

ANÁLISIS DE LAS CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS Y ANATOMOPATOLÓGICAS ASOCIADAS AL HER-2/neu EN CÁNCER DE MAMA PRIMARIAMENTE OPERABLE CON TÉCNICA DE INMUNOHISTOQUÍMICA EN UNA POBLACIÓN HOSPITALARIA

Álvarez Carlos M,* Acosta Pablo L,** Paiz María C,*** Ruiz Díaz Laura S,*
Portillo Rocío S,* Aguirre Pablo G,* Pedrozo Williams R ****

RESUMEN

Objetivo

Describir la asociación entre las características clínicas y anatomopatológicas del cáncer de mama primariamente operable y el HER-2/neu evaluado por inmunohistoquímica.

Materiales y métodos

Estudio descriptivo. Se evaluó la edad, tamaño tumoral, grado histológico, ganglios axilares, RE, RP y el estado del HER-2/neu en pacientes con diagnóstico de carcinoma invasivo primariamente operables del Servicio de Ginecología del Hospital Ramón Madariaga de Posadas, Misiones, comprendido entre enero de 2007 y 30 de agosto del 2012. Con un total de 95 pacientes, se comparó características clínicas y anatomopatológicas de los tumores con relación al estado del HER-2.

Resultados

Los receptores hormonales negativos fueron más frecuentemente HER-2/neu positivos, tanto para los RE (75,00% vs. 23,25%) como para RP (73,07% vs. 25,58%). En el análisis multivariado, el RE se asoció como predicción en forma independiente del HER-2/neu.

Conclusiones

En el análisis multivariado el estado del receptor de estrógeno resultó predicción independiente de la sobreexpresión del HER-2/neu, no así el receptor de progesterona, el tamaño tumoral, los ganglios linfáticos y la edad. En el análisis univariado RE y RP se asociaron negativamente a la sobreexpresión del HER-2/neu.

Palabras clave

Cáncer de mama. Receptores hormonales. HER-2/neu. Factores de pronóstico. Factores de predicción. Inmunohistoquímica.

* Servicio Ginecología Hospital Escuela de Agudos Dr. Ramón Madariaga, Posadas, Misiones.

** Instituto de Anatomía Patológica Dr. Lucio Acosta, Posadas, Misiones.

*** Cátedra de Ginecología, Hospital de Clínicas Nicolás Avellaneda. S. M. de Tucumán, Tucumán.

**** Asesor estadístico de resultados, Departamento de Red de Laboratorios, Ministerio de Salud Pública de Misiones. Correo electrónico para Dr. Carlos María Álvarez: cmalvarez72@hotmail.com

SUMMARY

Objective

Describe the association between clinical and pathological features of breast cancer and HER-2/neu operable primarily evaluated by immunohistochemistry.

Materials and methods

Descriptive study. We assessed age, tumor size, histological grade, axillary nodes, ER, PR and HER-2/neu status in patients with primarily operable invasive carcinoma of the gynecology at the Hospital Ramon Madariaga, Posadas, Misiones, between January 2007 and August 30, 2012. With a total of 95 patients compared clinical and pathological characteristics of tumors in relation to HER-2 status.

Results

Negative hormone receptors were more frequent HER-2/neu positive, for both RE (75.00% vs. 23.25%) and RP (73.07% vs. 25.58%). Multivariate analysis was associated ER as the HER-2/neu independent predictor.

Conclusions

In multivariate analysis the estrogen receptor status was an independent predictor of overexpression of HER-2/neu, not the progesterone receptor, tumor size, lymph nodes and age. In univariate analysis were associated ER and PR negatively HER-2/neu overexpression.

Keywords

Breast cancer. Hormone receptors. HER-2/neu. Prognostic factors. Predictors factors. Immunohistochemistry.

INTRODUCCIÓN

El cáncer de mama es una enfermedad heterogénea; la identificación continua de marcadores que se apoyen en la predicción de la respuesta a la terapia y el pronóstico del padecimiento, es una tarea diaria. A la fecha se ha logrado establecer el poder pronóstico de sólo unos cuantos marcadores. Los clásicos son el tamaño tumoral, el número de ganglios positivos y el grado de diferenciación histológica. El receptor de estrógeno es probablemente el factor de pronóstico con mayor poder de predicción en su manejo. El receptor de progesterona también es un marcador ampliamente usado, aunque su valor de pronóstico no está completamente establecido. Por su parte HER-2 se ha convertido en el factor de mal pronóstico evaluado en forma rutinaria y de predicción de tratamientos blanco específicos como quimiohormonales. Otros factores no han demostrado un impacto semejante en el pronóstico de las pa-

cientes con cáncer de mama.¹

En la actualidad el patólogo ha pasado del terreno morfológico-descriptivo, hacia un espacio en la toma de decisiones en el tratamiento del cáncer de mama, debido a que tiene un papel importante en la determinación de factores de pronóstico y predicción. Los factores de pronóstico son cualquier característica del tumor o del paciente que puede usarse para predecir la historia natural de la neoplasia y por ende del período libre de enfermedad, recidiva y sobrevida de las pacientes. Los factores de predicción indican la respuesta a una terapia en especial.²

