas (54-57) y de resistencia al tratamiento con ciclofosfamida/metrotexate/5 fluoracilo (13,58). En pacientes con receptores de hormonas positivos y co expresión de HER 2 NEU puede existir resistencia a tamoxifen (15, 59,60) en cuyo caso el uso de inhibidores de aromatasa podría ser una opción (16,61)

REFERENCIAS

- 1.- Andriolo A. Marcadopres tumorais. Rev Bras Med.1996; 641-53
2. - Yeh Tien, Mies Carolyn. Application of immunohistochemistry to Breast lesion. Arch Pathol Lab Med. 2008; 132:349-58
3. - Slamon DJ, Clark GM, Wong SG, Levin WJ, Ulrich A, McGurie WL. Human breast cancer; correlation of relapse and survival with amplification of the HER2/neu oncogene. Science. 1987; 235:177-182
4. - Di Leo Angelo, Dowsett Mitch, Horten Bruce, Penault-Llorca Frédérique. Current Status of Her2 Testing. Oncology.2002; 1:25-32.
- 5.- Schechter AL; Stern DF; Vaidyanathan L, et al. The neu oncogene: An erb-B related gene encoding a 185000 Mr tumor antigen. Nature 1984; 319; 513-6.
6. - King CR, Kraus MH, Aaronson SA. Amplification of a novel v-erbB related gene in human mammary carcinoma. Science. 1985; 229:974-6.
7. - Popescu NC, King CR, Kraus MH. Localization of the human erbB2 gene on normal and rearranged chromosomes 17 to bands q12-21.32. Genomics. 1989; 4:362-66
8. - Allred DC, Harvey JN, Berardo M et al. Prognostic and predictive factors in breast cancer by immunohistochemical analysis. Mod Pathol 1998; 11; 155-68
9. - Ross JS, Fletcher JA. HER2/neu (c-erbB2) gene and protein in breast cancer. Am J Clin Pathol 1999; 112:S53-67.
- 10.- Benz CC, Scott GK, Sarup JC, Johnson RM, Tripathy D, Coronado E, Shepard HM, Osborne CK. Estrogen-dependent, tamoxifen-resistant tumorigenic growth of MCF-7 cells transfected with HER2/neu. Breast Cancer Res Treat. 1992; 24:85-95.
11. - Chazin VR, Kalñeko M, Miller AD, Slamon DJ. Transformation mediated by the human HER 2 gene independent of the epidermal growth factor receptor. Oncogene 1992; 7:1859-1866.
- 12.- Fiittzgibbons PL, Page DL, et al. Prognostic Factors in Breast Cancer. College of American Pathologist Consensus Statement 1999. Arch Pathol Lab Med 2000; 124:966-78.

