



BUAP

Facultad de Medicina

Unidad Médica de Alta Especialidad Hospital de Especialidades de Puebla
Centro Médico Nacional Gral. de Div. Manuel Ávila Camacho

“Resultado de la hibridación in situ en pacientes con carcinoma invasor de mama
HER2 indeterminado atendidas en el HEP durante 2020 a 2022”

Tesis para obtener el Diploma de
Especialidad en Anatomía Patológica

Presenta:

Dr. Jorge Martin Jimenez Celaya

Directores

Dr. Arturo García Galicia

Dr. Carlos Castillo Canto



N° de registro: R-2024-2101-034

H. Puebla de Z. SEPTIEMBRE 2024

AGRADECIMIENTOS

A mis padres

Agradezco sinceramente su apoyo durante todo mi proceso formativo que inicio cuando decidí empezar a estudiar la carrera de Médico Cirujano, que con su cariño y comprensión siempre estuvieron a mi lado durante las noches de desvelo y estudio así como por brindarme soporte material y económico, dándome el ultimo impulso para culminar mi proceso formativo en la especialidad que escogí. Quedan cortas las palabras pero sepan que los amo y llevo siempre presentes en mi mente y corazón.

A mi hermana

Por ser una gran motivación y ejemplo de una gran profesionista y mujer. Siendo ella mi primer influencia para involucrarme en las Ciencias de la Salud demostrándome que sin importar las adversidades uno puede lograr salir adelante de cualquier situación.

A mi tutor Dr. Carlos Castillo Canto

Por sus enseñanzas y paciencia no solo durante la elaboración de la tesis si no también por sus desafíos académicos durante mi formación como especialista. Agradezco sus consejos que tendré en cuenta para mi futuro profesional.

A todos mis docentes

Son muchos los docentes que han sido parte de mi camino universitario, y a todos ellos les quiero agradecer por transmitirme los conocimientos necesarios para hoy poder estar aquí. Sin ustedes los conceptos serían solo palabras y las palabras ya sabemos, se las lleva el viento.

A mis colegas y compañeros

Gracias también por compartir sus conocimientos, momentos agradables, risas y recuerdos que llevare durante toda mi vida, pues los amigos son la familia que uno elije y encontrar familia lejos de casa es una experiencia muy afortunada. Su amistad sincera volvió mi paso por la residencia uno de los mejores momentos de mi vida.



INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
DIRECCIÓN DE PRESTACIONES MÉDICAS



Dictamen de Aprobado

Comité Local de Investigación en Salud **2101**.
HOSPITAL DE ESPECIALIDADES CENTRO MEDICO NACIONAL GRAL. DIV. MANUEL AVILA CAMACHO

Registro COFEPRIS **17 CI 21 114 055**
Registro CONBIOÉTICA **CONBIOÉTICA 21 CEI 002 2018073**

FECHA **Viernes, 19 de enero de 2024**

Maestro (a) Arturo García Galicia

PRESENTE

Tengo el agrado de notificarle, que el protocolo de investigación con título **Resultado de la hibridación in situ en pacientes con carcinoma invasor de mama HER2 indeterminado atendidas en el HEP durante 2020 a 2022** que sometió a consideración para evaluación de este Comité, de acuerdo con las recomendaciones de sus integrantes y de los revisores, cumple con la calidad metodológica y los requerimientos de ética y de investigación, por lo que el dictamen es **A P R O B A D O**:

Número de Registro Institucional

R-2024-2101-034

De acuerdo a la normativa vigente, deberá presentar en junio de cada año un informe de seguimiento técnico acerca del desarrollo del protocolo a su cargo. Este dictamen tiene vigencia de un año, por lo que en caso de ser necesario, requerirá solicitar la reaprobación del Comité de Ética en Investigación, al término de la vigencia del mismo.

ATENTAMENTE

Doctor (a) JOSE ALVARO PARRA SALAZAR
Presidente del Comité Local de Investigación en Salud No. 2101

Imprimir

IMSS
SEGURIDAD Y SOLIDARIDAD SOCIAL



GOBIERNO DE
MÉXICO

DIRECCIÓN DE PRESTACIONES MÉDICAS
UNIDAD DE ATENCIÓN MÉDICA
COORDINACIÓN DE UNIDADES MÉDICAS DE
ALTA ESPECIALIDAD



CENTRO MÉDICO NACIONAL
"GRAL. DE DIV. MANUEL ÁVILA CAMACHO"
UNIDAD MÉDICA DE ALTA ESPECIALIDAD
HOSPITAL DE ESPECIALIDADES DE PUEBLA
DIRECCIÓN DE EDUCACIÓN E INVESTIGACIÓN EN SALUD

PUEBLA, PUE., A 16 DE DICIEMBRE DE 2024

AUTORIZACION DE IMPRESIÓN DE TESIS DE ESPECIALIDAD

LOS ASESORES:

Dr. Arturo García Galicia

Dr. Carlos Castillo Canto

DE LA TESIS TITULADA:

Resultados de la hibridación in situ en pacientes con carcinoma invasor de mama HER 2 indeterminado
atendidas en el HEP durante 2020 2022

REALIZADA POR EL MÉDICO RESIDENTE:

Jorge Martín Jiménez Celaya

DE LA ESPECIALIDAD:

Anatomía Patológica

HACEMOS CONSTAR QUE ESTE TRABAJO CIENTIFICO HA SIDO REVISADO Y AUTORIZADO EN EL SIRELCIS
CON **NÚMERO DE REGISTRO NACIONAL: R-2024-2101-034**

AUTORIZAMOS SU IMPRESIÓN

Dr. Carlos Octavio Castillo
ANATOMOPATOLOGO
Ced. Prof. 2747366
Ced. Esp. 4110896
Mat. 99225302

(NOMBRE, FIRMA Y FECHA)

Dr. Arturo García Galicia
JEFE DE DIVISION
DE INVESTIGACION EN SALUD
UMAE HOSPITAL DE ESPECIALIDADES
CMNMAC
IMSS Mat. 10579729

(NOMBRE, FIRMA Y FECHA)



GOBIERNO DE
MÉXICO

CARTA COMPROMISO

Puebla, Puebla, a 26 de Septiembre de 2024.

INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
PRESENTE

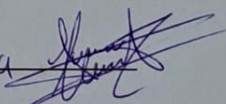
El (la) suscrito (a) Jorge Martin Jimenez Celaya, en mi
calidad de estudiante y habiendo sido beneficiario de la especialización
médica/maestría/doctorado en Anatomía Patológica de fecha
_____ manifiesto bajo protesta de decir verdad que soy autor del
trabajo de Tesis titulado "Resultado de la hibridación in situ en pacientes
con carcinoma invasor de mama HER2 indeterminado atendidos
en el HEP durante 2020 a 2022"

el cual ha sido asesorado por el (los) doctor
(es) Dr. Arturo Garcia Galicia y Dr. Carlos Castillo Canto

_____ en las instalaciones del Instituto Mexicano del
Seguro Social. Por tanto, para fines de divulgación y publicación sobre la metodología,
resultados y/o otra información desarrollada durante el proyecto, reconozco que deberé
contar con la autorización escrita de todos los autores.

Asimismo, manifiesto que en caso de que el presente trabajo implique derechos
de propiedad industrial e intelectual como resultado de su desarrollo, tomando en
consideración que será producto de una investigación practicada en las instalaciones del
Instituto y con pacientes, equipos, materiales y diversos instrumentos de su propiedad, se
reconoce como legítimo propietario de dicha novedad al Instituto Mexicano del Seguro
Social; en donde el suscrito participa en colaboración con mi (los) asesor (es), por lo que
mi colaboración y derechos estará sujeta al porcentaje de autoría que corresponda a mi
participación en relación con los demás autores en colaboración.

Atentamente

Jorge Martin Jimenez Celaya 

Nombre y firma

INDICE

RESUMEN

1.- ANTECEDENTES

1.1- ANTECEDENTES GENERALES

1.2 ANTECEDENTES ESPECÍFICOS

2.- PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

3.- JUSTIFICACIÓN

4.- HIPÓTESIS

5.- OBJETIVOS

5.1 OBJETIVO GENERAL

5.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

6.- MATERIAL Y MÉTODOS

6.1 TIPO DE ESTUDIO

6.2 UBICACIÓN TEMPORAL

6.3 ESTRATEGIA DE TRABAJO

6.4 MARCO MUESTRAL

6.4.1 UNIVERSO DE ESTUDIO

6.4.2 SUJETOS DE ESTUDIO

6.4.3 CRITERIOS DE SELECCIÓN

6.4.3.1 CRITERIOS DE INCLUSIÓN

6.4.3.2 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

6.4.3.3 CRITERIOS DE ELIMINACIÓN

6.5 DISEÑO Y TIPO DE MUESTREO

6.6 TAMAÑO DE LA MUESTRA

6.7 ANÁLISIS DE DATOS

7 ASPECTOS ÉTICOS

8 RESULTADOS

9 DISCUSION

10 CONCLUSION

11 BIBLIOGRAFÍA

12 ANEXOS

RESUMEN

TÍTULO

Resultado de la hibridación in situ en pacientes con carcinoma invasor de mama HER2 indeterminado atendidas en el HEP durante 2020 a 2022

AUTORES

Arturo García Galicia¹, Carlos Castillo Canto², Jorge Martin Jimenez Celaya³

AFILIACION

Instituto Mexicano del Seguro Social

INTRODUCCIÓN

El cáncer de mama se diagnostica principalmente en mujeres y es la principal causa de muerte por cáncer en mujeres en todo el mundo la incidencia en México para el 2020 fue de 39.5 y la mortalidad de 9.9 por 100,000 mujeres. El termino carcinoma de mama invasivo (IBC por sus siglas en inglés) se refiere a un grupo grande y heterogéneo de neoplasias epiteliales malignas de los elementos glandulares de la mama.

Objetivo. Describir los resultados de inmunohistoquímica y el resultado por Hibridación in Situ de pacientes con diagnóstico de Carcinoma invasor de Mama HER2 indeterminado atendidas en la Unidad Médica de Alta Especialidad Hospital de Especialidades de Puebla “Manuel Ávila Camacho” en el periodo de Enero 2020 a Diciembre del 2022.

MATERIAL Y MÉTODOS.

Se llevará a cabo un estudio transversal, retrospectivo, ambilectivo, unicéntrico y homodémico de la base de datos de los reportes histopatológicos de pacientes diagnosticadas con Carcinoma invasor de mama HER 2 indeterminado.

RESULTADOS.

Se observo una mayor frecuencia el resultado indeterminado (80%), seguido del no especificado (9%), Her 2, negativo (5%), Her 2, positivo (4%), Her 2+, negativo (1+), Her 2 no valorable

Los resultados por Hibridación in situ fueron los siguientes en orden descendente de frecuencia: Sin amplificación (78%), No valorable (14%), Amplificado (8%)

Algunos estudios han evaluado cohortes de pacientes con cáncer de mama, encontrando que aquellos con resultados indeterminados en IHC tienen una probabilidad significativa de ser negativos en ISH, lo que refuerza la importancia de realizar ambas pruebas y considerar sus resultados en conjunto.

Palabras clave: Carcinoma invasor de mama; perfil de inmunohistoquímica; histopatología; receptor de estrógeno, receptor de progesterona, Receptor 2 del factor de Crecimiento epidérmico humano, ERBB2, Hibridación in situ, hibridación in situ fluorescente, hibridación in situ con plata, grado histológico.