Rosen y cols. encontraron sobrevida libre de enfermedad de 91% a los 10 años y 87% a los 20 años, para pacientes con carcinoma ductal o lobulillar infiltrante con tamaño del tumor ≤ 1 cm; por otro lado, aquellas pacientes con tumores mayores tuvieron un período de sobrevida libre de enfermedad de 73% y 68% a los 10 y 20 años, respectivamente.³

El 20% a 30% de las pacientes con ganglios

negativos presentan recurrencia dentro de los primeros 10 años, mientras que recurren el 70% de las pacientes con ganglios axilares positivos. El número de ganglios afectados también es importante, aquellas pacientes con 4 ganglios afectados o más, tienen un peor pronóstico.⁴

El alto grado histológico se ha relacionado con mayor frecuencia de metástasis, recurrencias tumorales, muerte por enfermedad metastásica, menor intervalo libre de enfermedad y sobrevida global más corta.^{5,6}

Los factores de pronóstico tradicionales son utilizados para decidir conductas, pero tienen una limitación en cuanto a pronóstico y predicción de respuesta al tratamiento en pacientes individuales, identifican grupos de riesgo pero con connotaciones terapéuticas muy generales, porque tumores con características similares pueden tener un curso diferente.¹ La clasificación molecular permite identificar a los tumores con peor pronóstico y determina la posibilidad de suministrar tratamientos más selectivos. Esta clasificación dividió al cáncer de mama en diferentes subtipos, cada uno con un valor de pronóstico y predicción:⁷ luminal A, luminal B, HER-2, *normal breast like* y *el basal like*.

El grupo HER-2 tiene una alta expresión de receptores HER-2/neu y baja expresión de receptores hormonales y genes asociados. Corresponden al 15% al 20% de las cánceres de mama,⁸ generalmente son receptores negativos y se asocian a alto grado tumoral y ganglios positivos.⁹⁻¹²

El HER-2/neu (human epidermal growth factor receptor 2) es una proteína transmembrana que tiene un rol primordial en la transducción de señales de factores de crecimiento.^{13,14} El HER-2 forma parte de la familia de receptores HER, la cual comprende cuatro receptores de factores de crecimiento: HER1 (también conocido como el receptor del factor de crecimiento epidérmico [EGFR: epidermal growth factor receptor]), HER-2, HER-3 y HER-4.¹⁵ El HER-2 regula una compleja cascada de transducción de

señales que influye en muchos procesos celulares, incluyendo la proliferación, crecimiento e inhibición de la apoptosis.¹⁴ También está relacionado con la angiogénesis.

El cáncer de mama HER-2/neu positivo se caracteriza por la sobreexpresión del receptor de membrana como la amplificación del número de copias del gen que lo codifica, adquiriendo la célula un fenotipo de mayor agresividad en términos de proliferación celular, invasión y metástasis.

Las pacientes que sobreexpresan el HER-2/neu tienen un pobre pronóstico asociado a una menor sobrevida global, con respecto de las pacientes que no lo sobreexpresan, independientemente del estado ganglionar, marcando diferencia en las axilas positivas y además menor tiempo a la recurrencia que ronda entre los 14 y 16 meses.^{7,16-18}

En el año 2005 Saint Gallen lo reconoce como factor de pronóstico independiente. Hoy se agrega a los factores de pronóstico clásicos de receptores hormonales, sumado al Ki 67.

También la sobreexpresión del HER-2/neu ha sido correlacionada con características tumorales histopatológicas de peor pronóstico, tales como alto grado histológico, aumento del tamaño tumoral, neovascularización (angiogénesis), aumento del compromiso ganglionar axilar, mutación frecuente de la p53, Bcl-2 negativo, baja expresión o receptores hormonales negativos.^{9-12,19,20}

Si se comprueba un estado HER-2 positivo, puede predecirse la eficacia clínica de HER-2 como blanco terapéutico,^{21,22} asimismo podría indicar la respuesta o el potencial de resistencia del tumor a ciertos tipos de quimioterapia y terapia hormonal/endocrina,²³⁻²⁵ e inclusive la respuesta a tamoxifeno en tumores RE+.^{10,26-28} El tratamiento dirigido a HER-2 ha tenido un impacto significativo, que se traduce en mejores resultados clínicos.^{22,29,30}

La terapia blanco disponible hoy en día es el anticuerpo monoclonal trastuzumab y los pró-

ximos a aprobarse su uso, con el pertuzumab y TDM1. También se encuentran las pequeñas moléculas inhibitoras de la tirosina quinasa como el lapatinib.

Las técnicas validadas para la evaluación del estado HER-2 son inmunohistoquímica (IHC) e hibridación in situ por fluorescencia (FISH).

