

SESIONES CIENTÍFICAS

PROGRAMA NACIONAL DE DIAGNÓSTICO DE LA SOBREENPRESIÓN DE HER2 EN PACIENTES CON CÁNCER DE MAMA

Valeria Cáceres,^a Gabriela Acosta,^b Sandra Sarancone,^c Antonio Arra,^d Martín Paradelo,^e
Alejandro López Presas,^f Inés Bravo,^g Daniel Martins,^h Gabriela Marraco,ⁱ Néstor Lago,^j
Patricia Calafat,^k Julián Mosto,^l Jorge Zoppi,^m Telma Glatstein,ⁿ Miguel Urbano Martínez,^o
Jorge Palazzi,^p Silvia Columbo,^q Isabel Frahm^r

RESUMEN

Introducción

Por medio de la realización del testeo de la sobreexpresión y/o amplificación de HER2 los médicos pueden seleccionar adecuadamente a las pacientes que se beneficiarán de la terapia anti HER2.

En Argentina, antes de 2003 sólo pocos patólogos realizaban la prueba de HER2 utilizando métodos no estandarizados de inmunohistoquímica (IHQ) con resultados dudosos y no reproducibles y además existiendo algunas partes del país sin posibilidades de diagnóstico.

Objetivo

Generar un Programa Nacional de Detección de la Sobreexpresión de HER2 que permita el acceso al diagnóstico en todo el país, mediante una técnica estandarizada y validada.

Integrar un equipo de patólogos entrenados en IHC, que pudieran satisfacer las demandas realizando en forma rápida y fidedigna la detección de la sobreexpresión de HER2.

Materiales y método

En agosto de 2003 se formó una red de trece patólogos; dentro del grupo se designó un coordinador, responsable del entrenamiento y la evaluación de los centros participantes, y dos consultores técnicos a cargo del control de calidad (interno y externo) y la estandarización de la técnica.

a) Productos Roche SAQel, Argentina. b) Hospital de Oncología María Curie, Buenos Aires. c) Laboratorio Quantum, Clínica de Diagnóstico Médico, Rosario. d) Laboratorio Privado de Patología Buenos Aires. e) Hospital San Roque, Córdoba. f) Hospital Zonal Especializado de Oncología (HZO) Lanús, Buenos Aires. g) Hospital Eva Perón, San Martín, Buenos Aires. h) Servicio de Patología Higa Dr. Diego Paroissien, Provincia de Buenos Aires. i) Hospital Durand, Buenos Aires. j) Hospital Aeronáutico, Buenos Aires. k) Hospital Privado de Córdoba. l) Laboratorio Privado de Patología. m) Hospital Privado de Comunidad de Mar del Plata. n) Hospital Néstor Lencinas, Mendoza. o) CEPAC (Centro de Patología y Citología), Mendoza. p) IICT Labs Rosario, Argentina. q) Hospital de Tucumán, San Miguel de Tucumán. r) Sanatorio Mater Dei, Buenos Aires.

Desde febrero de 2004 hasta diciembre de 2010 se realizaron las determinaciones de la sobreexpresión de HER2 mediante la técnica de IHC, con un anticuerpo policlonal anti HER2 (Dako), recuperación antigénica en microondas, sistema de detección EnVision (Dako) y revelado con diaminobenzidina.

Para interpretar los resultados se usó el *score* de 0 a 3+, considerándose positivos tumores que muestren intensidad moderada (2+) o intensa (3+) en toda la membrana celular, en más del 30% de las células evaluadas.

Resultados

Se realizaron 34.640 casos (Figura 5).

Conclusiones

La formación del Programa Nacional de HER2 permitió el acceso al test de HER2 en todo el país con una técnica estandarizada y reproducible en todos los centros participantes.

La prevalencia de HER2 en nuestra muestra fue del 13,2% (4.573) y similar a las publicadas en otras poblaciones.

Recomendamos la realización de FISH para aquellos tumores con sobreexpresión de HER2 por IHQ de 2+, de acuerdo a los algoritmos internacionales.

Palabras clave

HER2. Inmunohistoquímica. Trastuzumab. Cáncer de mama HER2 positivo.

SUMMARY

Introduction

By testing for HER2 overexpression, physicians can accurately select patients likely to benefit from trastuzumab therapy.

In Argentina, before 2003 only few pathologists performed HER2 testing, using different non-standardized IHC methods with dubious and non-reproducible results and also leaving some parts of the country isolated with no possibility of HER 2 overexpression diagnosis.

Objective

HER-2 testing has a key role in the management of breast cancer, so the aim of the study was to settle a National HER2 test Program to permit access to standardized HER2 detection all over the country.

Material and methods

In August 2003, thirteen pathologists formed a cooperative group and created a national framework to train and set HER2 diagnostic centers in each country region. A coordinator responsible for coaching and evaluating centers and two technical consultants in charge of quality control and technique standardization were designated.

In February 2004, the program was launched. Tumors were received from oncologists and breast surgeons, using a private courier created "ad hoc".

HER2 overexpression was analyzed by Immunohistochemical (IHC) test between February 2004 and December 2010.

HER2 analysis was performed using policlonal antibody anti HER2 (Dako), microwave antigenic recovery, detection system EnVision (Dako) and developed with diaminobenzidine. Results were interpreted as HercepTest® guideline's.

Results

34,640 HER2 tests were performed (Figure 5).

Conclusions

Founding HER2 National Program allowed access to HER2 testing all over the country with a standardized and reproducible technique in participating diagnosis centers.

HER2/neu+ prevalence in our sample 13,2% (4,573) is similar to those previously published in other populations.

We strongly recommend FISH for HER2 2+ tumors according to international algorithms.

Key words

HER2 testing. Immunohistochemical. Trastuzumab. Breast cancer HER2 overexpression.

INTRODUCCIÓN

El cáncer de mama es una enfermedad heterogénea con un comportamiento clínico y biológico altamente variable, definiéndose distintos subgrupos dentro de la misma enfermedad; el cáncer de mama HER2 positivo, es uno de ellos.

Esta entidad se distingue por la amplificación del oncogén HER2/neu y/o la sobreexpresión de la proteína HER2, además de la disponibilidad de terapias blanco dirigidas, como el anticuerpo monoclonal trastuzumab y el inhibidor de la tirosina-quinasa, lapatinib.

Todas las células epiteliales normales contienen dos copias del gen HER2/neu y expresan bajos niveles del receptor HER2 en la superficie celular. En algunos casos durante la transformación oncogénica el número de copias del gen por célula aumenta (amplificación), con el consecuente incremento de la transcripción del mRNA y del número de receptores en la membrana celular (sobreexpresión).

Aproximadamente 20% de las pacientes con cáncer de mama tienen tumores que sobreexpresan y/o amplifican el HER2/neu,¹⁻⁷ un importante indicador de pronóstico involucrado en el enfoque clínico y terapéutico de la enfermedad.