1. ANTECEDENTES

1.1 ANTECEDENTES GENERALES

DEFINICIÓN DE LA ENFERMEDAD

El término carcinoma de mama invasivo (IBC por sus siglas en inglés) se refiere a un grupo grande y heterogéneo de neoplasias epiteliales malignas de los elementos glandulares de la mama (1). Se clasifican en subtipos definidos morfológicamente, todos los IBCs se agrupan en subtipos definidos por su biomarcador con la finalidad de otorgar un tratamiento función del estado de receptores de estrógenos (ER) y ERBB2 (HER2), siendo estos:

- ER-positivo, HER2-negativo
- ER-positivo, HER2-positivo
- ER-negativo, HER2-positivo
- ER-negativo, HER2 negativo

A pesar de sus características morfológicas superpuestas, estos subtipos definidos por biomarcadores muestran distintos resultados y respuesta a la terapia, así como diferencias en sus perfiles genómicos y transcriptómicos globales.(1)

SITIOS DE PRESENTACIÓN

La mayoría de los cánceres de mama (90 %) son unifocales y pueden ocurrir en cualquier cuadrante de la mama, con mayor frecuencia en el cuadrante superior externo(2). Un tumor contralateral sincrónico se encuentra en aproximadamente el 2% de los pacientes. Alrededor del 0,1 % de los cánceres de mama se presentan como una metástasis axilar sin un primario de mama claro(3)

EPIDEMIOLOGIA

El cáncer de mama es el cáncer que se diagnostica con mayor frecuencia en las mujeres (representa el 24 % de todos los cánceres femeninos) y la principal causa de muerte por cáncer en mujeres en todo el mundo (1). El cáncer de mama representa el 11,6% de los cánceres en ambos sexos combinados, lo que lo

convierte en el segundo cáncer más común en general (4). Las tasas de incidencia de IBC han aumentado en la mayoría de los países de ingresos bajos y medios en las últimas décadas. En países de altos ingresos como EE. UU., Canadá, el Reino Unido, Francia y Australia, las tasas de incidencia disminuyeron a principios de la década de 2000, lo que se atribuyó en parte a la disminución del uso del tratamiento hormonal posmenopáusico después de la publicación del ensayo Women's Health Initiative que vincula la salud posmenopáusica uso de hormonas para aumentar el riesgo de cáncer de mama (1). Sin embargo, con el envejecimiento de la población, la carga mundial aumentó en general. En 2018, se estimaron 2,1 millones de nuevos casos de cáncer de mama y 627 000 muertes en todo el mundo(1). La incidencia también varía en más de 10 veces geográficamente. Los grupos de mayor riesgo son las poblaciones prósperas de Australia, Europa y América del Norte, donde al 8–9 % de las mujeres se les diagnostica un IBC antes de los 75 años (5). Las variaciones geográficas, las tendencias temporales y los estudios de poblaciones que migran de áreas de bajo riesgo a áreas de alto riesgo muestran que el riesgo en las poblaciones migrantes se acerca al del país de acogida en una o dos generaciones; esto sugiere un papel importante de los factores ambientales en la etiología de este cáncer(5). Los estudios de variaciones en los subtipos de cáncer de mama en los EE. UU. han demostrado que las frecuencias de los subtipos clínicos/biomarcadores varían según las características de la población (5). En las poblaciones examinadas, el cáncer positivo para receptores hormonales es el subtipo más común, con cánceres positivos para HER2 que constituyen del 10 al 15 % y cánceres negativos para ER/negativos para HER2 que representan del 13 al 17 %; en poblaciones no examinadas, la frecuencia es diferente, con proporciones más altas de cánceres ER-negativos/HER2-negativos (20-40%) y cánceres HER2-positivos (15-25%)(1)

EPIDEMIOLOGIA DEL CANCER MAMARIO EN MEXICO

El cáncer de mama es el tumor maligno en mujeres más frecuente en México y en el mundo y es la primera causa de muerte por cáncer, siendo responsable del 17% de la mortalidad asociada a neoplasias(4). En 2020 hubo más de 2.3 millones de

casos y 685,000 muertes en el mundo, y se predice que para 2040 se incrementará a más de 3 millones de nuevos casos y un millón de muertes cada año(5). El 45% de los casos se presentan en países de bajos o de medianos recursos (765,000) y el 55% del total de muertes por cáncer de mama ocurren en dichos países (287,100) (4). En México, el cáncer de mama ha tenido un incremento constante, tanto en su incidencia como en su mortalidad, en las últimas tres décadas(4). De acuerdo con el informe del Departamento de Epidemiología de la Secretaría de Salud, la incidencia se incrementó entre 2000 y 2013, llegando de 10.76 casos por 100,000 habitantes a 26.1 por cada 100,000 mujeres mayores de 25 años, estimando 23,873 nuevos casos en 2013 (6). Para 2020, la incidencia en nuestro país fue de 39.5 y la mortalidad de 9.9 por 100,000 mujeres. Este aumento se debe a factores como el envejecimiento poblacional, la «occidentalización» del estilo de vida, la obesidad, educación e información deficientes relativas a la enfermedad y a la carencia de un programa nacional de detección oportuna(4). En nuestro país ha habido un incremento constante de la expectativa de vida y del envejecimiento poblacional, causando que en el 2030 alrededor de 30 millones de mujeres estarán en los grupos de riesgo por edad (4). Dado que la incidencia aumenta proporcionalmente al incremento en la edad, habrá también un aumento sustancial en el número de casos de cáncer de mama en los próximos años. Esto, sin tomar en cuenta que en México el cáncer de mama en mujeres menores de 40 años es proporcionalmente más frecuente (13.3%) que en la población norteamericana o europea(4).

MANIFESTACIONES CLINICAS

FACTORES DE RIESGO.

Existen múltiples factores que aumentan el riesgo de desarrollar cáncer de mama. El incremento en riesgo asociado a cada factor individual es pequeño en la mayoría de los casos(7).

Entre los factores conocidos se encuentran:

1.1 Familiares y hereditarios

- Historia familiar de cáncer de mama (en familiares de primer grado).
- Ser portador / a de variantes patogénicas, que confieren predisposición a desarrollar cáncer de mama

1.2 Hormonales y reproductivos

- Duración total de vida menstrual (menarca temprana, menopausia tardía).
- Nuliparidad o primer embarazo a término después de los 30 años.
- Ausencia de lactancia.
- Terapia de reemplazo hormonal con estrógeno y progesterona, combinados en la perimenopausia o posmenopausia por 5 años o más.

1.3 Dieta y estilo de vida

- Consumo de alcohol.
- Obesidad.

1.4 Condiciones mamarias benignas

- Densidad mamaria incrementada.
- Lesiones proliferativas sin atipia.
- Hiperplasia atípica.
- Carcinoma lobulillar in situ.

1.5 Ambientales

- Exposición a radiación ionizante antes de los 30 años (irradiación a tórax en manto)(8).

En mujeres mexicanas con cáncer de mama se ha reportado un 30% de prevalencia de obesidad(8). La obesidad se asocia también a un mayor riesgo de recurrencia o de segundos tumores primarios y a menor salud física global, en supervivientes de cáncer de mama(8). En dichos supervivientes, es recomendable realizar al menos 150 minutos de actividad física a la semana, con una meta final de realizar 300 minutos o más de actividad de intensidad moderada o 75 minutos de actividad de intensidad vigorosa y evitar los comportamientos sedentarios prolongados (8)

En poblaciones no examinadas, un tumor palpable es el signo clínico más común de IBC, aunque la retracción de la piel, la inversión del pezón, la secreción del pezón

y (con menos frecuencia) un cambio en el tamaño o la forma del seno o un cambio en el color o puede verse la textura de la piel. En casos extremos, puede ocurrir ulceración de la piel(9). El carcinoma de mama inflamatorio es una presentación clínica de cáncer de mama definida por eritema difuso y edema que afecta a un tercio o más de la piel de la mama (10). Todos los síntomas del cáncer de mama también pueden ser causados por una enfermedad mamaria benigna, por lo que la evaluación con imágenes y la toma de muestra histológica con biopsia central o PAAF están indicadas para establecer un diagnóstico definitivo (10).

En las poblaciones examinadas, una masa espiculada con o sin calcificaciones asociadas es la apariencia clásica del cáncer, pero los cánceres también pueden visualizarse como distorsión arquitectónica, masas bien delimitadas o calcificaciones solas(10). Alrededor del 5% al 15% de los cánceres palpables no se ven en la mamografía y la mayoría de estos se pueden identificar con una ecografía dirigida(9). También se puede agregar la ecografía para mejorar la sensibilidad en mujeres con senos mamográficamente densos, y es el método de elección para obtener imágenes del seno en mujeres < 40 años(9). La tasa de falsos negativos de la combinación de mamografía y ultrasonografía es bastante baja, oscilando entre 0% y 3%(9). A menos que la presencia de un diagnóstico inequívocamente benigno, como un quiste, se establezca sobre la base de imágenes, generalmente se necesita una muestra de tejido para determinar que no hay carcinoma(10).

La resonancia magnética es el método más sensible (pero no el más específico) para detectar el cáncer de mama; por lo tanto, su uso está restringido al cribado de mujeres con muy alto riesgo (p. ej., portadoras de mutaciones BRCA1 o BRCA2) y en algunos centros después de un diagnóstico inicial de carcinoma lobulillar o como parte del estudio de estadificación del cáncer de mama(9).

1.2 ANTECEDENTES ESPECIFICOS

DIAGNOSTICO HISTOPATOLOGICO

CARACTERÍSTICAS MACROSCÓPICAS

La mayoría de los IBC se pueden visualizar o palpar como una masa macroscópicamente evidente, con un contorno estrellado irregular o una configuración nodular. El borde del tumor suele estar moderada o pobremente definido y carece de una delimitación nítida. Clásicamente, los IBC son firmes o incluso duros a la palpación, y pueden tener una sensación arenosa cuando se cortan con un cuchillo (aunque algunos tipos de CDIS, como el tipo comedón, pueden tener una textura arenosa similar y no siempre se pueden distinguir fácilmente de forma macroscópica). invasión)(1). Sin embargo, algunos IBC, incluidos los casos tratados con neoadyuvancia, pueden ser muy imperceptibles y requieren una correlación cuidadosa con las imágenes en el momento del examen macroscópico y la toma de muestras de tejido. La evaluación macroscópica debe incluir la revisión de los hallazgos de imágenes (si se realizan), de modo que el número de lesiones, el tamaño esperado de las lesiones, y los clips/marcadores esperados y su ubicación pueden informar el muestreo de tejido adecuado(11). La radiografía de especímenes más grandes puede ser útil para identificar clips, calcificaciones y otras pistas para guiar el examen macroscópico. Idealmente, los especímenes quirúrgicos se deben entintar de manera diferencial y seccionar en serie en rebanadas de aproximadamente 0,5 cm de grosor para garantizar una fijación adecuada y la detección de cánceres invasivos más pequeños. El muestreo de tejido debe realizarse de manera que la etapa T del cáncer pueda establecerse(10). El muestreo entre lesiones macroscópicas estrechamente relacionadas también es importante para que el patólogo pueda documentar si son realmente múltiples o un cáncer más grande, con fines de estadificación. A menudo se requiere un mapa de casetes de lesiones más grandes cuando la extensión o el tamaño no son macroscópicamente obvios (10). Esto es especialmente cierto después de la terapia neoadyuvante, porque los cánceres residuales pueden volverse más blandos y difíciles de palpar, y solo puede estar presente un área cicatricial fibrosa (excepto en casos de ausencia o respuesta mínima)(1). Otro

entorno que requiere una muestra extensa de tejido son los casos de DCIS extenso, de modo que se pueda identificar cualquier foco de invasión.