La medición semicuantitativa utilizando inmunohistoquímica (IHC) mide la concentración de la proteína que se encuentra en la superficie celular. El sistema de puntuación recomendado evalúa el porcentaje de células que presentan tinción completa de la membrana y la intensidad de la misma para definir el resultado HER-2. Se considera que las muestras que obtienen resultado IHC 3+ son HER-2 positivo y las de IHC 0/1+ HER-2 negativo. Las muestras con resultado IHC 2+ se consideran confusas y deben ser reevaluadas utilizando FISH. Las muestras IHC 2+/FISH positivo se clasifican como HER-2 positivo.³¹ Los tests validados para determinar por inmunohistoquímica la sobreexpresión del HER-2/neu son el Hercep-test™ (DAKO) que utiliza el anticuerpo monoclonal A0485, Pathway/Confirm HER-2/neu (4B5)™, utiliza el anticuerpo monoclonal 4B5 y el In-Site™ HER-2/neu/Oracle™ (Biogenex/Leica), utiliza el AC monoclonal CB11.

Se dispone de varias publicaciones donde, utilizando estos métodos y siguiendo las normativas del Hercep-test, se ha hallado gran variabilidad en la detección de la sobreexpresión del HER-2.³²⁻³⁵

Se ha reportado una variabilidad interobservador de entre el 21% y 29% en la interpretación de los resultados.³⁶

El FISH (hibridación in situ por fluorescencia), el CISH (hibridación in situ cromogénica) y el SISH (hibridación con plata), permiten estudiar la amplificación del gen en el interior de la célula. El test FISH es una metodología de campo oscuro que utiliza sondas de ADN etiquetadas con fluorescencia para cuantificar el nivel de amplificación del gen HER-2.

Las sondas HER-2 se dirigen contra la locación del gen HER-2 en el cromosoma 17. Las sondas CEP17 se dirigen contra la región central del cromosoma 17.

Los resultados se expresan como la proporción de copias del gen HER-2 por número de copias del cromosoma 17. La definición de FISH positivo utilizando kits de evaluación FISH de dos sondas, está dada por la proporción HER-2: CEP17 \geq 2,2 y/o más de 6 señales por núcleo de copias del gen.

Pacientes con resultado equívoco o dudoso (IHC 2+) en la inmunohistoquímica (5%) deben ser nuevamente testeadas con FISH para ver si realmente son positivas (aproximadamente 25% de los IHC 2+).

El test CISH es un método de campo brillante que utiliza sondas de ADN etiquetadas para cuantificar el nivel de amplificación del gen HER-2 y emite una señal cromogénica. Las señales CISH aparecen como puntos de color marrón. Las células normales presentan dos puntos por núcleo.

OBJETIVO

Describir la asociación entre las características del cáncer de mama primariamente operable y el HER-2/neu evaluado por inmunohistoquímica.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se analizaron retrospectivamente un total de 267 historias clínicas de pacientes con diagnóstico de carcinoma invasivo de mama en el Hospital Ramón Madariaga de Posadas, Misiones, comprendida entre el período enero de 2007 al 30 de agosto del 2012.

Se excluyeron del análisis las historias clínicas de pacientes que presentaban recaídas tumorales o tratamiento neoadyuvante y aquellas que poseían datos incompletos. La muestra final analizada quedó conformada por historias clíni-

cas de 95 pacientes.

Los siguientes factores fueron evaluados: la edad de las pacientes al momento del diagnóstico, tamaño tumoral, grado histológico, estado de los ganglios axilares, receptores de estrógeno, progesterona y el estado del HER-2/neu.

La edad de las pacientes resulta de la anamnesis, DNI y lo establecido en la historia clínica al momento del diagnóstico. Se consideró la edad de las pacientes al momento del diagnóstico en 2 grupos, menor o igual a 50 años y mayores a 50 años. El tamaño tumoral ha sido evaluado por medición ecográfica en tres dimensiones: transversal, anterior posterior y cráneo caudal, tomando como medida para el trabajo la que corresponde a su mayor diámetro. Ha sido realizado por el mismo operador en una primera etapa con ecógrafo Medison Sonoace 1500 y posteriormente con ecógrafo Esaote Mylab 70, considerando dos grupos con tamaño tumoral menor o igual a 20 mm y mayor a 20 mm. El grado histológico fue desarrollado acorde a la clasificación del sistema de score de Scarf-Bloom-Richardson que incluye el grado nuclear, el número de mitosis y la formación de túbulos; para el análisis de esta variable se generaron dos grupos: el primero compuesto por los grado 1 y 2, y el segundo sólo el grado 3. El estado ganglionar fue evaluado mediante estudio histopatológico diferido con técnica de coloración con hematoxilina-eosina, asumiendo como positivos o con compromiso metastásico cuando presentaban criterios de micrometástasis (evaluado por IHC) hasta el compromiso total con efracción capsular incluyendo estados intermedios. En el grupo de pacientes incluidas en el trabajo se registran 5 estudios de ganglios centinela.