- 13.- Di Leo A, Gancberg D, Larsimont D, Tanner M, Jarvinen T, Rouas G, Leroy J-Y, Paesmans M, Isola J, Piccard MJ. HER 2 amplification and topoisomerase IIa gene anerrations as predictive markers in node positive breast cancer patients randomly treated either with an anthracycline based therapy or cyclophosphamide, methotrexate and 5 fluoracil. *Clin Cancer Res* 2002; 8:1107-16.
14. - Gianni L, Capri G, Mezzelani A, Valagussa P, Greco M, Bertuzzi A, Grasselli G, Tarenzi E, Moliterni A, Pilotti S, Bonadonna G. Her2/neu (HER2) amplification and response to doxorubicin/paclitaxel (AT) in women con metastatic breast cancer. *Proc Am Soc Clin Oncol* 1997; 16:139a, abstract 491
- 15.- Dowsett M, Houghton J, Iden C, Salter J, Farndon J, A'hern R, Sainsbury R, Baum M,. Benefit from adyuvant tamoxifen therapy in primary breast cancer patients according oestrogen receptor, progesterone receptor, EGF receptor and HER2 status. *Ann Oncol* 2006; 17:818-826.
- 16.- Zhu L, Chow LWC, Loo WTY, Guan XY, Toi M. HER2/neu expression predicts the response to aromatase neodayuvant therapy in primary breast cancer: subgroup analysis from celecoxib antiaromatase neoadyuvant trial. *Clin Cancer Res* 2004; 10:4639-44.
- 17.- Goldhirsch A, Coates AS, Gelber RD, Glick JH, Thürlimann B, Senn H-J on behalf of the St Gallen Expert Panel Members. First select the target: better choice of adyuvant treatments for breast cancer patients. *Ann Oncol* 2006; 17:1772-76.
- 18.- Slamon DJ, Leyland Jones B, Shak S, Fuchs H, Paton V, Bajamonde A, Fleming T, Eiermann W, Wolter J, Pergram M, Norton L. Use of chemotherapy plus a monoclonal antibody against Her 2 for metastatic breast cancer that overexpresses HER2. *N Engl J Med* 2001; 344:783-792.
- 19.- Marty M, Cognetty F, Maraninchi D, Snyder R, Mauriac L, Tubiana Hulin M, Chan S, Grimes D, Antón A, Lluch A, Kennedy J, O'Byrne K, Conte P, Green M, Ward C, Mayne K, Extra JM. Randomized phase II trial of the efficacy and safety of tratuzumab combined with docetaxwel in patients with human epidermal growth factor 2 positive metastatic breast cancer administered as first line treatment: the M77001 study group. *J Clin Ocol* 2005; 23:4265-74.
- 20.-Dako: Hercep Test. Manual de interpretación. Las terapias programadas requieren diagnósticos programados. 2001.
- 21.-Wolff Ac, Hammond MEH, Schwartz JN, Hagerty KL, Allred DC, Cote RJ, Dowsett M, Fitzgibbons PL, Hanna WM, Langer A, Mc Shane LM, Paik S, Pegram MD, Perez EA, Press MF, Rhodes A, Sturgeon C, Taube SE, Tubos R, Vance GH, van de Vijver M, Wheeler TM, Hayes DF. American Society of Clinical Oncology/Collage of American Pathologist guideline recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer. *Journal Clin Oncol* 2007; 25:118-145.
- 22.- Bordón A, Mazzola P. Cancer incidente in Switzerland, Ticino (1998-2002) In Curado MP, Edwards B, Shin HR et al (eds); *Cancer incidence in Five Continents. Vol IX.IARC Scientific Publications Nr 160. Lyon: IARC* 2007
- 23.-Ticino Cancer Registry. <http://www.ti.ch/DSS/DSP/istCP/RCT/dati/default.htm>.
- 24.-Ministerio de Salud de La republica Bolivbariana de Venezuela. *Anuario de Mortalidad. 2004*
- 25.- SEER. Cancer incidence pùblic-use database (CD-ROM). Bethesda, MD; 1997.
- 26.- Clark J, Nguyen P, Jaszcz W, Jatoi W, Niehmans G. Prognostic variables in male cancer. *Am Surg* 2000; 66:502-11?
- 27.-Smith BL. The breast. *Cur Probl Obstet Gynecol Fertil* 1996; 1:5-35