La evaluación macroscópica de la ulceración de la piel, los cambios en los pezones y los nódulos cutáneos separados (si los hay) también son importantes para la estadificación(1). Se deben registrar las distancias de los cánceres macroscópicamente aparentes desde los márgenes de resección y se deben tomar muestras de los márgenes cercanos para el análisis microscópico. Por último, se deben registrar los parámetros de manipulación del tejido, como la hora en que el cirujano extrajo la muestra, la hora en que se colocó en fijador y la cantidad de tiempo entre la fijación y el procesamiento de la muestra de tejido para que el tiempo de isquemia fría (la cantidad de tiempo entre la extracción del cuerpo y la colocación en el fijador) y el tiempo en el fijador antes del procesamiento son claros, porque estos parámetros pueden afectar las pruebas de receptores (ER/PR y HER2), la clasificación y la evaluación de la invasión linfovascular.

CARACTERISTICAS MICROSCOPICAS

Se evalúan tres características: formación de túbulos como expresión de diferenciación glandular, pleomorfismo nuclear y recuento mitótico. Se utiliza un sistema de puntuación numérica del 1 al 3 para garantizar que cada factor se evalúe de forma independiente.

Los túbulos y la formación glandular/ácinos se evalúan en todo el tumor a bajo aumento; sólo se cuentan las estructuras que exhiben luces centrales claras rodeadas de células neoplásicas polarizadas. Se utilizan puntos de corte del 75 % y el 10 % del área glandular/tumor para determinar la puntuación(11).

El pleomorfismo nuclear se evalúa en el área que muestra el mayor grado de pleomorfismo en comparación con la regularidad del tamaño y la forma nuclear de las células epiteliales normales en el tejido mamario adyacente. La irregularidad

creciente de los contornos nucleares y el número y tamaño de los nucléolos son características adicionales útiles para asignar puntajes para el pleomorfismo(1). Los núcleos de puntuación 1 son muy similares en tamaño a los núcleos de las células epiteliales benignas preexistentes (< 1,5 veces el tamaño) y muestran un pleomorfismo mínimo, un patrón uniforme de cromatina y nucléolos que no son visibles o son muy discretos. Los núcleos de Score 2 son más grandes (1,5 a 2 veces el tamaño de los núcleos de células epiteliales benignas), con pleomorfismo de leve a moderado y nucléolos visibles pero pequeños y discretos(1). Los núcleos de Score 3 son incluso más grandes (> 2 veces el tamaño de los núcleos de células epiteliales benignas), con cromatina vesicular; varían notablemente en tamaño y forma y, a menudo, muestran nucléolos prominentes(2). El aumento preferido para la puntuación nuclear es el objetivo de 40x(11).

La evaluación de las figuras mitóticas requiere cuidado y se basa en una fijación óptima del tejido y una buena preparación de las secciones. Los observadores deben contar solo figuras mitóticas definidas; Los núcleos hipercromáticos y picnóticos deben ignorarse porque es más probable que representen apoptosis en lugar de células en mitosis. Los recuentos mitóticos requieren estandarización a un área de campo fija, porque el área de campo varía entre microscopios(1). Se registra el número total de mitosis por 10 campos de alta potencia. Los puntos de corte para la puntuación dependen del tamaño del área del campo, y el microscopio utilizado debe calibrarse midiendo el diámetro del campo de alta potencia (objetivo de 40x). La puntuación se realiza en el área que muestra la frecuencia más alta de figuras mitóticas (método de punto crítico), normalmente el borde de ataque periférico del tumor(1). Si hay heterogeneidad, se deben elegir las regiones que presenten una mayor frecuencia de mitosis. Una vez que se elige el punto crítico y se considera el primer campo, la selección de campo subsiguiente se realiza de forma aleatoria a través del área elegida, pero solo se deben evaluar los campos con una carga de células tumorales representativa.

Los tres valores se suman para producir una puntuación de 3 a 9, a la que se asignan grados de la siguiente manera: 3 a 5 puntos = grado 1, bien diferenciado; 6–7 puntos = grado 2, moderadamente diferenciado; y 8-9 puntos = grado 3, pobremente diferenciado(1). Con el fin de garantizar la calidad, se recomienda informar los componentes de la puntuación individual además de la calificación calculada. La clasificación de pequeñas muestras de tejido, como las muestras de biopsia con aguja gruesa (CNB), es posible y, a menudo, necesaria en la era del tratamiento neoadyuvante, pero debe reconocerse que tiene limitaciones, en particular debido a la capacidad reducida inherente para evaluar con precisión la frecuencia mitótica. Esto puede dar lugar a una subestimación del grado real en dichas muestras.(2)

PERFIL DE INMUNOHISTOQUIMICA

Las células IBC generalmente son positivas para citoqueratinas de bajo peso molecular (CK7, CK8/18, CK19), EMA, E-cadherina, BCL2 y GATA3 (sin embargo, las formas mal diferenciadas pueden perder la expresión de uno o más de estos marcadores)(12).

Receptores hormonales: la expresión de ER nuclear debe evaluarse en IBC debido a su utilidad para predecir el beneficio clínico de la terapia endocrina y su uso en varios algoritmos de tratamiento clínico para cánceres con ER positivo versus cáncer con ER negativo(2). La expresión de PR tiende a variar más que la expresión de ER, y esto ayuda a explicar la efectividad de PR para estratificar aún más los casos de ER positivos en categorías de pronóstico, aunque los umbrales de PR específicos para este propósito no están bien validados(2). Las recomendaciones de las pautas de la Sociedad Estadounidense de Oncología Clínica (ASCO)/Colegio de Patólogos Estadounidenses (CAP) de 2010 para las pruebas inmunohistoquímicas de ER y PR en el cáncer de mama establecen que los cánceres de mama con tan solo el 1% de las células con una intensidad débil de tinción de ER deben ser considerado positivo, debido a la evidencia del beneficio potencial de la terapia endocrina, y la actualización de 2019 de estas pautas ha

mantenido este umbral. Sin embargo, los cánceres invasivos con una positividad de ER del 1 al 10 % se deben informar como ER positivos bajos, con recomendaciones adicionales de interpretación y notificación(2). Hay datos más limitados sobre el beneficio de las terapias endocrinas en este grupo, pero sugieren un posible beneficio de las terapias endocrinas, por lo que los pacientes se consideran elegibles para este tratamiento. Sin embargo, se observa que este grupo es heterogéneo, y el comportamiento biológico de los cánceres positivos bajos para ER puede ser más similar al de los cánceres negativos para ER. Esto debe tenerse en cuenta en la toma de decisiones para otras terapias adyuvantes y en la clasificación/clasificación general del tratamiento(2). Siempre debe evaluarse un control externo (con tejidos positivos y negativos apropiados), y los controles internos también deben teñirse como se espera cuando estén presentes. (12) Puede haber una variabilidad regional en la expresión del receptor hormonal, y el porcentaje informado debe reflejar el porcentaje de células positivas en la muestra completa del cáncer invasivo analizado (no solo en el área de mayor expresión). Cuando la intensidad es variable, se puede informar como un rango o una intensidad promedio, y muchos sistemas usan un rango de 0, 1+, 2+ y 3+. Se pueden utilizar diferentes sistemas de puntuación para combinar la información de intensidad y porcentaje para obtener una puntuación general (p. ej., la puntuación H o la puntuación Allred). Además de los resultados de porcentaje e intensidad, también debe incluirse en el informe una interpretación como ER/PR positivo o negativo(12). La exploración de baja potencia a menudo es insuficiente para la detección de niveles focales o débiles de expresión del receptor hormonal; por lo tanto, en los casos que parecen negativos con un aumento bajo, también es apropiado un escaneo de mayor aumento del portaobjetos para descartar una positividad del receptor hormonal débil. Se pueden utilizar diferentes sistemas de puntuación para combinar la información de intensidad y porcentaje para obtener una puntuación general (p. ej., la puntuación H o la puntuación Allred). Además de los resultados de porcentaje e intensidad, también debe incluirse en el informe una interpretación como ER/PR positivo o negativo(2). La exploración de baja potencia a menudo es insuficiente para la detección de niveles focales o débiles de expresión del receptor

hormonal; por lo tanto, en los casos que parecen negativos con un aumento bajo, también es apropiado un escaneo de mayor aumento del portaobjetos para descartar una positividad del receptor hormonal débil. Se pueden utilizar diferentes sistemas de puntuación para combinar la información de intensidad y porcentaje para obtener una puntuación general (p. ej., la puntuación H o la puntuación Allred)(1).

HER2: HER2 es miembro de una familia de receptores de factores de crecimiento, que también incluye EGFR (HER1), ERBB3 (HER3) y ERBB4 (HER4), que regulan la proliferación, el desarrollo y la supervivencia de las células normales.(13) HER2 se encuentra en la superficie celular en niveles bajos en el epitelio mamario normal. En el 10-20% de los IBC, se amplifica el gen ERBB2 (HER2), lo que da como resultado una sobreexpresión de la proteína HER2 en la superficie celular(14). Esta sobreexpresión de proteína puede resultar en la promoción de una biología del cáncer más agresiva debido a aumentos en la proliferación del cáncer, la motilidad celular y la angiogénesis(14). Hay una serie de terapias dirigidas a HER2 disponibles en la actualidad, algunas de las cuales se usan en combinación con la primera (y todavía estándar) terapia biológica anti-HER2, trastuzumab (Herceptin)(15). Se requieren pruebas de HER2 en cualquier IBC-NST nuevo, porque los casos positivos pueden tratarse con terapias dirigidas a HER2 además de quimioterapia, con aumentos significativos en la supervivencia. La sobreexpresión de la proteína HER2 se puede evaluar mediante inmunohistoquímica o la amplificación de ERBB2 se puede identificar mediante hibridación in situ(16). Las recomendaciones detalladas de rendimiento e interpretación de las pruebas están disponibles en las pautas específicas de cada país, por ejemplo, las publicadas por ASCO/CAP. Debido a que la inmunohistoquímica está fácilmente disponible, con un costo menor, muchos laboratorios utilizan la inmunohistoquímica como la primera prueba realizada; si hay un resultado equívoco (tinción 2+)(13), el caso se remite automáticamente para hibridación in situ (ya sea internamente o en un laboratorio de referencia)(16). La actualización de 2018 de las pautas de prueba de HER2 de ASCO/CAP recomienda

un mayor énfasis en el uso de inmunohistoquímica para guiar la interpretación y las pruebas de categorías de hibridación in situ inusuales (los llamados grupos 2, 3 y 4) para los criterios de interpretación para la inmunohistoquímica de HER2 y la hibridación in situ(16). La evaluación de la intensidad de la tinción también es crítica para la determinación adecuada del estado inmunohistoquímico de HER2, siendo la sobre interpretación de la intensidad de la tinción una de las causas más comunes de discordancia entre la inmunohistoquímica de HER2 (positiva) y la hibridación in situ (negativa)(16). La comparación de la intensidad de la mancha con controles negativos (0–1+) y positivos (3+) debe servir como referencia para las medidas de intensidad(13). Un enfoque práctico es utilizar la regla de ampliación, que tiene en cuenta la ampliación de la lente necesaria para evaluar la tinción, de la siguiente manera: utilizando un ocular de 10x, si se observa tinción con un objetivo de 2–5x, se puede considerar fuerte intensidad; la tinción detectada con un objetivo de 10 a 20 aumentos se considera de débil a moderada; y la tinción detectable solo en 40x se considera débil/apenas perceptible(15). Los intérpretes deben tener en cuenta los patrones de tinción inusuales (p. ej., heterogeneidad agrupada) y los resultados discordantes (p. ej., un cáncer de grado 1 con tinción de HER2 3+)(15). Laboratorios y patólogos que evalúan la inmunohistoquímica de HER2 y/o ERBB2 la hibridación in situ debe participar en procesos externos de garantía de calidad para garantizar la precisión de los resultados(17).