El estado de los receptores hormonales, receptores de estrógeno (RE) y receptores de progesterona (RP) fue evaluado con anticuerpos monoclonales mediante técnica de inmunohistoquímica en muestras de tejidos incluidos en parafina. Se utilizaron anticuerpos monoclonales Novocastra Clon 6F11 para RE, cuyo antígeno

	n	%
HER-2/neu		
Negativo (score 0, 1+, 2+)	46	48,42
Positivo (score 3+)	49	51,57
Receptor RE		
Positivo	43	45,26
Negativo	52	54,73
Receptor RP		
Positivo	43	45,26
Negativo	52	54,73
Grado del tumor		
1	4	4,21
2	58	61,05
3	33	34,73
Tamaño tumoral		
Menor o igual a 20 mm	56	59,00
Mayor a 20 mm	39	41,00
Estado ganglionar		
Negativo	45	47,36
Positivo	50	52,63
Edad		
Menor o igual a 50 años	62	65,26
Mayor a 50 años	33	34,73
n: Número de casos. %: Porcentaje de casos.		

Tabla I. Características clínico-patológicas.

es la proteína alfa de RE y Clon 16 para RP, cuyo antígeno es la región aminoterminal de la forma A del receptor humano de progesterona. Se utilizó como sistema de visualización el método avidina-biotina, ABC VECTOR Elite, y como sistema de revelado el cromógeno DAB (3'-3' tetraclorhidrato dediaminobenzidina). Se utilizó como criterio de evaluación positivo igual o mayor al 5% de células tumorales con núcleos positivos tanto para RE como RP.

El estado del HER-2/neu fue evaluado por IHC en forma semicuantitativa. El sistema de puntuación porcentual de BIOGENEX que utiliza el anticuerpo monoclonal Clon CB11 validado por la FDA, define como negativo (-) <5%, positivo débil (+) <25%, positivo moderado (++) entre 25% y 75% y positivo intenso (+++) >75%. Para el análisis se consideró HER-2/neu positivo cuando presentaba un resultado de positivo intenso (+++).

Se utilizó para examinar las variables categóricas la prueba de chi-cuadrado de Pearson y

	HER-2 (negativo +/++)	HER-2 (positivo +++)	OR (IC 95%)	Valor p
Receptores hormonales				
RE negativo	13 (25,00%)	39 (75,00%)	9,90 (3,845-25,491)	<0,001
RE positivo	33 (76,74%)	10 (23,25%)		
RP negativo	14 (26,92%)	38 (73,07%)	7,89 (3,150-19,796)	<0,001
RP positivo	32 (74,41%)	11 (25,58%)		
Grado diferenciación tumoral				
G3	17 (51,51%)	16 (48,48%)	0,82 (0,355-1,926)	0,660
G1/G2	29 (46,77%)	33 (53,22%)		
Tamaño tumoral				
Menor o igual a 20 mm	24 (42,85%)	32 (57,14%)	1,72 (0,756-3,938)	0,193
Mayor a 20 mm	22 (56,41%)	17 (43,58%)		
Ganglios axilares				
Positivos	24 (48,00%)	26 (52,00%)	1,03 (0,463-2,320)	0,931
Negativos	22 (48,88%)	23 (51,11%)		
Edad				
Mayor a 50 años	28 (45,16%)	34 (54,83%)	1,45 (0,624-3,404)	0,384
Menor o igual a 50 años	18 (54,54%)	15 (45,45%)		

Tabla II. Análisis univariado sobre HER-2/neu sobreexpresado en cáncer de mama primariamente operable.

cuando los valores observados fueron menores a 5 la prueba de Fisher. Las medidas de riesgo se obtuvieron mediante las razones de posibilidades *odds ratio* (OR) con intervalos de confianza de 95% (IC 95%) y para el análisis multivariado se empleó regresión logística binaria con el método introducir. Las pruebas estadísticas fueron de dos caras y $p < 0,05$ se consideró estadísticamente significativo. Todos los análisis estadísticos fueron desarrollados con el programa SPSS versión 11.5 para Windows (SPSS Inc, Chicago, Illinois, EE.UU.).

RESULTADOS

Las características clínicas y anatomopatológicas de las 95 mujeres con cáncer de mama

primariamente operable se observan en la Tabla I, el HER-2/neu se sobreexpresa en el 51,6% de todas las pacientes incluidas en el análisis del estudio.

En el análisis univariado (Tabla II) se halló que las mujeres con RE- o RP- presentaban un riesgo de tener HER-2/neu positivo, 9 y 7 veces superior (*odds ratio* 9,9 y 7,89; $p < 0,001$) que las que presentaban RE+ y RP+, respectivamente. No se observó asociación y riesgo con las variables grado tumoral (GT), estado ganglionar (EG), tamaño tumoral (TT) y edad. Sin embargo, en el análisis multivariado (Tabla III) queda expuesto que el RE es la única predicción de HER-2/neu independiente de RP, GT, EG, TT y edad (OR= 9,655; $p = 0,019$).