El c-erb B-2 y el HER2/neu, son dos siglas que describen a la misma molécula, el producto del oncogén presente en el cromosoma 17 en los seres humanos y vinculado a la regulación del crecimiento y diferenciación celular y al de-

sarrollo tumoral.^{8,9}

El oncogén c-erb B-2 pertenece a la misma familia que el EGFR y codifica para la proteína de transmembrana HER2, de 185 kD, con actividad intracelular de tirosina-quinasa que activa una cascada de señales hacia el núcleo con activación del gen.^{10,11}

El receptor de HER2 no tiene identificado un ligando, pero tiene la capacidad de formar un homodímero (HER2-HER2) o un heterodímero con otros miembros de la familia HER para la activación de la cascada de señales intracelulares relacionadas con la regulación del crecimiento celular.^{12,13}

Los estudios in vivo e in vitro indican que la amplificación del gen HER2 y la sobreexpresión de la proteína juegan un rol clave en la carcinogénesis y metástasis.

La transfección (incorporación de ADN exógeno en la célula) del gen HER2 en líneas celulares humanas de cáncer de mama y cáncer de ovario,^{14,15} produce características de crecimiento más agresivas: aumento de la síntesis de ADN, crecimiento celular, crecimiento en agar in vitro, tumorigenicidad y potencial metastásico en ratones atímicos.¹⁷

El crecimiento de tumores y de líneas celulares de cáncer de mama que sobreexpresan el receptor de HER2 es inhibido por anticuerpos monoclonales anti HER2 e inhibidores de la tirosina-quinasa.

La sobreexpresión del receptor del factor de

crecimiento epidérmico 2 (HER2) constituye un factor de mal pronóstico asociado a alto grado histológico,^{18,19} mayor agresividad biológica, menor sobrevida global y menor sobrevida libre de enfermedad,¹⁶ menor expresión de receptores hormonales²⁰ y mayor riesgo de metástasis.²¹

Las variables de predicción tradicionales de pronóstico en cáncer de mama incluyen tipo histológico, tamaño y grado histológico tumoral, compromiso ganglionar, invasión vascular, estatus de receptores de estrógeno y progesterona, índice de proliferación celular; fase S y ploidía.

Si bien es ampliamente conocida la influencia en la decisión terapéutica del tamaño y grado histológico tumoral, el compromiso ganglionar y los receptores hormonales, el Noveno Panel de Consenso de Expertos de Saint Gallen (Suiza) en enero de 2005, realizó un cambio fundamental en el algoritmo para la selección de terapia adyuvante. El panel adicionó la sobreexpresión y/o amplificación del gen HER2/neu, para asignar categoría de riesgo (asociación a peor pronóstico). El grupo de expertos, además, destacó el valor de predicción de HER2; es decir, la menor probabilidad de respuesta al tamoxifeno; sugiriendo, además, la realización de tratamiento con taxanos y antraciclinas, en lugar de CMF (ciclofosfamida, metotrexato y 5-fluorouracilo)²² en este subgrupo.

En el Panel reunido en marzo de 2007³⁰ se acordó, como cambio desde el anterior Consenso, la adición de trastuzumab como tratamiento adyuvante de elección en pacientes HER2 positivas, con riesgo intermedio y alto.

En el último panel de marzo de 2011 de recomendaciones, consenso y controversias, cuyos resultados no están publicados aún, focalizado en estrategias para enfrentar la diversidad del cáncer de mama temprano, nuevamente hizo hincapié en las terapias blanco dirigidas.

Se analizaron las siguientes preguntas:

¿Es el trastuzumab por un año junto con quimioterapia concurrente, usualmente un taxano, el tratamiento adyuvante estándar para el

fenotipo HER2 positivo? El 100% de los expertos dio el voto afirmativo.

Una pregunta muy interesante fue si los especialistas aún lo consideraban un tratamiento válido entre 5 mm y menos de 1 cm. La respuesta fue positiva en 78,7%, y negativa en el 14,9% con abstenciones del 6,4%. Incluso se exploró la opción terapéutica en tumores T1a, con las siguientes respuestas: afirmativa 23,9%, negativa 60,9% y abstenciones 15,2%; basándose en publicaciones de grandes series de pacientes que en esas situaciones experimentaron recurrencias de hasta el 23% sin terapia blanco dirigida.^{39,40}

Teniendo en cuenta esta conclusión, se hizo especial énfasis en la necesidad de test de alta calidad para la determinación de la sobreexpresión de HER2 y se destacó que este punto se convirtió en el eje de la decisión terapéutica.

La sobreexpresión de HER2 también predice la respuesta al anticuerpo monoclonal humanizado trastuzumab (Herceptin, Genentech, South San Francisco, CA), que se liga al receptor del HER2/neu² y ha demostrado un significativo beneficio en la sobrevida en pacientes con cáncer de mama HER2 positivo.³ Dennis Slamon publicó en 1991 la ventaja en la sobrevida de las pacientes con cáncer de mama metastásico que recibían la asociación de paclitaxel con trastuzumab.³¹ Se ha descrito en cáncer de mama temprano que la asociación de quimioterapia estándar a trastuzumab aumenta la sobrevida libre de enfermedad en un 50% y disminuye el riesgo de muerte en un 30%.³²⁻³⁴

Estos hallazgos se han repetido en tratamientos neoadyuvantes, donde además se alcanzan tasas de respuestas completas patológicas de alrededor del 50%.^{35,36}

El mecanismo de acción propuesto para el trastuzumab incluye *down-regulation* de la sobreexpresión de HER2, degradación acelerada del receptor, disrupción de la formación del heterodímero del receptor, señal alterada de transducción e inducción de citotoxicidad mediada

por anticuerpo.

El bloqueo permanente del HER2 en pacientes progresadas a trastuzumab, con trastuzumab más quimioterapia o trastuzumab y lapatinib han demostrado ventajas significativas en la sobrevida libre de progresión y una tendencia favorable en la sobrevida global.^{41,42}

Además, en pacientes progresadas a trastuzumab, taxanos y antraciclinas, la asociación de lapatinib y capecitabina ha aumentado el tiempo libre a la progresión, comparado con capecitabina monoterapia, en este grupo de pacientes con enfermedad avanzada.³⁷

En suma, realizando la determinación de HER2 puede seleccionarse a las pacientes que se beneficiarán de la terapia anti HER2; además, existen reportes que sostienen que se podría predecir resistencia al tamoxifeno²³⁻²⁵ y mejores tasas de respuesta a regímenes quimioterápicos basados en taxanos y antraciclinas.²⁶

El método ideal para su detección debe ser simple en la realización, específico, sensible, estandarizado, reproducible, estable en el tiempo y que pueda realizarse sobre muestras de biopsias incluidas en parafina.

El test más utilizado para la detección de HER2 es la inmunohistoquímica (IHC) que mide la sobreexpresión de la proteína HER2.

La determinación de HER2 por IHC detecta los niveles de la proteína (receptor) en su mayor parte extraacelular y de transmembrana.

Las ventajas de la IHC es que ha sido adaptada específicamente para la detección de la proteína HER2, utilizando anticuerpos específicos; puede realizarse en tejidos frescos o de archivo y emplea recursos técnicos y humanos ya disponibles en un laboratorio de patología.²⁷

Las desventajas son que la IHC utiliza distintos anticuerpos con variadas afinidades de unión y diferentes especificidades de epitopes, creando, en consecuencia, diferencias en los resultados; y que los sistemas de puntuación de la sobreexpresión pueden diferir con medidas subjetivas de la intensidad y el patrón de tinción.