Histología de los cánceres con receptores hormonales positivos: los cánceres de mama con receptores hormonales positivos tienen un espectro de morfologías y grados. Van desde cánceres bien diferenciados compuestos por células blandas que forman estructuras tubulares/ductales hasta cánceres pobremente diferenciados compuestos por células con un pleomorfismo nuclear sustancial y un crecimiento más parecido a una hoja. Sin embargo, la mayoría de los cánceres de mama que son fuertemente ER positivos y HER2 negativos se encuentran en el espectro de grado bajo a intermedio. Cabe señalar que los cánceres con porcentajes bajos de células ER positivas (y HER2 negativas) con frecuencia tienen características histológicas más similares a las de los cánceres triple negativos de

alto grado(17). Debido a que la vía hacia los cánceres de mama típicos fuertemente positivos para ER incluye otras lesiones precursoras/de riesgo no obligadas con alta expresión de ER, como DCIS (predominantemente de grado nuclear bajo a intermedio), hiperplasia ductal atípica y atipia epitelial plana, así como lesiones in situ lobulillares, estas lesiones se identifican con frecuencia en el contexto de IBC-NST ER-positivo, y a veces representan una gran proporción de los hallazgos de imagen iniciales(17). Los cánceres asociados con mutaciones de la línea germinal BRCA2 a menudo son ER positivos.

Histología de los cánceres positivos para HER2: estos cánceres de mama suelen ser de alto grado histológico y con frecuencia se asocian con antecedentes de CDIS de comedón de alto grado. Los cánceres positivos para HER2 suelen tener núcleos muy pleomórficos y un citoplasma eosinofílico más abundante que los cánceres triple negativos, lo que a veces da a las células una apariencia vagamente apocrina. La proliferación es alta, pero más baja en promedio que en los cánceres triple negativos (en el rango de 20 a 60%)(18). Los patrones de crecimiento típicos son cordones infiltrantes o nidos sólidos de células, pero ocasionalmente se observan patrones de una sola fila.(17)

CARACTERISTICAS MOLECULARES

Amplificación de HER2

En la actualidad existen diferentes técnicas para identificar la amplificación del gen HER2(19). La hibridación in situ fluorescente (FISH) se considera el estándar de oro(20). Otras variantes de la técnica son la hibridación in situ cromogénica (CISH) y la hibridación in situ con plata (SISH), que pueden ser sencillas (basándose solamente en la detección de HER2) o duales (basándose en la relación de HER2 y el centrómero del cromosoma 17)(21). Se debe buscar la amplificación de HER2

en los casos que resulten indeterminados (positivo 2+) por IHQ(22). Se pueden emplear las técnicas de CISH o SISH siempre y cuando se haya realizado un proceso de validación de estas en paralelo con la técnica de FISH y se haya demostrado una concordancia de al menos el 95% entre la FISH y otra metodología.

Criterios de interpretación de las reacciones de hibridación para HER2

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

- En el corte del tumor con H-E se debe seleccionar la zona de carcinoma invasor, el estudio no se realizará en áreas de carcinoma in situ.
- Inicialmente se evalúa el control, si no es adecuado debe repetirse la prueba.
- Debe hacerse una evaluación global del caso y contar un mínimo de 20 células neoplásicas para SISH o CISH y 40 para FISH, en por lo menos dos campos diferentes de carcinoma invasor.

En caso de haber áreas con y sin amplificación, han de contarse por separado(14). Se debe informar como amplificado con una nota que especifique que hay zonas sin amplificación(23)

Puntos de corte para FISH y SISH dual

- Positivo. Razón HER2/CEP 17 >2 .
- HER2/CEP 17 <2 pero con una cuenta absoluta de HER2 por núcleo >6 .
- Indeterminado. Razón HER2/CEP 17 <2 y con una cuenta absoluta de HER2 por núcleo ≥ 4 y <6 .

Negativo. Razón HER2/CEP 17 <2 y una cuenta absoluta <4 negativo.(14)

Puntos de corte para CISH sencilla

- Positivo: >6 copias/núcleo.
- Indeterminado: de 4 a 6 copias/núcleo (en dos conteos).
- Negativo: >4 copias/ núcleo (14)

Se recomienda usar preferentemente sistemas duales.

En las siguientes situaciones poco habituales, se recomienda:26

- En reacciones de sonda sencilla, si el conteo de señales es >4 pero <6 , repetir el estudio con sondas duales
- En reacciones de sondas duales, en las situaciones que se enlistan a continuación, se sugiere realizar IHQ en ese mismo tejido. Si el laboratorio que realiza la hibridación no fue el mismo que realizó la IHQ, con base en la repetición de la IHQ, se informa el estatus positivo (3+), o negativo (0 o 1+) del caso; pero si confirma ser 2+, se realiza una nueva interpretación, bajo ciego, por otro observador. Está también justificado realizar IHQ o hibridación en bloques adicionales del caso(24)

Si la nueva evaluación arroja nuevamente alguna de estas situaciones poco habituales, se informa de la siguiente manera:

- Relación $HER2/CHR\ 17 < 2.0$, pero el promedio de señales de $HER2 \geq 6$: positivo.
- Relación $HER2/CHR\ 17 < 2.0$, pero el promedio de señales de $HER2 \geq 4$ y < 6 : negativo.
- Relación $HER2/CHR\ 17 \geq 2.0$, pero el promedio de señales de $HER2 < 4$: negativo.

En todos los casos se realiza un comentario de la escasa evidencia en este tipo de situaciones.(15)

CLASIFICACIÓN MOLECULAR DEL CARCINOMA MAMARIO Y SU APROXIMACIÓN CON INMUNOHISTOQUÍMICA

El trabajo de medicina traslacional sobre los cuatro fenotipos moleculares del cáncer de mama (luminal, con sobreexpresión de HER2, fenotipo basal y el similar a mama normal) definidos inicialmente mediante genómica ha permitido aproximarse a esta clasificación mediante metodologías más accesibles como la IHQ, empleando marcadores como RE, RP y HER2(3).

| SUBTIPO | APROXIMACION POR IHQ |
|----------------------|---|
| Luminal A | RE +, RP >20 %, Ki 67 < 20 %, Grado histológico 1 o 2 y HER 2 - |
| Luminal B (HER 2 -) | RE +, HER 2 -, RP < 20% o Ki67 >20% Grado histológico 3 |
| Luminal B (HER 2 +) | RE +, HER 2 +, RP y Ki 67 cualquier valor |
| HER 2 | HER 2 +, RE - y RP - |
| Triple negativo | RE -, RP - y HER 2- |

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La presencia o ausencia de receptores Her 2 puede y debe determinarse debido a que el tratamiento anti Her 2 otorga a las pacientes afectadas con carcinoma invasor de mama mayor probabilidad de supervivencia. Existen diversas técnicas para la determinación estos receptores, la más aceptada es la tinción de inmunohistoquímica sin embargo cuando esta técnica resulta en un score 2 + indeterminado (debido a la desdiferenciación propia de la lesión, alteraciones en la fijación o procesamiento del tejido, procesos técnicos o interpretación del especialista en patología) es necesario continuar mediante determinación por amplificación con técnicas de hibridación in situ.

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Cuál es el resultado de la hibridación in situ en pacientes con carcinoma invasor de mama HER2 indeterminado atendidas en el HEP durante 2020 a 2022?

3. JUSTIFICACIÓN

Si bien el uso de la inmunohistoquímica es útil para la identificación de los receptores que se encuentran en el epitelio de mama. La expresión de los receptores tipo HER2 con resultado 2+ (indeterminado) que son clasificados por microscopia óptica son corroborados con su determinación por hibridación in situ. Este es un proceso que eleva el costo y tiempo de diagnóstico, sin embargo otorga beneficios y oportunidades de tratamiento para las pacientes afectadas. Es por eso que es de suma importancia para el tratamiento y pronóstico de las pacientes con Diagnóstico de Carcinoma invasor de mama investigar los resultados que fueron diagnosticados como HER 2 indeterminado y su resultado por hibridación in Situ. En nuestro país el carcinoma invasor de mama es un problema de salud pública de gran relevancia y la primera causa de muerte en mujeres a partir de la cuarta década de la vida. El cáncer de mama tiene un comportamiento biológico muy heterogéneo de acuerdo con la población afectada.

La clasificación molecular (Luminal) es de utilidad pues en base a la presencia de receptores hormonales y her 2 permite que se determine el tratamiento del que las pacientes se pueden beneficiar. Así mismo conocer la tendencia del estatus de Her 2 en pacientes atendidas en el HEP sirve para establecer un antecedente en favor al diagnóstico de esta patología en nuestra población.

4. HIPÓTESIS

Al ser un estudio descriptivo, no se requiere hipótesis

5. OBJETIVOS

5.1. Objetivo general

Identificar el resultado de la hibridación in situ en pacientes con carcinoma invasor de mama HER2 indeterminado atendidas en el HEP durante 2020 a 2022

5.2. Objetivos específicos

Identificación de Pacientes con diagnóstico de Carcinoma Invasor de Mama Her 2 indeterminado

Evaluación del resultado de Expedientes con Diagnostico de Carcinoma Invasor de Mama Her 2

6. MATERIAL Y METODOS

6.1. Tipo de estudio

Material y métodos:

El estudio se caracterizó por ser de tipo descriptivo, lo que implicó un enfoque detallado en la observación y análisis de un fenómeno específico. En cuanto a su temporalidad, se clasificó como transversal, ya que se llevó a cabo en un solo momento en el tiempo, permitiendo una instantánea de la situación.

La recolección de datos se realizó de manera ambielectiva, lo que significó que se utilizaron múltiples métodos para obtener información, garantizando así una mayor riqueza en los datos recopilados. Además, el estudio es unicéntrico, lo que indica que se centró en una única institución para su desarrollo. Finalmente, la población estudiada fue homodémica, por lo que se compone de individuos con características similares, facilitando una comparación más directa entre ellos.

6.2. Ubicación temporal

El estudio se llevó a cabo en el servicio de Anatomía Patológica de la Unidad Médica de Alta Especialidad Hospital de Especialidades Centro Médico Nacional General de División "Manuel Ávila Camacho" de la ciudad de Puebla, durante el periodo de 2022 a 2024.

6.3. Estrategia de trabajo

A partir del asentimiento del presente protocolo se comenzó con la recolección de la muestra. Los datos se adquirieron de la base de datos del archivo del servicio de Anatomía Patología y del archivo clínico. Una vez obtenidos los reportes histopatológicos y reporte de Fluorescencia por hibridación in Situ, se vaciaron los datos en hojas de recolección y se realizaron análisis descriptivos de los resultados, análisis estadísticos y, finalmente, discusión y conclusiones. Se usó base de datos preliminares en hojas de cálculo de Excel y programa estadístico SPSS.