La Tabla IV muestra la frecuencia del HER-

	Odds ratio	IC 95%	Valor p
Estadio de receptor estrógeno (negativo <i>versus</i> positivo)	9,655	1,450-64,290	0,019
Estadio de receptor progesterona (negativo <i>versus</i> positivo)	1,392	0,217-8,952	0,727
Grado tumoral (grado 3 <i>versus</i> grados 1 y 2)	0,571	0,199-1,642	0,298
Tamaño del tumor (<20 mm <i>versus</i> ≥20 mm)	1,364	0,473-3,929	0,566
Ganglios linfáticos (positivos <i>versus</i> negativos)	0,851	0,301-2,405	0,760
Edad (mayor de 50 años <i>versus</i> menor o igual a 50 años)	2,570	0,887-7,442	0,082

Tabla III. Factores de predicción de la sobreexpresión del HER-2/neu (análisis multivariado).

2/neu positivo en los diferentes fenotipos (RE-/RP-, RE-/RP+, RE+/RP- y RE+/RP+) de cánceres de mama. La frecuencia de sobreexpresión del HER-2/neu se redujo significativamente de RE-/RP- a RE+/RP+ (75,51% a 22,5%; $p < 0,001$).

Al realizar el análisis de asociación de predicción de sobreexpresión del HER-2/neu, seleccionando únicamente a las pacientes ER+ (Tablas V y VI), no se encontraron asociaciones con las variables PR, GT, EG, TT y edad.

DISCUSIÓN

Se ha comparado la relación entre la sobreexpresión del HER-2/neu y los receptores hormonales en los cánceres de mama primariamente operables, considerados por separados RE, RP y fenotipos RE/RP. En el modelo multivariable el RE negativo ha demostrado ser la única predicción independiente de la sobreexpresión del HER-2/neu.

Para el análisis de los fenotipos RE/RP, la probabilidad de sobreexpresión del HER-2 disminuye significativamente desde el subgrupo RE-/RP- al subgrupo RE+/RP+.³⁷

Existe evidencia de la correlación inversa

	HER-2/neu		Total
	Negativo	Positivo	
RE-/RP-	12 (24,48%)	37 (75,51%)	49
RE-/RP+	1 (33,33%)	2 (66,66%)	3
RE+/RP-	2 (66,66%)	1 (33,33%)	3
RE+/RP+	31 (77,50%)	9 (22,50%)	40
TOTAL	46	49	95

Tabla IV. Frecuencia de sobreexpresión HER-2/neu con relación al estado RE/RP.

entre la presencia del RE y la concentración de la proteína HER-2/neu.³⁸

Los resultados de esta serie, coinciden con numerosos estudios que reflejan una correlación inversa entre el HER-2 y los RH, especialmente con el RE.³⁹⁻⁴¹ Asociando el papel del estrógeno en la supresión del HER-2,^{42,43} explica la pérdida de la expresión de los RE en las mujeres con cáncer de mama HER-2 positivo, además de ser indicador de resistencia a los esquemas de tratamiento que no contienen antraciclinas y taxanos, como el CMF (ciclofosfamida, metotrexato y 5 flurorouracilo) y de mejor respuesta a los inhibidores de la aromatasas que al tamoxifeno.^{10,26,27,44,45} El grado histológico es un factor de pronóstico que juega un papel importante para el manejo clínico de los tumores mamarios.

	HER-2 (negativo +/++)	HER-2 (positivo +++)	OR	IC 95%	Valor p
Receptores hormonales					
RP negativo	2 (66,66%)	1 (33,33%)	1,720	0,140-21,246	0,558
RP positivo	31 (77,50%)	9 (22,50%)			
Grado diferenciación tumoral					
G3	9 (69,23%)	4 (30,76%)	1,778	0,405-7,802	0,458
G1/G2	24 (80,00%)	6 (20,00%)			
Tamaño tumoral					
Menor o igual a 20 mm	15 (71,40%)	6 (28,60%)	1,800	0,427-7,588	0,488
Mayor a 20 mm	18 (81,80%)	4 (18,20%)			
Ganglios axilares					
Positivos	16 (76,19%)	5 (23,80%)	1,063	0,258-4,374	0,933
Negativos	17 (77,27%)	5 (22,72%)			
Edad					
Mayor a 50 años	22 (71,00%)	9 (29,00%)	4,500	0,504-40,172	0,237
Menor o igual a 50 años	11 (91,70%)	1 (8,30%)			

Tabla V. Factores de predicción de la sobreexpresión de HER-2/neu en RE+ (análisis univariado).

	Odds ratio	IC 95%	Valor p
Estadio de receptor progesterona (negativo <i>versus</i> positivo)	1,287	0,065-25,339	0,868
Grado tumoral (grado 3 <i>versus</i> grados 1 y 2)	1,695	0,343-8,366	0,517
Tamaño del tumor (<20 mm <i>versus</i> ≥20 mm)	2,725	0,470-15,806	0,264
Ganglios linfáticos (positivos <i>versus</i> negativos)	0,638	0,108-3,778	0,621
Edad (mayor de 50 años <i>versus</i> menor o igual a 50 años)	6,550	0,645-66,521	0,112

Tabla VI. Factores de predicción de la sobreexpresión del HER-2/neu en cáncer de mama (análisis multivariado).