Sin embargo, con la estandarización de los test, el apropiado control de calidad, el seguimiento de *scores*, la técnica de IHC puede mejorarse; y es además reproducible, ya que las muestras que se realizan son permanentes y permiten interconsultas.

Otro método utilizado para la determinación de HER2, es el FISH (hibridación in situ con fluorescencia), que mide la amplificación del gen HER2/neu. FISH puede realizarse también con pequeñas muestras de tejido y tiene extrema sensibilidad para detectar amplificación en una sección histológica. Lamentablemente, FISH no está disponible en los laboratorios hospitalarios y el costo de la determinación es más alto.

Existen además los métodos de CISH y SISH para determinación de la amplificación génica.

En nuestro país se implementó un "Plan de Trabajo" a nivel nacional para coordinar el diagnóstico de la sobreexpresión de HER2 y brindar un nuevo servicio al cuerpo médico que cubriera una necesidad real, no satisfecha en nuestra población.

OBJETIVOS

Implementación de un programa que permita el acceso al diagnóstico de HER2 en todo el país en forma reproducible y estandarizada.

Generar un equipo de patólogos entrenados en IHC en todo el país, que pudieran satisfacer las demandas, realizando en forma rápida y fidedigna la detección de la sobreexpresión de HER2.

MATERIALES Y MÉTODO

Para ello se designó en agosto de 2003 un *Advisory Board*, compuesto por un coordinador y dos consultores. Este comité de expertos convocó a los centros de diagnóstico considerando su ubicación geográfica, la posibilidad de aceptar derivaciones de otros centros, la interrelación

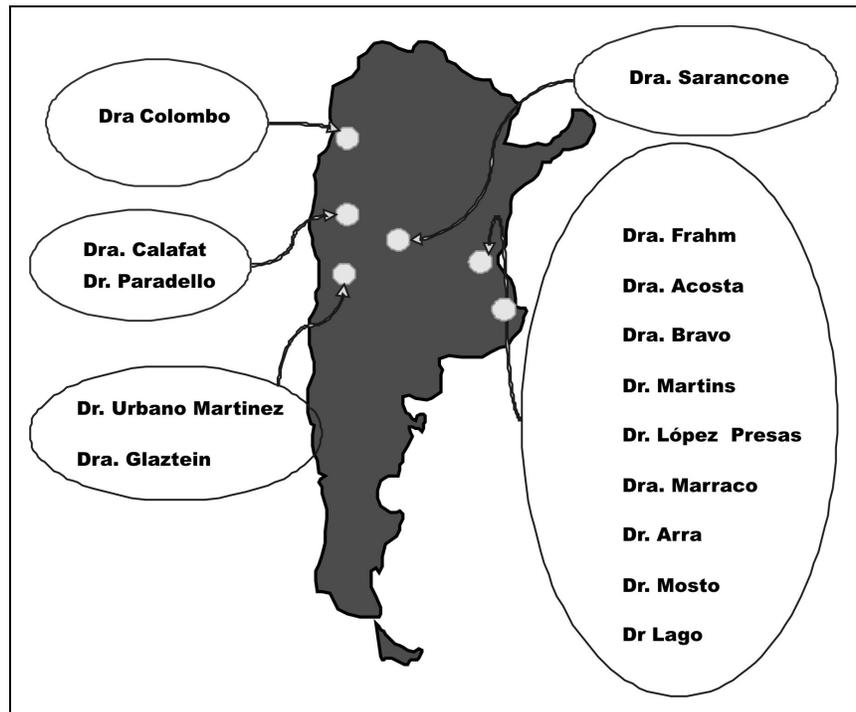


Figura 1. Mapa de los centros de inmunohistoquímica.

con los especialistas de la zona y la habilidad para realizar las determinaciones por IHC (Figura 1).

Durante los últimos meses de 2003 se realizó la puesta a punto de estos centros mediante un plan de pasantías de entrenamiento en laboratorios especializados, logrando una estandarización de la metodología incluyéndose, además, la provisión de los mismos reactivos a cada centro.

El *Advisory Board* inició el control de calidad en los diferentes centros, tanto en el aspecto técnico como en el de suministro de insumos, evaluando el desempeño a lo largo del desarrollo de este plan, con capacidad de poder incluir o excluir a cualquier centro que a su juicio no cumpliera con las normas de calidad previamente establecidas.

El procedimiento de control de calidad interno incorporó, conjuntamente, el envío de muestras con resultados desconocidos a cada centro

cada 2 meses. Los patólogos del grupo deben procesarlas y enviarlas con los resultados correspondientes. El proceso concluye con la evaluación independiente por los miembros del *Advisory Board*.

Los controles independientes y externos de calidad son realizados por el American College of Pathologists, el UKNEQAS y el NORDISC. El programa consiste en la revisión y evaluación de muestras. Cada miembro del *Advisory Board* es valorado en forma individual y recibe una acreditación para poder participar en los protocolos internacionales, tales como los dependientes del National Cancer Institute (NCI).

Se desarrolló una técnica estandarizada del Programa Nacional de Inmunomarcación para HER2 con microondas.

Descripción del método

1. Xilol 5' por 4.

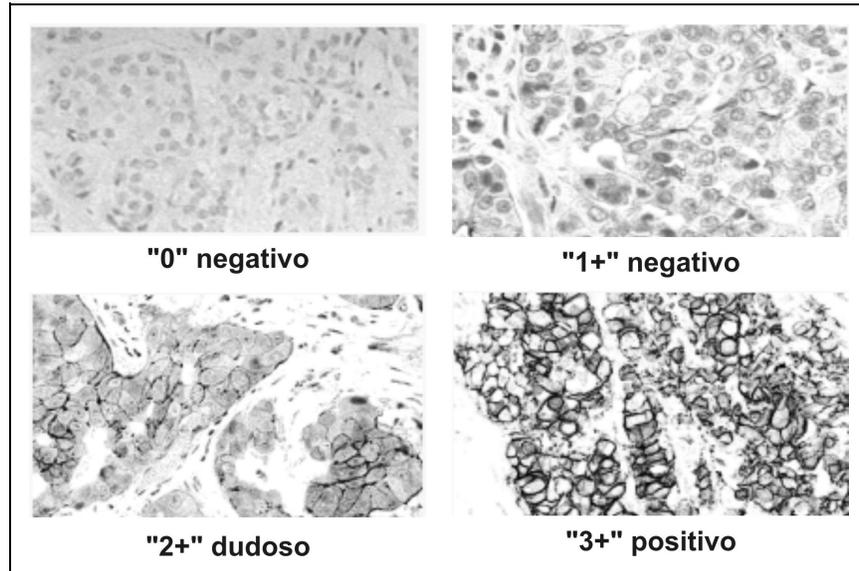


Figura 2. Lectura de los resultados de la sobreexpresión de HER2 por IHQ:

2. Alcohol absoluto 5´ por 3.
3. Alcohol 96° 5´ por 3.
4. Agua destilada 5´ por 3.
5. Poner los cortes en el microondas con ácido cítrico (potencia alta) 10´ + 5´ + 5´ (si se evapora agregar agua destilada).
6. Dejar enfriar durante 20´.
7. Agua destilada 1´ por 3.
8. Poner en solución de metanol (200 ml y 6 ml de agua oxigenada) durante 20 minutos, después lavar con agua destilada.
9. Lavar con TRIS 1 a 2´.
10. Aplicar el anticuerpo anti HER2 (1:500) Dako A0485 ® y dejar en la heladera hasta

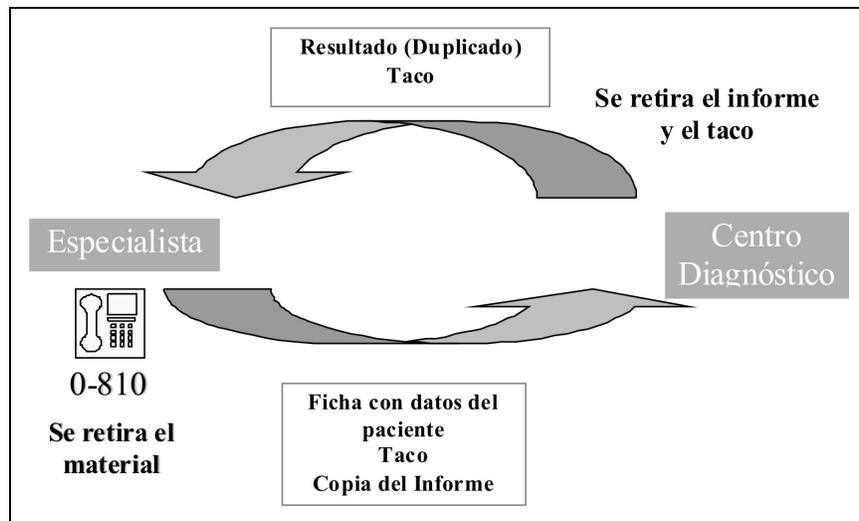


Figura 3. Estructura del sistema de correo.

El que suscribe, Dr/Dra. _____ solicita a Ud. la determinación de la sobreexpresión de HER2/Neu a la paciente Sra. _____ que cuenta con la cobertura de _____ afiliada N° _____ El diagnóstico inicial fue realizado por el Profesional _____ (ajunto copia del informe) en el que constan los siguientes datos:

Diagnóstico histológico: _____

N° de protocolo del tacho: _____

Sitio de la muestra: Tumor primario Ganglio Metástasis

Si es metástasis indicar el sitio:

Piel/partes blandas Ganglio Hueso
 Pulmón/pleura Hgado SNC Otros

Grado tumoral (histológico): 1 2 3

Status receptores hormonales

Estrogeno: Positivo Negativo Desconocido

Progesterona: Positivo Negativo Desconocido

Tamaño tumoral: , cm

N° de ganglios evaluados:

N° de ganglios positivos:

Tipo de fijación: _____

Firma y sello
(en Original y Copia)

Fecha

Autorizo, por mí o un familiar directo, a la realización de la determinación de CerB-2 (HER-2 neu) en el material de biopsia incluido en parafina, mediante la técnica de inmunohistoquímica.

Declaro estar en conocimiento de su realización y de no obtener beneficios adicionales por la misma.

Todos los registros relacionados a la participación de este estudio y la información relacionada a la identidad serán mantenidos en archivos confidenciales (institución médica).

Firma (en Original y Copia)

Fecha

Figura 4. Formulario para la solicitud de la determinación de HER2.

- el día siguiente.
11. Lavar tres veces con TRIS 5´ c/u.
 12. Secar y aplicar ENVISION+ (Dako ®) durante 30´ a temperatura ambiente.
 13. Lavar tres veces con TRIS 5´ c/u. Preparar solución de DAB + (DIAMINOBENCIDINE) Dako ® (1 ml *buffer* del DAB + 1 gota de DAB).
 14. Poner los cortes en DAB 5´.
 15. Lavar con agua destilada.

16. Hematoxilina.
17. Deshidratar, aclarar y montar.

Lectura de los resultados

Para interpretar los resultados se siguió la guía de HercepTest® que utiliza el score de 0 a 3+, considerándose positivos los tumores que muestren tinción intensa (3+) en toda la membrana celular, en más del 30% de las células

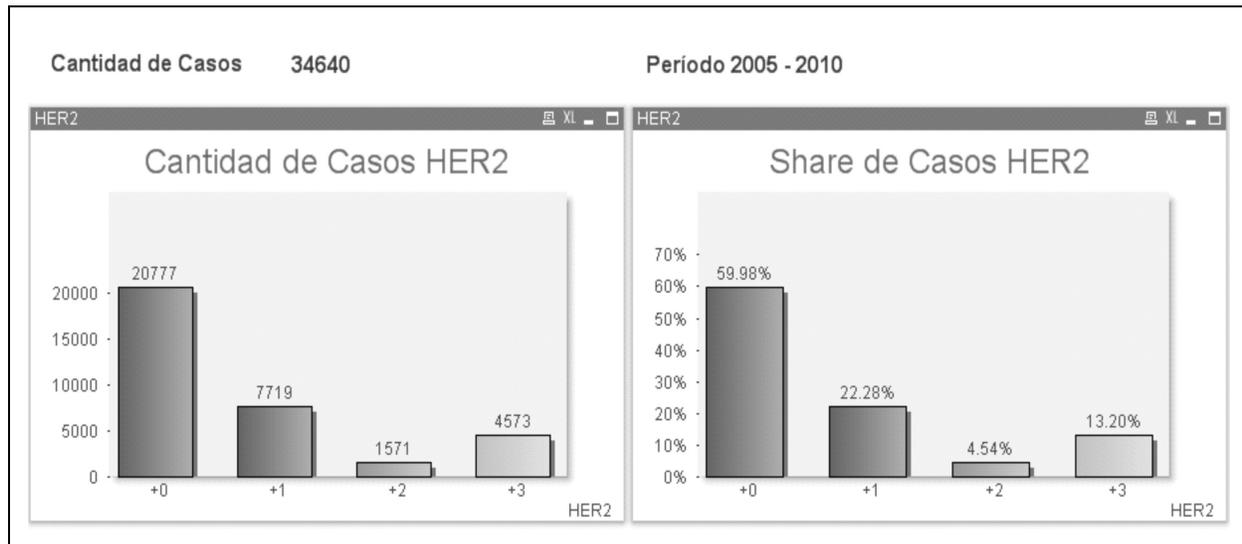


Figura 5. Resultados de las determinaciones de HER2.

evaluadas (Figura 2).

Score 0

No se observa coloración de la membrana celular en menos del 10% de las células tumorales.

Score 1+

Coloración tenue en más del 10% de las células tumorales.

Score 2+

Coloración de la membrana moderada a completa en más del 10% de las células tumorales.