6.4. MARCO MUESTRAL

6.4.1 Universo de estudio

El estudio se realizó en pacientes diagnosticadas con Carcinoma de mama durante el periodo establecido entre Enero de 2020 y Diciembre 2022

6.4.2 Sujetos de estudio

Pacientes que fueron diagnosticadas con Carcinoma Invasor de mama y lesiones en mama con estudios de inmunohistoquímica de perfil de mama (RE, RP,HER2) y determinación por hibridación in situ durante un periodo establecido entre Enero de 2020 y Diciembre 2022

6.4.3 Criterios de selección

6.4.3.1 Criterios de Inclusión

Pacientes femeninas derechohabientes del Instituto Mexicano del Seguro Social, con antecedentes de mastectomía (simple, conservadora o radical modificada), lumpectomía o biopsia por aguja de corte grueso. Además, se incluyeron casos con revisión de laminillas y reporte histopatológico de carcinoma invasor de mama con receptor HER 2 indeterminado (2+), así como aquellas con reporte histopatológico de lesiones en mama con receptor HER 2 positivo, y los informes de hibridación in situ, que ofrecieron una visión detallada del comportamiento molecular de las lesiones.

6.4.3.2 Criterios de exclusión

Pacientes no derechohabientes al Instituto Mexicano del Seguro Social, ausencia de datos clínicos completos, falta de reporte histopatológico, así como la ausencia de reporte de hibridación in situ. Además, se excluyeron aquellos casos en los que la revisión de laminillas no contaba con los bloques de parafina necesarios.

6.4.3.3 Criterios de eliminación

Los reportes histopatológicos, las laminillas y los bloques de parafina que habían sido erróneamente clasificados, presentando tejido discordante.

6.5 DISEÑO Y TIPO DE MUESTREO

Se realizó un muestreo no probabilístico

6.6 TAMAÑO DE LA MUESTRA

Se recolectaron todos los reportes de anatomía patológica que contenían diagnóstico de carcinoma de mama invasor HER2 indeterminado (2+) y lesiones en mama, o lesiones sugestivas de lesión primaria en mama, con inmunohistoquímica HER2 y su resultado de fluorescencia por hibridación in situ. Esta recolección abarcó a pacientes atendidas en el CMN Manuel Ávila Camacho, en un periodo comprendido entre enero de 2020 y diciembre de 2022. Durante este tiempo, se sistematizaron los informes para garantizar que solo los casos que cumplían con los criterios establecidos fueran incluidos en el análisis, permitiendo así una evaluación más precisa de los resultados obtenidos

6.7 ANALISIS DE DATOS

El análisis de los datos consistió en la utilización de técnicas estadísticas tanto inferenciales como descriptivas, con el objetivo de obtener una descripción completa de los resultados relacionados con el carcinoma invasor de mama HER2 indeterminado y su resultado de fluorescencia por hibridación in situ en pacientes atendidas en el CMN 'Manuel Ávila Camacho', durante el periodo comprendido entre enero de 2020 y diciembre de 2022.

Se emplearon medidas estadísticas descriptivas, tales como frecuencias, porcentajes, media, desviación estándar, mediana y rango intercuartílico, para ofrecer una visión clara de los resultados obtenidos.

Además, se aplicaron técnicas estadísticas inferenciales, como pruebas de hipótesis, análisis de regresión y correlación, con el fin de evaluar la relación entre las variables de resultado por inmunohistoquímica y el resultado de fluorescencia por hibridación in situ. Se buscó determinar si existían diferencias significativas entre ambos resultados y explorar su posible conexión.

Los resultados del análisis de datos fueron presentados en tablas y gráficos, facilitando la comprensión y visualización de los hallazgos. Asimismo, se realizó una discusión detallada sobre los resultados, en relación con los objetivos específicos del estudio, y se compararon con los hallazgos de otros estudios previos en la literatura científica, con el propósito de contextualizar los resultados dentro del estado actual del conocimiento.

7. ASPECTOS ETICOS

El estudio fue aprobado por el Comité Local de Salud. El protocolo fue diseñado siguiendo los lineamientos establecidos en los siguientes códigos:

Reglamento de la Ley General de Salud: De acuerdo con el reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud, específicamente en los títulos primero al sexto y noveno, 1987.

Norma Técnica No. 313: Referente a la presentación de proyectos e informes técnicos de investigación en las instituciones de atención a la salud.

Reglamento Federal: Título 45, sección 46, el cual se ajusta a las buenas prácticas clínicas.

Declaración de Helsinki: Establece los principios técnicos para las investigaciones médicas en seres humanos, con su última revisión realizada en Escocia, en octubre de 2000.

Además, se siguieron los principios éticos establecidos por la Asociación Médica Mundial, basados en la Declaración de Helsinki, que estipula que todos los sujetos en estudio firmarían un consentimiento informado, en el que se detallan los alcances del estudio y la autorización para utilizar los datos obtenidos en presentaciones y publicaciones científicas.

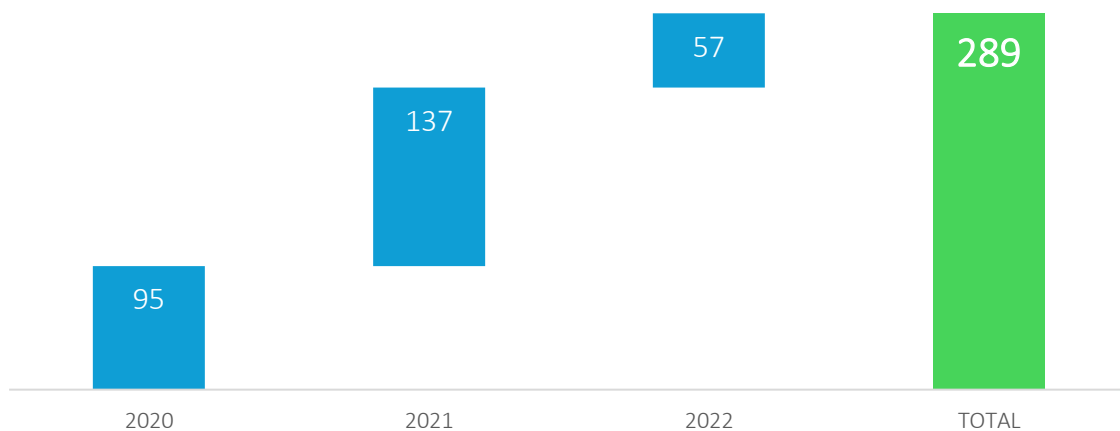
En todo momento, se garantizó el anonimato de los participantes, y los datos recolectados se utilizaron exclusivamente con fines científicos.

Este estudio fue clasificado como investigación sin riesgo.

8. RESULTADOS

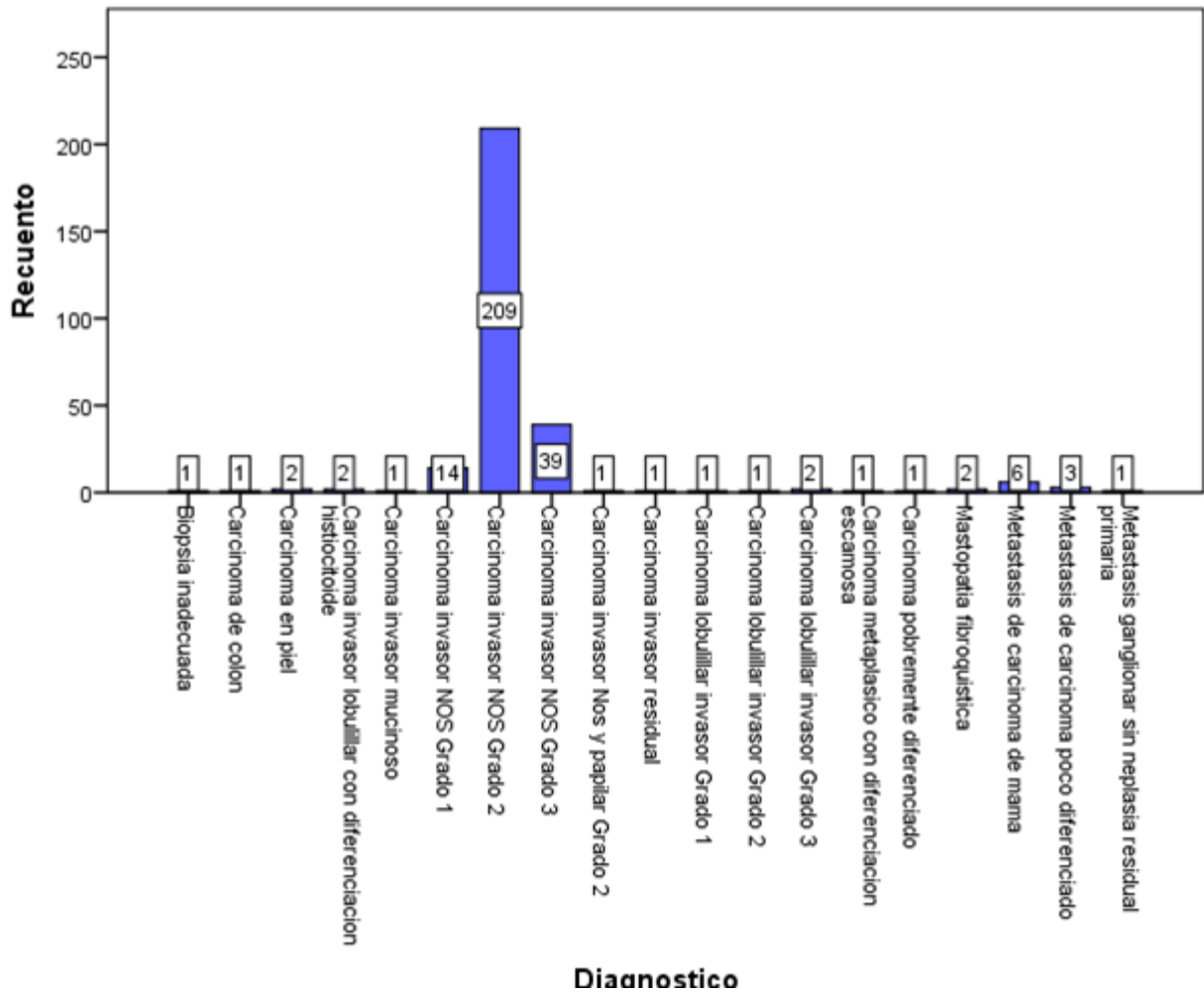
De las 289 pacientes a las que se les diagnosticó lesión en mama o sugestiva de lesión primaria en mama y alguna variante de carcinoma mamario con perfil de mama por inmunohistoquímica (RE, RP, HER2, Ki 67) en un periodo de 3 años (2020-2022). La edad mínima fue de 26 años, y la edad máxima de 98 teniendo la muestra una edad promedio de 57 años.