Su aumento se encuentra asociado a un peor pronóstico y a una menor supervivencia global.⁴⁶ Hay estudios que con un número significativo de pacientes han logrado demostrar su rol como predicción de la sobreexpresión del HER-2/neu.¹² En este estudio no se confirma su relación con el HER-2.

Es probable que el bajo número de casos y controles, en comparación con otros estudios, podría explicar esta falta de asociación entre estas variables y el estado del HER-2/neu, como es el caso particular del grado de diferenciación histológica G3 y RP negativo, que con un número mayor de casos en análisis multivariantes los presentan como predicción independiente.¹² En el presente trabajo tampoco se demostró relación entre el resto de las variables tenidas en cuenta (edad, TT, EG) y el HER-2/neu, tanto en el análisis univariable como multivariable, coincidiendo con aquellos que reúnen mayor cantidad de casos.¹²

Un nuevo testeo con prueba de FISH para los casos de HER-2/neu (++) por IHC del presente trabajo, permitiría clasificar mejor estos casos y mejorar el análisis de los mismos.

Si bien la hormonoterapia fue la primera terapia blanco específica en el tratamiento del cáncer de mama, hoy los anticuerpos monoclonales como terapia blanco dirigida y aquellos tratamientos que surgen de la interpretación de los factores de pronóstico y predicción de la clasificación molecular, dentro de la oncología, fue tomado como un paradigma porque impactó positivamente en el pronóstico y la evolución de las pacientes que tengan acceso a terapias específicas.

CONCLUSIONES

Se examinó si el estado de los RE y RP, el grado tumoral y otros factores clínico-patológicos, en todas las mujeres con cáncer de mama primariamente operables, se asociaban a la sobreexpresión del HER-2/neu.

Los RE y RP se asociaron negativamente a la expresión del HER-2/neu; sin embargo, el estado del receptor de estrógeno resultó ser la única predicción independiente de la sobreexpresión del HER-2/neu, no así el receptor de progesterona, el tamaño y grado tumoral, los ganglios linfáticos y la edad.

REFERENCIAS

1. Pérez, et ál. Diagnóstico histopatológico y factores pronósticos en cáncer infiltrante de glándula mamaria. *Cancerología* 2008; 3: 7-17.
2. Hamilton A, Piccart M. The contribution of molecular markers to the prediction of response in the treatment of breast cancer: A review of the literature on Her-2, p53 and bcl2. *Ann Oncol* 2000; 11: 647-63.
3. Rosen PP, Groshen S, Kinne DW, et al. Factors influencing prognosis in node negative breast carcinoma. Analysis of 767 T1N0M0/T2N0M0 patients with long term follow up. *J Clin Oncol* 1993; 11: 2090-2100.
4. Fitzgibbons PL, Page DL, Weaver D, et al. Prognostic factors in breast cancer. College of American Pathologists. Consensus Statement 1999. *Arch Pathol Lab Med* 1999; 124: 966-78.
5. Hopton DS, Thorogood J, Clayden AD, et al. Histological grading of breast cancer: significance of grade on recurrence and mortality. *Eur J Surg Oncol* 1989; 15: 25-31.
6. Thoressen S. Histological grading and clinical stage at presentation in breast carcinoma. *Br J Cancer* 1982; 46: 457-458.