Score 3+

Colocación completa de la membrana intensa observada en más del 30% de las células tumorales.

Paralelamente se desarrolló un sistema de correo "ad hoc" para el envío de las muestras y resultados de las determinaciones entre los oncólogos, patólogos mamarios y centros de diagnóstico, responsables de las determinaciones.

En febrero de 2004 se iniciaron las determinaciones de la sobreexpresión de HER2 en muestras remitidas, a través del sistema de correo privado por oncólogos y mastólogos de to-

do el país (Figura 3).

El profesional solicitante de la determinación de HER2 debió previamente completar un formulario con consentimiento informado de la paciente y/o familiar, por duplicado, con todos los datos clínico-patológicos de la paciente, enviándose el original junto con el taco para la determinación de HER2 al patólogo y el duplicado archivado en la historia clínica de la paciente para control del médico tratante (Figura 4).

RESULTADOS

Desde enero de 2005 hasta diciembre de 2010 se realizaron 34.640 determinaciones.

Sobre el total de las determinaciones efectuadas el 13,21% de las pacientes mostró sobreexpresión de HER2 (4.573). En la Figura 5 se muestra la distribución de los resultados de las determinaciones de HER2.

Es interesante ver la distribución de las determinaciones y el porcentaje de sobreexpresión del HER 2 a través de los años, cuya interpretación se analizará en la sección de discusión (Figuras 6 a 11).

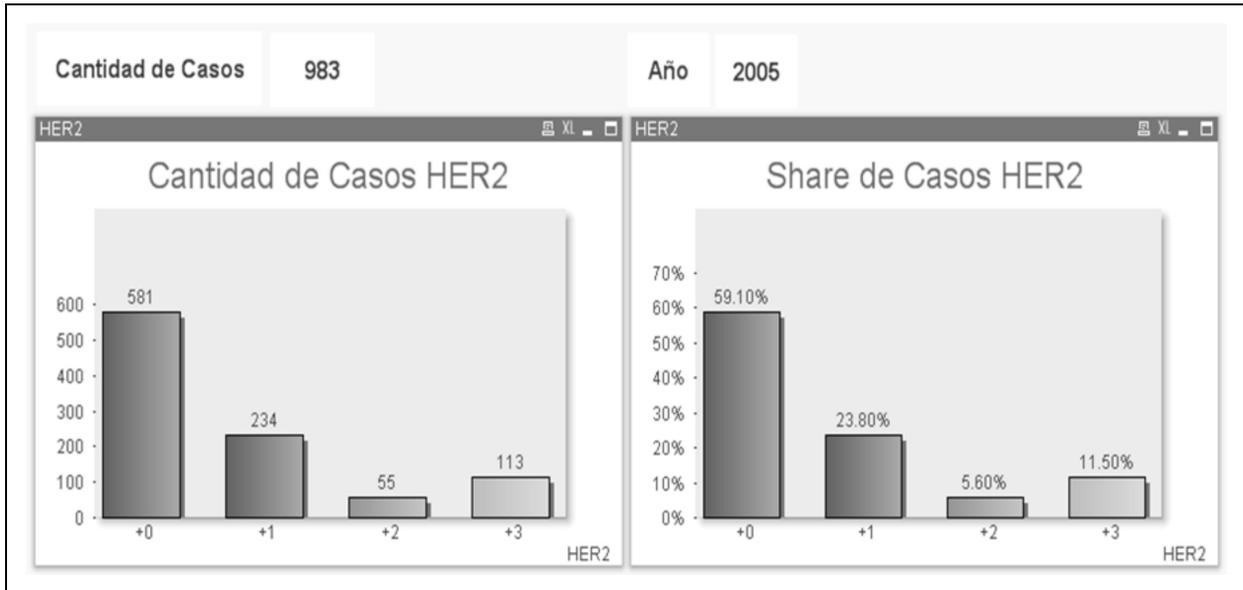


Figura 6

En el caso de los resultados equívocos o dudosos se realizó FISH para determinación de la amplificación génica, aunque a veces a pedido del médico tratante se realizó en casos positivos y negativos (Tablas I y II).

CONCLUSIONES

Mediante la creación del "Programa HER2 Nacional" se permitió el acceso al diagnóstico de HER2 en todo el país a través de una técnica