Gráfico 1. Número de pacientes muestreados del año 2020-2022



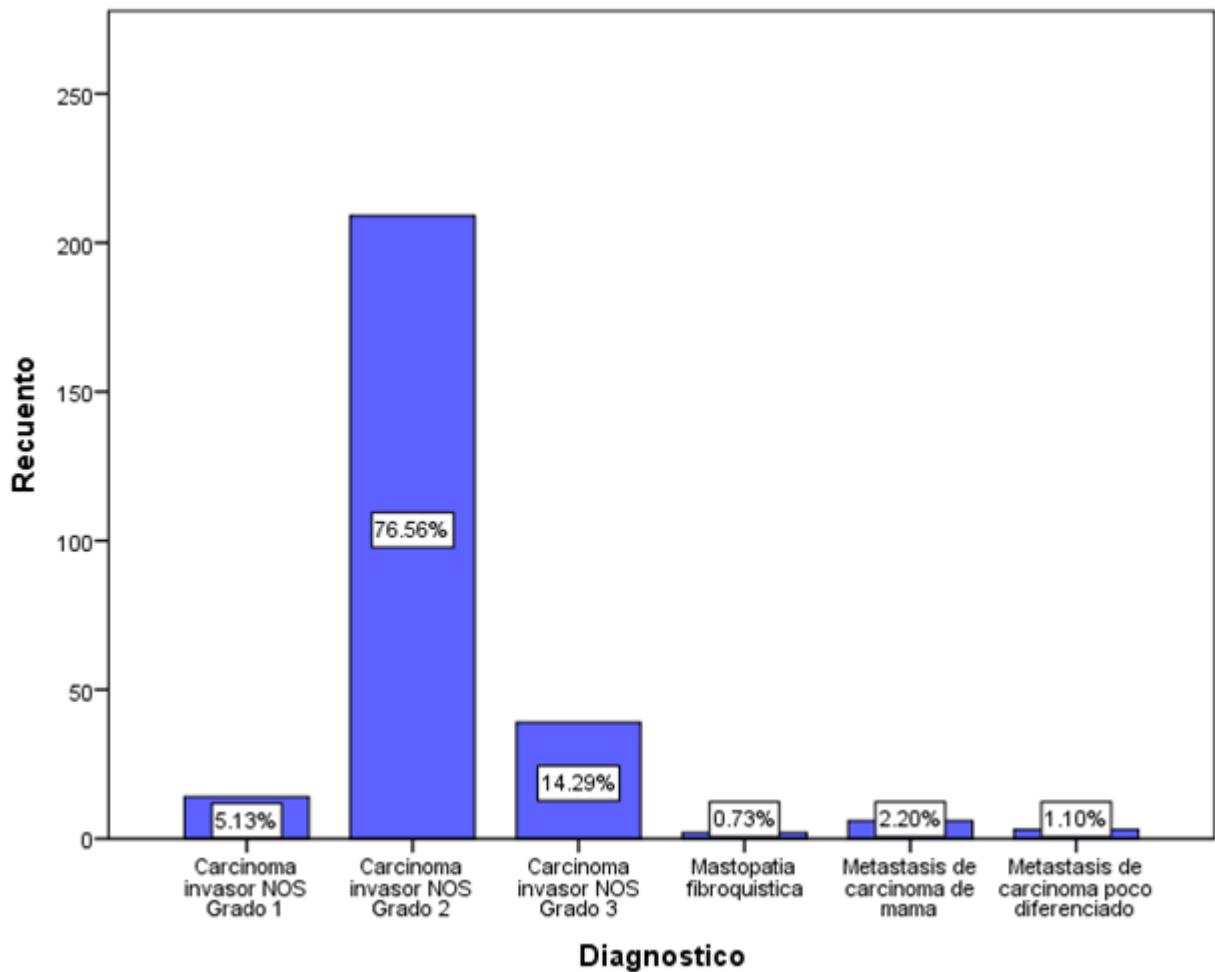
El diagnóstico histopatológico de las lesiones se realizó mediante las directrices proporcionadas por la OMS y mediante los protocolos de reporte de cáncer del College of American Pathologists (CAP), teniendo 19 variables para el diagnóstico. Es importante señalar que las neoplasias con diagnóstico distinto al Carcinoma mamario (Carcinoma de colon, Carcinoma en piel, Carcinoma pobremente diferenciado, Metástasis ganglionar sin neoplasia residual, Metástasis de carcinoma pobremente diferenciado, Carcinoma metaplasico con diferenciación escamosa) expresaron cierto grado de Her 2 por inmunohistoquímica y debido al contexto clínico de la lesión o bien su evaluación morfológica fueron incluidas en este estudio.

Gráfico 2. Diagnósticos por Estudio Histopatológico.



Siendo las lesiones más frecuentes el Carcinoma invasor NOS Grado 2 (76%), seguido del Carcinoma invasor NOS Grado 3 (14.29%), Carcinoma invasor NOS Grado 1 (5.13%), Metástasis de carcinoma de mama (2.20%), Metástasis de carcinoma poco diferenciado (1.10%), Mastopatía fibroquística (0.73%).

Grafico 3. Diagnósticos Histopatológicos más Frecuentes.



La evaluación de los diferentes tipos de muestra apporto una calidad distinta al diagnóstico histopatológico siendo algunas más detalladas que otras. En este análisis se creó un rubro denominado “No especificado” en el cual se incluyeron las muestras que presentaban discordancia con la solicitud del estudio y el etiquetado de la misma, discrepancia en la lateralidad referida, discrepancia en la referencia de la muestra y el material recibido en las revisiones de laminillas por mencionar algunos ejemplos. Debido a la técnica quirúrgica utilizada o al tratamiento se separaron y se clasificaron procedimientos como mastectomía total, mastectomía radical y mastectomía radical modificada en rubros distintos y también siendo distinguidos por su lateralidad cuando era referida (derecha, izquierda, lateralidad no especificada). Los procedimientos denominados como lumpectomía,

cuadrantectomía y cirugía conservadora de mama fueron englobados en los apartados de tumorectomías correspondientes (derecha, izquierda, lateralidad no referida).

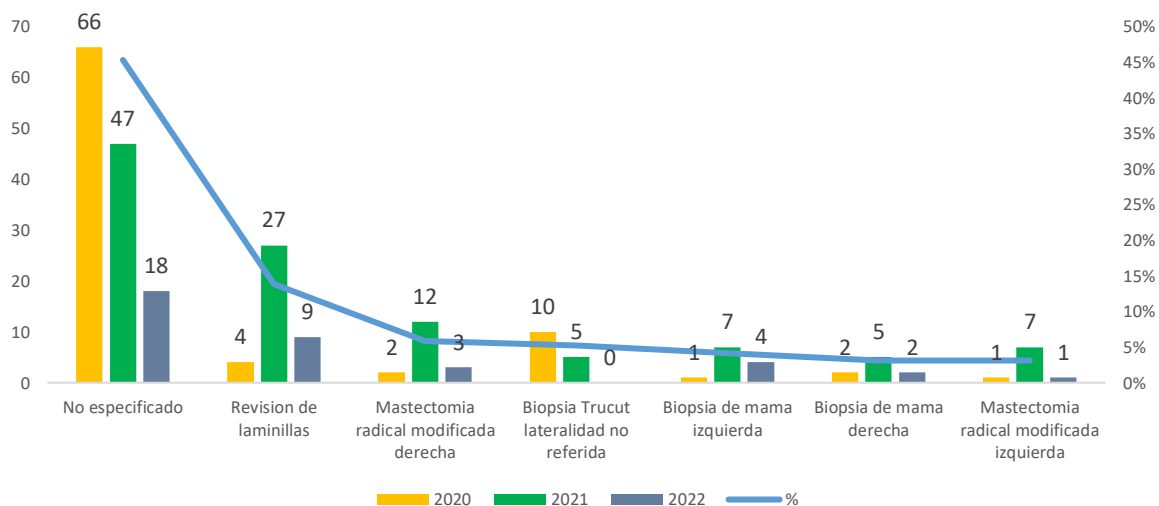
Tabla 1. Frecuencia de procedimientos por año.

FRECUENCIA PROCEDIMIENTOS POR AÑO

| Procedimientos | 2020 | 2021 | 2022 | TOTAL |
|--|-------------|-------------|-------------|--------------|
| <i>Biopsia Trucut lateralidad no referida</i> | 10 | 5 | 0 | 15 |
| <i>No especificado</i> | 66 | 47 | 18 | 131 |
| <i>Mastectomía radical derecha</i> | 2 | 0 | 0 | 2 |
| <i>Revisión de laminillas</i> | 4 | 27 | 9 | 40 |
| <i>Mastectomía izquierda</i> | 1 | 0 | 1 | 2 |
| <i>Biopsia de mama derecha</i> | 2 | 5 | 2 | 9 |
| <i>Biopsia de mama izquierda</i> | 1 | 7 | 4 | 12 |
| <i>Mastectomía radical modificada derecha</i> | 2 | 12 | 3 | 17 |
| <i>Tumorectomía de mama derecha</i> | 1 | 3 | 3 | 7 |
| <i>Biopsia por Arpón de mama lateralidad no referida</i> | 1 | 2 | 0 | 3 |
| <i>Mastectomía radical modificada lateralidad no referida</i> | 1 | 1 | 2 | 4 |
| <i>Tumorectomía de mama lateralidad no referida</i> | 2 | 0 | 0 | 2 |
| <i>Tumorectomía y disección axilar lateralidad no referida</i> | 1 | 2 | 2 | 5 |
| <i>Mastectomía radical modificada izquierda</i> | 1 | 7 | 1 | 9 |
| <i>Tumorectomía de mama izquierda</i> | 0 | 3 | 2 | 5 |
| <i>Mastectomía radical izquierda</i> | 0 | 4 | 1 | 5 |
| <i>Mastectomía lateralidad no referida</i> | 0 | 1 | 0 | 1 |
| <i>Biopsia supraclavicular</i> | 0 | 1 | 0 | 1 |
| <i>Biopsia Trucut de mama izquierda</i> | 0 | 4 | 4 | 8 |
| <i>Biopsia torácica</i> | 0 | 1 | 0 | 1 |
| <i>Biopsia Trucut de mama derecha</i> | 0 | 2 | 0 | 2 |
| <i>Biopsia de mama lateralidad no referida</i> | 0 | 2 | 1 | 3 |
| <i>Biopsia de lesión hepática</i> | 0 | 0 | 2 | 2 |
| <i>Citología de líquido pleural</i> | 0 | 1 | 0 | 1 |
| <i>Biopsia de región frontal izquierda</i> | 0 | 0 | 1 | 1 |
| <i>Biopsia de mediastino</i> | 0 | 0 | 1 | 1 |

Los procedimientos realizados más frecuentes en la recopilación de este estudio fueron: No especificado (45%), Revisión de laminillas (14%), Mastectomía radical modificada derecha (6%), Biopsia trucut de lateralidad no referida (5%), Biopsia de mama izquierda (4%), Biopsia de mama derecha (3%), Mastectomía radical modificada izquierda (3%).