- 28.-Marchant DJ. Breast diseases and the gynecologist. *Cur Probl Pbstet Gynecol Fertil*.1992; 1:5-37.
- 29.- Fernandez Cid A. *Mastología*. 2da Edición. Masson. Barcelona 2000
- 29.- Emi Y, Kitamura K, et al. Metastatic Breast cancer with HER2/neu positive cell tends to have a morbid prognosis. *Surgery* 2002; 131 (1 Suppl): S217:21.
- 30.-Nakopoulou LL, Alexiadou A et al. Prognostic significance of the co-expression of p53 and *cerbB-2* proteins in breast cancer. *J Pathol* 1996; 179:31-8
- 31.-El-A Helal T, Khalifa A, Kamel AS. Immunohistochemical expression of p53 and *cerbB-2* proteins in breast cancer in Egypt. *Anticancer Res* 200; 20:2145-50
- 32.- Akiyama T, Sudo C, Ogawara H, et al. The product of the human *c.erbB2* gene. A 185 kilodalton glycoprotein with tyrosine kinase activity. *Science* 1986; 232:1644-1646
33. - Yamauchi H, Stearns V, Hayes DF. When is a tumor marker ready for prime time? A case study of *c-erbB-2* as a predictive factor breast cancer. *J Clin Oncol* 2001; 19: 2334-2356.
- 34.- Hayes DF, Thor A, Dressier L , et al. HER 2 predicts benefit from adjuvant paclitaxel after AC in node positive breast cancer: CALGB 9344. *J Clin Oncol* 2006; 24: 5S
- 35.- Joensuu H, Kellokumpu-Lehtinen PL, Bono P , et al. Adjuvant docetaxel or vinorelbine with or without trastuzumab for breast cancer. *N Engl J Med* 2006; 354:809-820.
- 36.-Piccart Gebhart MJ, Procter M, Leyland Jones B, et al. Trastuzumab after adjuvant chemotherapy in HER 2 positive breast Cancer. *N Engl J Med* 2005;353:1659-1672
- 37.-Ghahresi-Fard B, Vasei M, Talei A, Modjtahedi C, Dean C, Ghaderi A. The expression and prognostic significance of *cerbB-2* molecules in patients with breast cancer in Iran. *Iran Med Sci* 200; 25; 31-5
- 38.-Lebeau A, Deimling D, Kaltz C, Sendelhofert A, Iff A, Luthardt B, Untch M, Lohrs U. Her 2/neu analysis in archival tissue samples of human breast cancer: comparison in immunohistochemistry and fluorescence in situ hybridization. *J Clin Oncol* 2001; 19:354-63.
- 39.- Cordova S, Salazar LW, Arias Stella J, Arias Stella J. Sobreexpresión del oncogén *cerbB2* (*her-2*) en cáncer de mama en Lima, Perú. *Patología*, 2003; 41(3):155-61
- 40.- Falo C, Moreno A, Lloveras B, Prieto L, Figueras A, Escobedo A. Can Her-2/neu select patients to primary CMF? *Breast Cancer Res Treat*.2000; 64(1):76
- 41.- Paik S, Bryant J, Tar Chiu E, et al. Real World performance of Her2 testing National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project experience. *J Natl Cancer Inst*. 2002; 94:852-854.
42. - Roche PC, Suman VJ, Jerkins RB, et al. Concordance between local and central laboratory HER2 testing in breast intergroup trial N9831. *J Natl Cancer Inst* 2002; 94:855-857.
- 43.-Gutman S. Regulatory issues in tumor marker development. *Semin Oncol* 2002; 29:294-300.
- 44.-Wright C, Angus B, Nicholson S, et al. Expression of *c-erbB-2* oncoprotein: a prognostic indicator in human breast cancer. *Cancer Res* 1989; 49:2087-2090.
- 45.-Battifora H, Gaffey M, Esteban J, et al. Immunohistochemical assay of *neu/c-erbB-2* oncogene product in paraffin embedded tissues in early breast cancer: retrospective follow up study of 245 stage I and II cases. *Mod Pathol* 1991; 4:446-474
46. - Gullick WJ, Love SB, Wright C, et al. *cerbB-2* protein over-expression in breast cancer is a