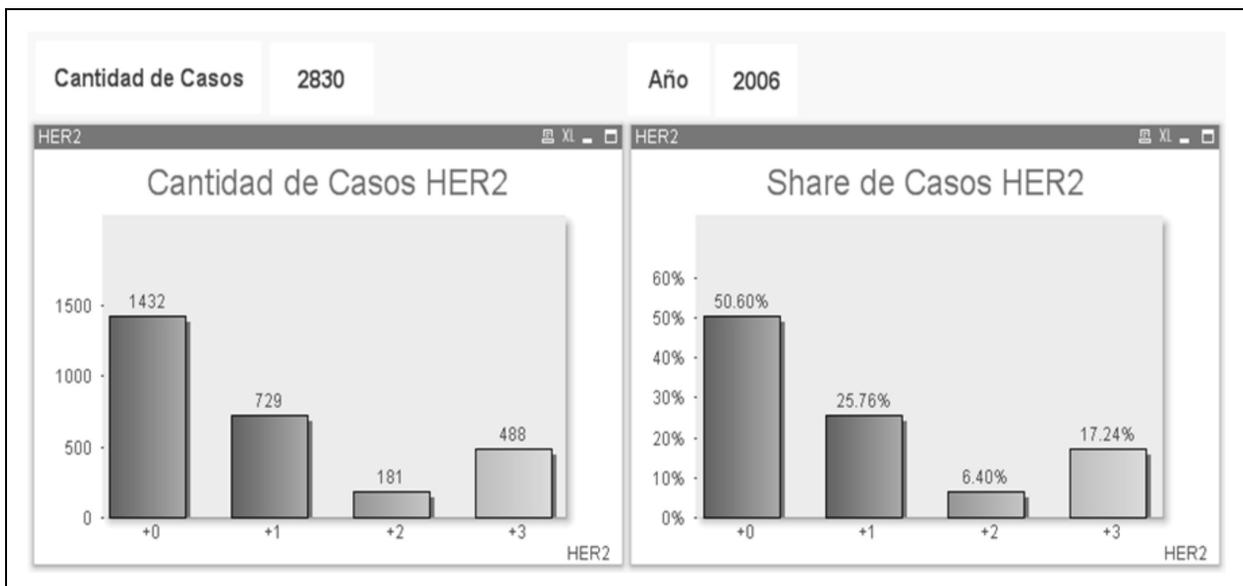


Figura 7

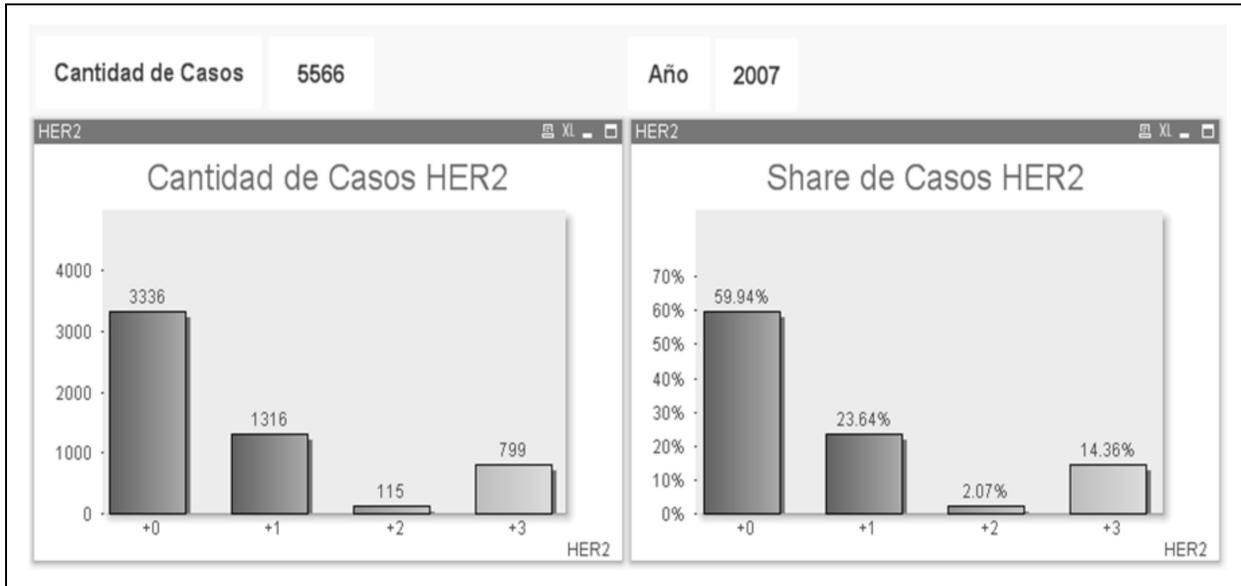


Figura 8

estandarizada y reproducible, en los centros de diagnóstico participantes.

La prevalencia de HER2 (13,2%) en nuestra población es similar a observaciones previamente publicadas.

Los algoritmos internacionales recomiendan con vehemencia la evaluación en la amplificación del gen HER2 mediante la realización de FISH, a aquellas pacientes cuyos tumores son positivos en score de 2+. En nuestro programa,

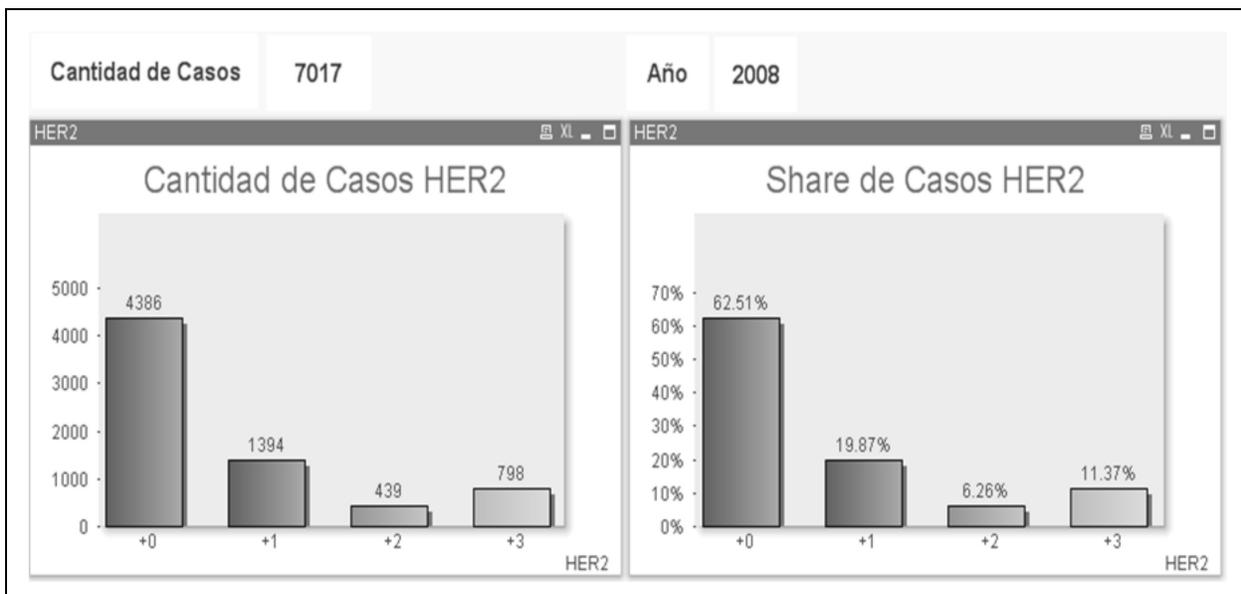


Figura 9

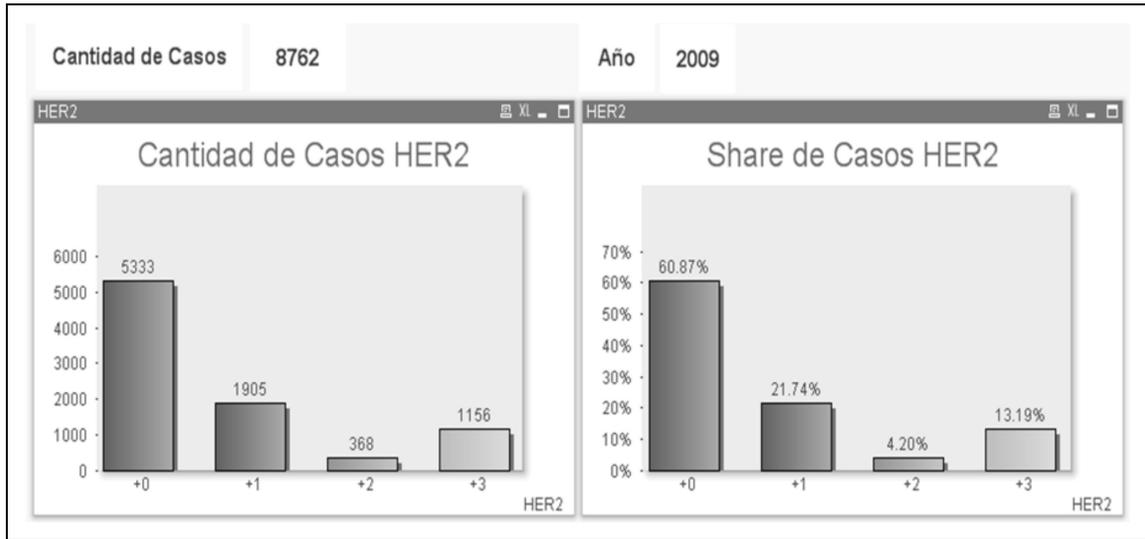


Figura 10

se realizaron en casos 2+ y en casos de diagnósticos discordantes.

DISCUSIÓN

La posibilidad de identificar pacientes HER2 positivas y poder ofrecerles una terapia específica ha cambiado significativamente el tratamien-

to y el pronóstico de este subgrupo, individualizando la planificación del tratamiento y seleccionando las posibles intervenciones terapéuticas.