7. Sorlie T, Perou CM, Tibshirani R, Aas T, Geisler S, Johnsen H, et al. Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclass with clinical implications. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98: 10869-10874.
8. Shah S & Chen B. *Patholog Res Int* 2010; 2011: 903202.
9. Azizun-Nisa, Bhurgri Y, Raza F, Kayani N. Comparison of ER, PR and HER-2/neu (C-erb B 2) reactivity pattern with histologic grade, tumor size and lymph node status in breast cancer. *Asian Pac J Cancer Prev* 2008; 9(4): 553-6.
10. Konecny G, Pauletti G, Pegram M, et al. Quantitative association between HER-2/neu and steroid hormone receptors in hormone receptor-positive primary breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 2003; 95(2): 142-53.
11. Mothaffar F, Rimawi, Priya B, Shetty, Heidi L, Weiss, Rachel Schiff, C.Kent Osborne, Gary C. Chamness, Richard M. Elledge. EGFR expression in breast cancer association with biologic phenotype and clinical outcomes. *Cancer*. 2010; 116(5): 1234-1242.
12. Huang HJ, Neven P, Drijkoningen M, Paridaens R, Wildiers H, Van Limbergen E, Berteloot P, Amant F, Vergote I, Christiaens MR. Association between tumour characteristics and HER-2/neu by immunohistochemistry in 1362 women with primary operable breast cancer. *J Clin Pathol* 2005; 58(6): 611-6.
13. Coussens L, et al. *Science* 1985; 230: 1132-1139.
14. Slamon DJ, et al. *Science* 1989; 244: 707-712.
15. Spector NL, Blackwell KL. *J Clin Oncol* 2009; 27: 5838-5847.
16. Ciocca DR, Gago FE, Fanelli MA, Calderwood SK. Co-expression of steroid receptors (estrogen receptor alpha and/or progesterone receptors) and Her-2/neu: Clinical implications. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2006; 102(1-5): 32-40.
17. Pauletti G, et al. *J Clin Oncol* 2000; 18:3651-3664.
18. Slamon DJ, et al. *Science* 1987; 235: 177-182.
19. Sjogren S, Inganas M, Lindgren A, et al. Prognostic and predictive value of c-erbB-2 overexpression in primary breast cancer, alone and in combination with other prognostic markers. *J Clin Oncol* 1998; 16: 462-9.
20. Varga Z, Zhao J, Ohlschlegel C, et al. Preferential HER-2/neu overexpression and/or amplification in aggressive histological subtypes of invasive breast cancer. *Histopathology* 2004; 44: 332-8.
21. Pegram M, Slamon D. *Semin Oncol* 2000; 27(Suppl.): 13-19.
22. Slamon DJ, et al. *N Engl J Med* 2001; 344: 783-792.
23. Paik S, et al. *J Natl Cancer Inst* 2000; 92: 1991-1998.
24. Pritchard KI, et al. *N Engl J Med* 2006; 354: 2103-2111.
25. De Placido S, et al. *Clin Cancer Res* 2003; 9: 1039-1046.
26. Gago FE, Fanelli MA, Ciocca DR. Co-expression of steroid hormone receptors (estrogen receptor alpha and/or progesterone receptors) and HER-2/neu (c-erbB-2) in breast cancer: clinical outcome following tamoxifen-based adjuvant therapy. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2006; 98(1): 36-40.
27. Rastelli F, Crispino S. Factors predictive of response to hormone therapy in breast cancer. *Tumori* 2008; 94(3): 370-83.
28. Rastelli F, Crispino S. *Tumori* 2008; 94: 370-383.
29. Smith I, et al. *Lancet* 2007; 369: 29-36.
30. Piccart-Gebhart MJ, et al. *N Engl J Med* 2005; 353: 1659-1672.
31. Wolff AC, et al. *J Clin Oncol* 2007; 25: 118-145.
32. Gancerberg D, et al. Sensitivity of HER-2/neu antibodies in archival tissue samples of invasive breast carcinomas. Correlation with oncogene amplification in 160 cases. *Am J Clin Pathol* 2000; 113(5): 675-82.
33. Hanna WM, et al. Defining a test for HER-2/neu evaluation in breast cancer in the diagnostic setting. *Mod Pathol* 2001; 14(7): 677-85.
34. Jacobs TW, et al. Specificity of HercepTest in determining HER-2/neu status of breast cancers using the United States Food and Drug Administration-approved scoring system. *J Clin Oncol* 1999; 17(7): 1983-7.
35. Thomson TA, et al. HER-2/neu in breast cancer: inter-observer variability and performance of immunohistochemistry with four antibodies compared with fluorescent in situ hybridization. *Mod Pathol* 2001; 14: 1079-86.
36. Perez, et al. 2006, Press, et al. 2005, Paik, et al. 2002.
37. Arpino G, Weiss H, Lee AV, Schiff R, De Placido S, Osborne CK, Elledge RM. Estrogen receptor-positive, progesterone receptor-negative breast cancer: association with growth factor receptor expression and tamoxifen resistance. *J Natl Cancer Inst* 2005; 97(17): 1254-61.
38. Russell KS, Hung MC. Transcriptional repression of the neu protooncogene by estrogen stimulated estrogen receptor. *Cancer Res* 1992; 52: 6624-9.
39. Konecny G, Pauletti G, Pegram M, et al. Quantitative association between HER-2/neu and steroid hormone receptors in hormone receptor-positive primary breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 2003; 95: 142-53.
40. Taucher S, Rudas M, Mader RM, et al. Do we need HER-2/neu testing for all patients with primary breast carcinoma? *Cancer* 2003; 98: 2547-53.
41. Traina A, Agostara B, Marasá L, et al. HER-2/neu expression in relation to clinicopathologic features of breast cancer patients. *Ann N Y Acad Sci* 2006; 1089: 159-167.
42. Pietras RJ, Arboleda J, Reese DM, et al. HER-2 tiro-

- sine kinase pathway target estrogen receptors and promotes hormone independent growth in human breast cancer cells. *Oncogene* 1995; 10: 2435-2446.
43. Pietras RJ. Interactions between estrogen and growth factor receptors in human breast cancers and the tumor-associated vasculature. *Breast J* 2003; 9(5): 361-373.
 44. Miller WR. Identification of mechanisms of endocrine resistance. *Br Cancer Res* 2008, 10(Suppl 4): S19.
 45. Menard S, Valagussa P, Pilotti S, et al. Response to cyclophosphamide, metotrexate, and fluorouracil in lymph node-positive breast cancer according to HER-2 overexpression and other tumor biological variables. *J Clin Oncol* 2001; 19: 329-335.
 46. White J, Morrow M, Moughan J, et al. Compliance with breast conservation standards for patients with early stage breast carcinoma. *Cancer* 2003; 97: 893-904.