Gráfico 4. Procedimientos más Frecuentes



Los resultados por inmunohistoquímica de Her 2 se ordenaron conforme a su valoración Histopatológica y se clasifico 2 formas para denominar negativa la expresión del receptor, siendo “Her 2, negativo” (correspondiente a Score 0 en la valoración por microscopia óptica) y “Her 2 +, negativo” (correspondiente a Score 1+ en la valoración por microscopia óptica) pues aunque ambos son negativos el comportamiento biológico y molecular de la lesión es distinto. En este apartado de igual manera se creó un rubro denominado como “No especificado” cuando debido a las características del tejido problema (artificios mecánicos, artificios de procesamiento, escasa celularidad, expresión en lesiones localizadas en mama pero con morfología sugerente de lesión primaria distinta, expresión en metástasis

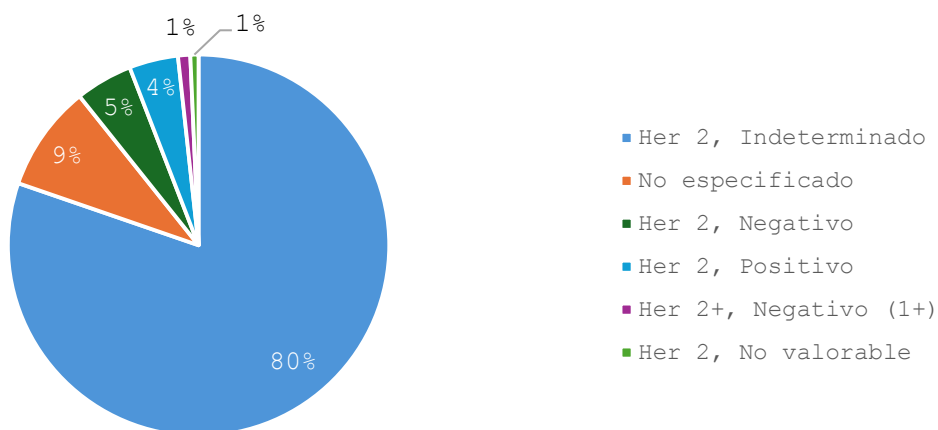
de carcinomas poco diferenciados) o del tejido control (falta de reacción en el tejido control, tejido control inadecuado o falta de tejido control) no era posible confirmar o descartar la reactividad del tejido problema a HER 2. Así mismo el rubro “no valorable” comprende resultados en los que la expresión en las células estaba presente pero incumpliendo los criterios diagnósticos. Se observó una mayor frecuencia el resultado indeterminado (80%), seguido del no especificado (9%), Her 2, negativo (5%), Her 2, positivo (4%), Her 2+, negativo (1+), Her 2 no valorable.

Tabla 2. Resultado por inmunohistoquímica

Resultado por inmunohistoquímica

| <i>Resultado por inmunohistoquímica HER 2</i> | 2020 | 2021 | 2022 | TOTAL |
|---|-------------|-------------|-------------|--------------|
| <i>Her 2, Indeterminado</i> | 83 | 102 | 47 | 232 |
| <i>No especificado</i> | 10 | 13 | 3 | 26 |
| <i>Her 2, Negativo</i> | 2 | 8 | 4 | 14 |
| <i>Her 2+, Negativo (1+)</i> | 0 | 3 | 0 | 3 |
| <i>Her 2, Positivo</i> | 0 | 9 | 3 | 12 |
| <i>Her 2, No valorable</i> | 0 | 2 | 0 | 2 |

Gráfico 5. Resultado por inmunohistoquímica de HER 2



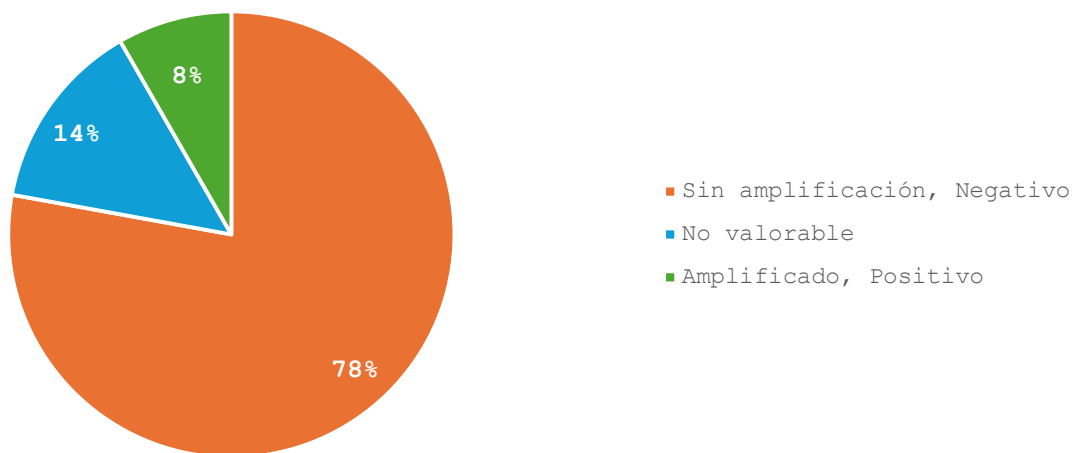
El estudio de amplificación por hibridación in Situ se realiza de forma subrogada fuera de la unidad los resultados para este estudio pueden ser: Amplificado (Positivo), Sin amplificación (Negativo), Indeterminado, esto ocurre cuando aún con la continuación del estudio no es posible determinar la presencia o ausencia de los receptores para HER 2 en la célula. Los resultados del rubro “no valorable” corresponden a ausencia de tejido neoplásico o ausencia de componente invasor.

Teniendo como resultados en orden descendente de frecuencia: Sin amplificación (78%), No valorable (14%), Amplificado (8%)

Tabla 3. Resultado para amplificación HER2

| <i>Resultado para amplificación HER 2</i> | 2020 | 2021 | 2022 | TOTAL |
|---|------|------|------|-------|
| <i>Sin amplificación, Negativo</i> | 72 | 105 | 48 | 225 |
| <i>No valorable</i> | 11 | 22 | 7 | 40 |
| <i>Amplificado, Positivo</i> | 12 | 10 | 2 | 24 |
| | | | | 289 |

Resultado para amplificación HER 2



9. DISCUSION

La mayor parte de los resultados de inmunohistoquímica (IHC) arrojaron un resultado HER2 indeterminado esto pudo deberse a algunos factores propios de la lesión o del material analizado.

Factores que Afectan la Indeterminación:

Variabilidad Tumoral: La heterogeneidad en la expresión de HER2 dentro del tumor puede dar lugar a resultados indeterminados.

Calidad de la Muestra: Muestras de baja calidad o deterioradas pueden resultar en una expresión subóptima de la proteína.

Por otra parte la mayoría de las muestras con resultado HER2 indeterminado a las que se les realizó Hibridación in situ fueron negativas.

Resultados Negativos en Hibridación In Situ (ISH):

Interpretación de ISH: Los resultados de ISH se consideraron negativos si no había amplificación del gen HER2, lo que indico que el tumor no tenía la alteración genética que justificase el tratamiento con terapias dirigidas a HER2.

En lo que corresponde a la literatura la Correlación entre Resultado Inmunohistoquímica Indeterminado y Amplificación por Hibridación in Situ Negativo encontró que un porcentaje significativo de resultados indeterminados en IHC correlaciona con resultados negativos en ISH. Esto sugirió que, en algunos casos, la baja expresión de HER2 observada en IHC podría ser indicativa de la falta de amplificación del gen.

Esta variabilidad se debió a los mecanismos biológicos propios de la neoplasia pues la expresión de HER2 en la superficie celular no siempre refleja la presencia de amplificación del gen. Tumores con sobreexpresión de la proteína pueden no tener amplificación genética, y viceversa.

Las implicaciones clínicas que esto conlleva dan lugar a un cambio en la toma de decisiones terapéuticas.

La identificación de resultados indeterminados en IHC y negativos en ISH es crucial, ya que estos pacientes no calificarían para tratamientos como trastuzumab, que se utilizan en tumores HER2 positivos.

Un manejo adecuado de estos casos implica considerar alternativas terapéuticas basadas en el perfil molecular y otros factores clínicos.

Estos resultados requerirán de reevaluación y seguimiento en pacientes con resultados indeterminados, se puede recomendar una reevaluación o el uso de técnicas adicionales como la secuenciación del ADN o pruebas de mutación para entender mejor la biología del tumor.

10. CONCLUSION

La relación entre los resultados indeterminados en IHC y negativos en ISH es compleja y crítica para el manejo del cáncer de mama. La interpretación cuidadosa de estos resultados y la implementación de estrategias diagnósticas adecuadas son esenciales para ofrecer el tratamiento más efectivo a los pacientes

Se debe establecer protocolos claros para la interpretación de IHC y ISH pues esto puede ayudar a reducir la tasa de indeterminación para lograrlo la capacitación del personal en las técnicas de IHC y ISH es fundamental.

Algunos estudios han evaluado cohortes de pacientes con cáncer de mama, encontrando que aquellos con resultados indeterminados en IHC tienen una probabilidad significativa de ser negativos en ISH, como así mismo se observó en este estudio, lo que refuerza la importancia de realizar ambas pruebas y considerar sus resultados en conjunto.

Así mismo se debe lograr una integración más cercana en el manejo interdisciplinario de estos padecimientos teniendo una adecuada comunicación entre todos los involucrados principalmente entre los Médicos Tratantes y Médicos Anatomopatólogos para evitar sesgos u omisión en la información que podría ser de vital importancia para el diagnóstico y posteriormente tratamiento de las pacientes afectadas

11. REFERENCIAS.

1. WHO Classification of Tumors Editorial Board . WHO Classification of Tumors. In: Allison K.H., Salgado R, editors. WHO classification of tumors Breast Tumors. 5th ed. Lyon: International Agency for Research on Cancer; 2019.
2. Elston CW, Ellis O. Pathological prognostic factors in breast cancer. I. The value of histological grade in breast cancer: experience from a large study with long-term follow-up Pathological prognostic factors in breast cancer. 1. The value of histological grade in breast cancer: experience from a large study with long-term follow-up. Vol. 19, Histopathology. 1991.
3. Rakha Emad A., Reis-Filho Jorge S., Baehner Frederick, Dabbs David J., Decker Thomas, Eusebi Vincenzo, et al. Breast cancer prognostic classification in the molecular era: the role of histological grade. Breast Cancer Research. 2010;12.
4. Reynoso-Noverón N, Villareal-Garza C, Soto-Peres-de-Celis E, Arce-Salinas C, Matus-Santos J, Ramirez Ugalde M T, et al. Clinical and Epidemiological Profile of Breast Cancer in Mexico: Results of the Seguro Popular. Mexico City; 2017 Dec.
5. Arnold M, Morgan E, Rungay H, Mafra A, Singh D, Laversanne M, et al. Current and future burden of breast cancer: Global statistics for 2020 and 2040. Breast. 2022 Dec 1;66:15–23.
6. International Agency for Cancer Research. The Global Cancer Observatory. Globocan. México. ; 2020.
7. Arnold M, Pandeya N, Byrnes G, Renehan AG, Stevens GA, Ezzati M, et al. Global burden of cancer attributable to high body-mass index in 2012: A population-based study. Lancet Oncol. 2015;16(1):36–46.
8. Maffuz-Aziz A, Labastida - Almendaro S, Sherwell - Cabello S, Ruvalcaba Limón E, Dominguez - Reyes CA, Tenorio- Torres JA, et al. Supervivencia de pacientes con cáncer de mama. Análisis por factores pronóstico, clínicos y patológicos. Ginecología Obstetrica Mexicana. 2016;498–506.
9. Connolly James L, Fechner Robert E, Page David L, Silverberg Steven G, Fechner Robert E. Immediate Management of Mammographically Detected Breast Lesions. Am J Surg Pathol. 1993;17(8):850–1.
10. Schnitt Stuart J, Wang Helen H. Histologic Sampling of Grossly Benign Breast Biopsies. Am J Surg Pathol. 1989;13(6):505–12.