Para evaluar este potencial con rigor científico, las pacientes con sobreexpresión de HER2 deben ser identificadas en forma exacta, precisa y fidedigna, por lo que es esencial que los test

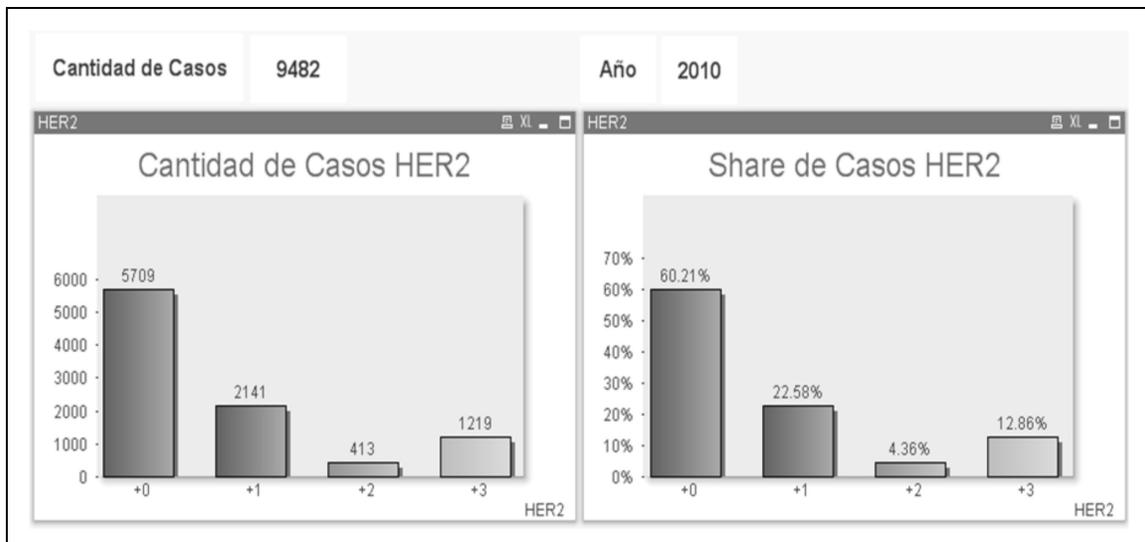


Figura 11

	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	TOTAL
Amplificables	39 (47%)	73 (49%)	140 (50%)	118 (34%)	74 (35%)	43 (27%)	8 (19%)	519 (40%)
No amplificables	43	75	135	225	133	112	35	782
TOTAL	82	148	275	343	207	155	43	1.301

Tabla I. Resultados de amplificación de FISH totales.

sean reproducibles y estandarizados. Es importante determinar el estatus HER2 al diagnóstico, porque esta información ha cobrado trascendencia en el manejo de la enfermedad primaria y metastásica.

El debate acerca de la estrategia óptima para identificar pacientes HER2 positivas continúa.

Las alternativas presentes son inmunohistoquímico, fluorescencia in situ hibridización (FISH) o hibridización cromógena in situ (CISH-SISH).²⁹

Una interpretación de estos datos controversiales, es que el resultado depende de la experiencia del observador; por lo cual, el número de determinaciones es fundamental para lograr resultados consistentes, confiables y reproducibles. De hecho, es tan importante el lugar donde se realiza el test como la técnica que se emplea.

El porcentaje decreciente de la tasa de sobreexpresión desde 2005 a 2010 puede deberse en parte a la estandarización de la técnica, a los cambios en el porcentaje de tinción de membrana para considerar HER 2 positivo del 10% al 30% y del incremento del testeo de la enfermedad inicial.

En cuanto a los cambios en las guías ASCO-SAP³⁸ hemos realizado una revisión en 4.318 casos de carcinoma invasor desde marzo del 2009 a septiembre de 2010, encontrando una discordancia en 10 casos (1,65%) sobre 606 HER2 positivos, que fueron categorizados de 3+ a 2+ (equivocos); 2/10 eran biopsias core que reanalizadas en muestras de tejidos fueron asignadas como 3+; y 4 /10 fueron dudosas también por FISH (1,8-2,2). Es decir, el número de HER2 positivos se redujo sólo en un 1,65%.

IHQ	2,2	1,8-2,2	<1,8	Número de casos
0 y 1+	14	3	44	61
2+	606	66	445	1.117
3+	106	8	9	123
Total	726	77	498	1.301

Tabla II. Resultados de la amplificación del FISH según los resultados de IHQ.

Estamos convencidos que en nuestro medio una estrategia clara y definida, dentro de marcos perfectamente regulados y controlados, con una técnica estandarizada y reproducible, permite excelentes resultados.

El corolario de este programa fue la publicación de guías de realización, interpretación y lineamientos de la técnica de inmunohistoquímica para la determinación de la sobreexpresión de HER2, que tienen el fin de obtener y replicar resultados óptimos en base a la experiencia adquirida. Estas guías están auspiciadas por la Sociedad Argentina de Patología y disponibles en el sitio web: www.patologia.org.ar

REFERENCIAS

1. Pegram MD, Pauletti G, Slamon DJ. HER-2/neu as a predictive marker of response to breast cancer therapy. *Breast Cancer Res Treat* 1998; 52 (1-3): 65-77.
2. Cobleigh MA, Vogel CL, Tripathy D, et al. Multinational study of the efficacy and safety of humanized anti-HER2 monoclonal antibody in women who have HER2-overexpressing metastatic breast cancer that has progressed after chemotherapy for metastatic disease. *J Clin Oncol* 1999; 17 (9): 2639-48.
3. Slamon DJ, Leyland-Jones B, Shak S, et al. Use of chemotherapy plus a monoclonal antibody against HER2 for metastatic breast cancer that overexpresses