DEBATE

Dr. Etkin: No obligo ni espero una respuesta porque es una pregunta que habría que hacerla más a un básico y a un bioquímico. Con referencia a un trabajo de hace muchos años presentado por nosotros, en el cual hablamos de la posible existencia de falsos receptores positivos o receptores alterados a estradiol. Nosotros hacíamos en aquel momento por método bioquímico midiendo por fentomol por miligramos de proteína, respecto de ser positivo, negativo o relativo positivo de los receptores. Para tener una fidedigna determinación, hacíamos la estimulación con tamoxifeno una semana antes de la cirugía, con lo cual teníamos realmente el porcentaje de verdaderos positivos, respecto de los receptores de estrógeno. Utilizamos al revés de lo que dicen ustedes, como verdadero marcador de pronóstico de la posible hormono-respuesta, al receptor a progesterona, sin despreciar al receptor estradiol, pero le dábamos más preponderancia, que no se alteraba por el ambiente hormonal; hablo de la paciente en grupo etario menopáusico, no la paciente joven. Creo que esto es lo que podría determinar más la correlación del verdadero positivo, porque cuando

tenemos un falso positivo no podemos esperar una respuesta, inclusive a la correlación con el HER-2 o inclusive a la hormono-respuesta que no va a ser la esperada. Es un aporte y no una pregunta, salvo que alguno la pueda responder.

Dra. Pedermera: Lo que el Doctor habla de la estimulación, si nosotros en el tejido tuviéramos el dato de la estimulación y trabajáramos con los tiempos coherentes que dice la literatura para procesar la toma mínima para llevar a la inmunomarcación, hay muchos receptores de estrógeno o progesterona que dan negativos cuando el material no fue tratado adecuadamente. Toda la literatura médica aconseja que el taco que va a ser utilizado para los receptores sea en un plazo de 2 a 4 horas de extirpada la lesión. Muchas veces no nos llega el material en esos tiempos; entonces, corremos el riesgo de que no sean fidedignas las marcaciones. Cuando tenemos una duda del tiempo, a veces se repiten, pero no todos los laboratorios pueden y, hablo a nivel institucional hospitalario, no del área privada, donde no siempre es fácil repetir y dar con certeza el pronóstico exacto.

Dr. Martín: En realidad ustedes hablaron de receptores hormonales y el tema era más sobre HER-2. Lo más notable, y que nadie dijo nada, es que más del 50% de los casos eran HER-2 positivos. Es más del doble de lo que uno espera encontrar de HER-2 que puede ser 15%, 20% o 25%, 49 de 95 pacientes, es inaplicable.

Dr. Álvarez: Por eso lo había remarcado. En realidad se partió del análisis de 267 historias clínicas en ese período, con los criterios de inclusión quedaron 95 historias y el análisis fue que el 51% tenía sobreexpresado el HER-2. Una cosa que llamó la atención, por eso lo remarqué.

Dra. Pedermera: Llama la atención que sean casi un 50% y usted acaba de decir un dato, que es un estudio que han tomado tacos de un archivo; por lo tanto, sigo insistiendo que tiene que haber una sobreexpresión, porque es un tejido no tratado adecuadamente.

Dr. Álvarez: Una cosa que es importante aclarar, que el análisis de los receptores hormonales y del HER se hacen en una institución privada; o sea, el estudio histopatológico se lo hizo en el hospital y como el hospital hasta ese momento no tenía el kit para hacer el estudio de los receptores, se lo mandaba a una institución privada. Probablemente ahí podríamos explicar ese resultado.

Dr. Castaño: Mi pregunta es la siguiente, ¿tienen un 51% casi de HER-2 positivo 3 cruces?

Dr. Álvarez: En esa población.

Dr. Castaño: ¿En ninguno tienen 2 cruces? ¿En ninguno refrendaron por el método FISH o CISH?

Dr. Álvarez: En materiales y métodos aclaré que solamente se incluyeron las 3 cruces porque no teníamos la posibilidad de hacer FISH.

Dr. Castaño: Dra. Frahm, usted en su experiencia, ¿cómo podría explicar un 51% de HER-2 positivo?

Dra. Frahm: Pido disculpas porque recién llegué, no escuché el trabajo. Lo entiendo como que no está bien interpretado. Salvo que sea una población muy sesgada, en la cual todas las lesiones tumorales son de alto grado, con metástasis, pacientes jóvenes que tienen las características clínicas como para que sea una población que exprese HER-2, que tengo entendido que no es este el caso. El porcentaje de sobreexpresión de HER-2 interpretado por inmunohistoquímica aceptado en la Argentina, no es superior a un 15% para 3+ positivo. La evaluación que se debe realizar es con tinción de membrana fuerte en un 10% o 30% de las células tumorales en el área infiltrante. Creo que puede ser que haya un error en la realización de la técnica, no sé cuales son los anticuerpos que utilizaron. Puede ser también, como dice la Dra. Pedernera, que sea material de archivo, que se hayan tomado como positivas áreas que no eran sólo la membrana; pero realmente esas cifras hoy para mí no son aceptables.