11. Colleoni M, Rotmensz N, Maisonneuve P, Sonzogni A, Pruneri G, Casadio C, et al. Prognostic role of the extent of peritumoral vascular invasion in operable breast cancer. *Annals of Oncology*. 2007;18(10):1632–40.
12. Allison KH, Elizabeth ; M, Hammond H, Dowsett ; Mitchell, Mckernin SE, Carey LA, et al. Estrogen and Progesterone Receptor Testing in Breast Cancer: ASCO/CAP Guideline Update. *J Clin Oncol* [Internet]. 2020;38:1346–66. Available from: [https://doi](https://doi.org/10.1200/JCO.2020.38.1346).
13. Yaqo RT, Keorges GJ, Alnaqshabandi SMM, Abdullah KM. Evaluation of her2/neu gene in equivocal cases assessed by ihc in invasive breast cancer. *Archivos Venezolanos de Farmacologia y Terapeutica*. 2021;40(6):643–7.
14. Gunnarsson C, Jansson, Holmlund, Olsson H. Methods for evaluating HER2 status in breast cancer: comparison of IHC, FISH, and real-time PCR analysis of formalin-fixed paraffin-embedded tissue. *Pathol Lab Med Int*. 2013 Sep;31.
15. Wolff AC, Hammond MEH, Hicks DG, Dowsett M, McShane LM, Allison KH, et al. Recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast. *Journal of Clinical Oncology*. 2013 Nov 1;31(31):3997–4013.
16. Moelans CB, de Weger RA, van der Wall E, van Diest PJ. Current technologies for HER2 testing in breast cancer. Vol. 80, *Critical Reviews in Oncology/Hematology*. 2011. p. 380–92.
17. Kaufman PA, Bloom KJ, Burris H, Gralow JR, Mayer M, Pegram M, et al. Assessing the discordance rate between local and central HER2 testing in women with locally determined HER2-negative breast cancer. In: *Cancer*. John Wiley and Sons Inc.; 2014. p. 2657–64.
18. Bethune GC, Veldhuijzen van Zanten D, Macintosh RF, Rayson D, Younis T, Thompson K, et al. Impact of the 2013 American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists guideline recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 (HER2) testing of invasive breast carcinoma: A focus on tumours assessed as “equivocal” for HER2 gene amplification by fluorescence in-situ hybridization. *Histopathology*. 2015 Dec 1;67(6):880–7.
19. Emde A, Köstler WJ, Yarden Y. Therapeutic strategies and mechanisms of tumorigenesis of HER2-overexpressing breast cancer. Vol. 84, *Critical Reviews in Oncology/Hematology*. 2012. p. 49–57.
20. Bethune GC, Veldhuijzen van Zanten D, Macintosh RF, Rayson D, Younis T, Thompson K, et al. Impact of the 2013 American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists guideline recommendations for

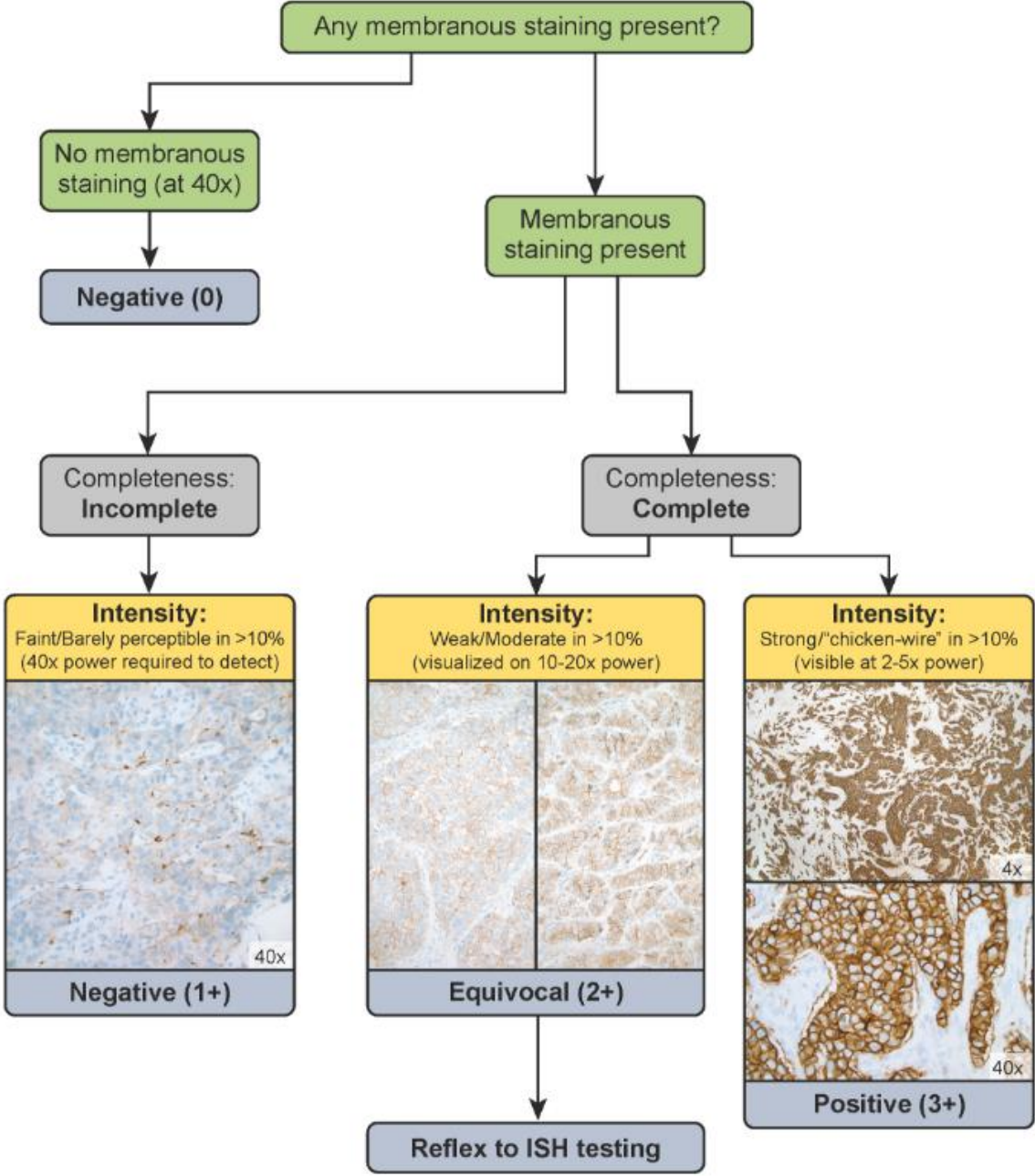
human epidermal growth factor receptor 2 (HER2) testing of invasive breast carcinoma: A focus on tumours assessed as “equivocal” for HER2 gene amplification by fluorescence in-situ hybridization. *Histopathology*. 2015 Dec 1;67(6):880–7.

21. Qian XL, Wen HY, Yang YL, Gu F, Guo XJ, Liu FF, et al. Assessment of dual-probe Her-2 fluorescent in situ hybridization in breast cancer by the 2013 ASCO/CAP guidelines produces more equivocal results than that by the 2007 ASCO/CAP guidelines. *Breast Cancer Res Treat*. 2016 Aug 1;159(1):31–9.
22. Varga Z, Noske A, Ramach C, Padberg B, Moch H. Assessment of HER2 status in breast cancer: overall positivity rate and accuracy by fluorescence in situ hybridization and immunohistochemistry in a single institution over 12 years: a quality control study [Internet]. 2013. Available from: <http://www.biomedcentral.com/1471-2407/13/615>
23. Patil Okaly G, Panwar D, Lingappa K, Kumari P, Anand A, Kumar P, et al. FISH and HER2/neu equivocal immunohistochemistry in breast carcinoma. *Indian J Cancer*. 2019 Apr 1;56(2):119–23.
24. Gown AM, Goldstein LC, Barry TS, Kussick SJ, Kandalaf PL, Kim PM, et al. High concordance between immunohistochemistry and fluorescence in situ hybridization testing for HER2 status in breast cancer requires a normalized IHC scoring system. *Modern Pathology*. 2008 Oct;21(10):1271–7.

12. ANEXOS

| Hoja de recolección de Datos | |
|--|--|
| Nombre | |
| Edad | |
| Diagnostico | |
| Procedimiento Realizado | |
| Resultado por inmunohistoquímica Her 2 | |
| Resultado para amplificación Her 2 | |

Algoritmo para la interpretación de la tinción por Inmunohistoquímica HER2 en carcinoma invasor de mama



PROCEDIMIENTO PARA TINCION DE INMUNOHISTOQUIMICA HER 2

PROTOCOLO MANUAL DE INMUNOHISTOQUÍMICA PARA HER-2 Novolink Max Polymer Detection System .

1. Se realizan cortes de 3-4 μm . Secar a 60°C por 1 hora o a 37°C toda la noche.
2. Desparafinar cortes en 2 baños de xilol por 5 minutos cada uno. (Usar Xilol nuevo)
3. Hidratar en: 2 baños de alcohol 100° por 3 min c/u 2 baños de alcohol 95° por 3 min c/u Baño de agua corriente por 30 segundos.
4. Recuperación Antigénica en baño termorregulado: Diluir 1:10 solución recuperadora (epitope retrieval solution 10X, Novolink). Precalentar la solución recuperadora, hasta que alcance los 90-95°C. Constatar la T° interior del copling y colocar los portaobjetos en solución recuperadora.
5. Incubar por 40 min a 95-99°C.
6. Dejar enfriar por al menos 20 minutos a T° ambiente (20°C).
7. Lavar en buffer (1:10) 2 veces por 3 min c/u.
8. Demarcar zona de tejido con lápiz hidrófobo y mantener cortes en buffer de lavado.
9. Bloqueo de peroxidasa por 5 minutos a T° ambiente (20°C).
10. Realizar 2 lavados de 3 min c/u con buffer de lavado.
11. Incubación con Ac primario: por 30 min a T° ambiente.
12. Realizar 2 lavados de 3 min c/u con buffer de lavado.
13. Incubar con reactivo de visualización por 40 min a T° ambiente.
14. Realizar 5 lavados de 2 min c/u con buffer de lavado.
15. Revelar con solución buffer – sustrato más DAB: 1 gota cromógeno en 1 ml de buffer DAB.
16. Lavado abundante en agua destilada
17. Contraste: Hematoxilina 3 minutos Lavado agua corriente 1 minuto Alcohol ácido 1% por 1-2 segundos Lavado agua corriente 1 minuto Acido Bórico 2% (bórax) 1 minuto Deshidratar en 2 baños de alcohol, uno 95° y otro de 100°. Aclarar en 3 baños de Xilol. Montaje con medio hidrófobo

PROCEDIMIENTO PARA AMPLIFICACION POR HIBRIDACION HER 2

- 1.-Se realiza estudio de SISH automatizado (VENTANA BENCHMARK XT®) en cortes desparafinados.
- 2.- Se utiliza sonda dual con plata de Her 2 neu / Centrómero 17 (sonda dual INFORM® VENTANA*).
- 3.- Las preparaciones se observan en microscopio de luz (Nikon 80i).
- 4.- Se digitalizan las imágenes (Nikon DS-Fi1)
- 5.- Se revisan en analizador de imágenes (NIS Elements 2.1).