- HER2. *N Engl J Med* 2001; 344 (11): 783-92.
4. Slamon DJ, Clark GM, Wong SG, et al. Human breast cancer: correlation of relapse and survival with amplification of the HER-2/neu oncogene. *Science* 1987; 235: 177-181.
 5. Bundred NJ. Prognostic and predictive factors in breast cancer. *Cancer Treat Rev* 2001; 27: 137-142.
 6. Kaptain S, Tan LK, Chen B. HER-2/neu and breast cancer. *Diagn Mol Pathol* 2001; 10: 139-152.
 7. Ravdin PM, Chamness GC. The c-erbB-2 proto-oncogene as a prognostic and predictive marker in breast cancer: a paradigm for the development of other macromolecular markers: a review. *Gene* 1995; 159: 19-27.
 8. Cooke T, Rovelon P, Slamon D, Bohme C. I am HER2-positive - what does this mean? Providing answers to patient concerns. Program and abstracts of the European Cancer Conference; September 12-16, 1999; Vienna, Austria. EONS Symposium. Special EONS Symposium.
 9. Pinkas-Kramarski R, Eilam R, Alroy I, et al. Differential expression of NDF/neuregulin receptors ErbB-3 and ErbB-4 and involvement in inhibition of neuronal differentiation. *Oncogene* 1997; 15: 2803-2815.
 10. Alroy I, Yarden Y. The ErbB signaling network in embryogenesis and oncogenesis: signal diversification through combinatorial ligand-receptor interactions. *FEBS Lett*. 1997; 410: 83-86.
 11. Scott GK, Dodson JM, Montgomery PA, et al. P185 signal transduction in breast cancer cells. *J Biol Chem* 1991; 266: 14200-14205.
 12. King CR, Draus MH, DiFiore PP, et al. Implications of erbB-2 overexpression for basic science and clinical medicine. *Semin Cancer Biol* 1990; 1: 329-337.
 13. Hortobagyi GN, Hung MC, Buzdar AU. Recent developments in breast cancer therapy. *Semin Oncol* 1999; 26(suppl 12): 11-20.
 14. Benz CC, Scott GK, Sarup JC, et al. Estrogen-dependent, tamoxifen-resistant tumorigenic growth of MCF-7 cells transfected with HER2/neu. *Breast Cancer Res Treat* 1992; 24: 85-95.
 15. Chazin VR, Kaleko M, Miller AD, et al. Transformation mediated by the human HER-2 gene independent of epidermal growth factor receptor. *Oncogene* 1992; 7: 1859-1866.
 16. Press MF, Pike MC, Chazin VR, et al. HER-2/neu expression in node-negative breast cancer: direct tissue quantitation by computerized image analysis and association of overexpression with increased risk of recurrent disease. *Cancer Res* 1993; 53: 4960-4970.
 17. Slamon DJ, Godolphin W, Jones LA, et al. Studies of the HER-2/neu proto-oncogene in human breast and ovarian cancer. *Science* 1989; 244: 707-712.
 18. Tsuda H, Hirohashi S, Shimosato Y, et al. Correlation between histologic grade of malignancy and copy number of c-erbB-2 gene in breast carcinoma: a retrospective analysis of 176 cases. *Cancer* 1990; 65: 1794-1800.
 19. Hoff ER, Tubbs RR, Myles JL, et al. HER2/neu amplification in breast cancer: stratification by tumor type and grade. *Am J Clin Pathol* 2002; 117: 916-921.
 20. Lal P, Tan LK, Chen B. Correlation of HER-2 status with estrogen and progesterone receptors and histologic features in 3,655 invasive breast carcinomas. *Am J Clin Pathol* 2005; 123(4): 541-546.
 21. Pegram MD, Finn RS, Arzoo K, et al. The effect of HER-2/neu overexpression on chemotherapeutic drug sensitivity in human breast and ovarian cancer cells. *Oncogene* 1999; 15: 537-547.
 22. Goldhirsch A, Glick JH, Gelber RD, Coates AS, Thürlimann B, Senn HJ & Panel Members Meeting Highlights: International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2005.
 23. Borg A. erbB2 amplification is associated with tamoxifen resistance in steroid-receptor positive breast cancer. *Cancer Lett* 1994; 81: 137-144.
 24. Bianco AR, De Laurentis M, Carlomagno C, et al. 20 year update of the Naples Gun trial of adjuvant breast cancer therapy: evidence of interaction between c-erbB-2 expression and tamoxifen efficacy. *Proc Am Soc Clin Oncol* 1998; 1: 97a.
 25. Pietras RJ, Aboleda J, Reese DM, et al. HER-2 tyrosine kinase pathway targets estrogen receptor and promoted hormone-independent growth in human breast cancer cells. *Oncogene* 1995; 10: 2435-2446.
 26. Paik S, Bryant J, Park C, et al. ErbB-2 and response to doxorubicin in patients with axillary lymph node-positive, hormone receptor-negative breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 1998; 90: 1361-1380.
 27. Jacobs TW, Gown AM, Yaziji H, 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: 1983-1987.
 28. Pauletti G, Dandekar S, Rong HM, et al. Assessment of methods for tissue-based detection of the HER-2/neu alteration in human breast cancer: a direct comparison of fluorescence in situ hybridization and immunohistochemistry. *J Clin Oncol* 2000; 18: 3651-3664.
 29. Madrid, et al. Cromogenic in situ hybridization (CISH): a novel alternative in screening archival breast cancer tissue samples for HER-2/neu status. *Breast Cancer Research* 2004; 6: 593-600.
 30. Goldhirsch A, Glick JH, Gelber RD, Coates AS, Thürlimann B, Senn HJ, & Panel Members Meeting Highlights. International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2007.

31. Slamos DJ, et al. Use of chemotherapy plus a monoclonal antibody against HER2 for metastatic breast cancer that overexpresses HER2. *N Engl J Med* 2001; 344(11): 783-92.
32. Piccart -Gehbart MJ, et al. Trastuzumab after adjuvant chemotherapy in HER2-positive breast cancer. *N Engl J Med* 2005; 353(16): 1659-72.
33. Hortobagyi G. Trastuzumab in the treatment of breast cancer. *N Engl J Med* 2005; 353(16): 1734-6.
34. Romond E, et al. Trastuzumab plus adjuvant chemotherapy for operable HER2-positive breast cancer. *N Engl J Med* 2005; 353(16): 1673-84.
35. Gianni L, et al. Neoadjuvant chemotherapy with trastuzumab followed by adjuvant trastuzumab versus neoadjuvant chemotherapy alone, in patients with HER2-positive locally advanced breast cancer (the NOAH trial): a randomised controlled superiority trial with a parallel HER2-negative cohort. *Lancet* 2010; 375: 377-84.
36. Untch M, et al. Neoadjuvant treatment with trastuzumab in HER2-positive breast cancer: Results from the geparquattro study. *J Clin Oncol* 2010; 28(12): 2024-2031.
37. Geyer C. Lapatinib plus capecitabine for HER2-positive advanced breast cancer. *N Engl J Med* 2006; 355: 2733-43.
38. American Society of Clinical Oncology / College of American Pathologists Guideline Recommendations for Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 Testing in Breast Cancer. *J Clin Oncol* 2007; 25(1): 118-145.
39. Kelly CM. Coping with uncertainty: T1a,bN0M0 HER2- positive breast cancer, do we have a treatment threshold? *Ann Oncol* 2011; 22(11): 2387-93.
40. Gonzalez Angulo AM. High risk of recurrence for recurrence for patients with breast cancer who have human epidermal growth factor receptor 2 positive, node negative tumors 1 cm or smaller. *JCO* 2009; 21: 4577.
41. von Minckwitz G. Trastuzumab beyond progression in human epidermal growth factor receptor 2 positive advanced breast cancer: a german breast group 26/ breast international group 03-05 study. *J Clin Oncol* 2009; 27: 1999-2006.
42. Blackwell K. Randomized study of lapatinib alone or in combination with trastuzumab in women with erbB2-positive, trastuzumab-refractory metastatic. *Breast Cancer J Clin Oncol* 2009; 24: 2024.
43. Frahm I, et al. 2007 ASCO/CAP Guidelines: Impact on HER 2 IHC, 100th American and Canadian Academy of Pathology, Modern Pathology, Abstract 045. Presentación de póster, San Antonio, marzo de 2011.