- risk factor in patient with involved an uninvolved lymph node. *Br J Cancer* 1991; 63:434-438.
- 47.- Lovekin C, Ellis IO, Locker A, et al. C-erbB2 oncoprotein expression in primary and advanced breast cancer. *Br J Cancer*. 1991; 63:439-443
- 48.- Pinto de Sousa J, David L, Almeida R et al. C-erbB2 expression is associated with tumor location and venous invasion and influences survival of patients with gastric carcinoma. *Internacional Journal of Surgical Pathology* 2002; 10 (4):247-256.
49. - Descotes F, Pavy JJ, Adessi GL. Human breast cancer: correlation study between Her-2/neu amplification and prognostic factor in an unselected population. *Anticancer Res* 1993; 13:119-124.
- 50.-Mc Cann AH, Dervan PA, O'Reagan M, et al. Prognostic significance of c-erbB-2 and estrogen receptor status in human breast cancer. *Cancer Res* 1991; 51:3296-3303.
- 51.-Ross JS, Fletcher JA. The Her2/neu oncogene in breast cancer: prognostic factor, predictive factor, and target therapy. *Stem Cells* 1998; 16:413-428.
51. - Dykins R, Corbertt IP, Henry JA, et al. Long term survival in breast cancer related to sobreexpression of the c-erbB-2 oncoprotein an immunohistochemical study using monoclonal antibody.NCL-CBII. *J Pathol* 1991; 163:105-110.
52. - Smith IE. Efficacy and safety of Herceptin in women with metastatic breast cancer; results from pivotal clinical studies. *Anticancer Drugs* 2001; 12 (Suppl 4):S3-S10.
- 53.- Seidman AD, Baselga J, Yao TJ, Gilewski T, Rosen PP, Norton L. HER 2/neu over-expression and clinical taxane sensitivity; a multivariate analysis in patients with metastatic breast cancer (MCB). *Proc Am Soc Clin Oncol* 1996; 15:104.
- 54.-De Laurentis M, Caputo F, Massarelli E, Forestieri V, Vernaglia A, Carlomagno C, Laura R, Bianco AR, De Placido S. HER 2 expression and antraciclynes effect: results from the Naples GUN 3 randomized trial. *Proc Am Soc Clin Oncol* 2201; 20:34a.
- 55.- Paik S, Bryant J, Tan-Chiu E, Yothers G, Park C, Wickerham DL, Wolmark N. HER 2 and choice of adyuvant chemotherapy for invasive breast cancer; National Surgical Adyuvant Breast and Bowel Project Protocol B-15. *J Natl Cancer Inst* 2000; 92; 1991-1998.
- 56.- Ravdin PM, Green S, Albain KS, Boucher V, Ingle J, Pritchard K, Shepard L, Davidson N, Hayes DF, Clark GM, Martino S, Osborne CK, Allred DFC, for SWOG, NCCTG, NCI-Canada, ECOG, and CALGB. Initial report of the SWOG biological correlative study of c-erbB-2 expression as a predictor of outcome in a trial comparing adyuvant CAF T with tamoxifen (T) alone. *Proc Am Soc Clin Oncol* 1998; 17:97a.
- 57.- Thor AD, Berry DA, Budman DR, Muss HB, Kute T, Henderson IC, Barcos M, Cirincione C, Edgerton S, Allred C, Norton L, Liu ET. erbB-2, p53 and efficacy of adyuvant therapy in lymph node positive breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 1998; 90:1346-1360.
- 58.- Pritchard KI, Shepherd LE, O'Malley FP, Andrulis IL, Tu D, Bramwell VH, Levine MN, for the Nacional Cancer Institute of Canada Trial Group. HER 2 and responsiveness of breast cancer to adyuvant chemotherapy. *N Engl J Med* 2006; 354:2103-2111.
- 59.- Arpino G, Green SJ, Allred DC, Lew D, Martino S, Osborne CK, Elledge RM. HER 2 amplification, HER 1 expression and tamoxifen response in estrogen receptor positive metastatic breast cancer: a Southwest Oncology Group study. *Clin Cancer RES* 2004; 10:5670-5676.
- 60.- De Placido S, de Laurentis M, Carlomagno C, Gallo C, Perrone F, Pepe S, Ruggiero A,

Marinelli A, Pagliarulo C, Panico L, Pettinato G, Petrella G, Bianco AR. Twenty-years results of de Naples GUN randomiozed trial: predictive factors of adyuvant tamoxifen efficacy in early breast cancer. Clin Cancer Res 2003; 9:1039-1046.

Quebe-Fehling E, Chaudri-Ross HA, Evans DB, Miller WR. Letrozole inhibits tumor proliferation more effectively than tamoxifen independent of HER1/2 expression status. Cancer Res 2003; 63:6523-6531.

61.- Ellis MJ, Coop A, Singh B, Tao Y, Llombartt-Cussac A, Jänicke F, Mauriac L,