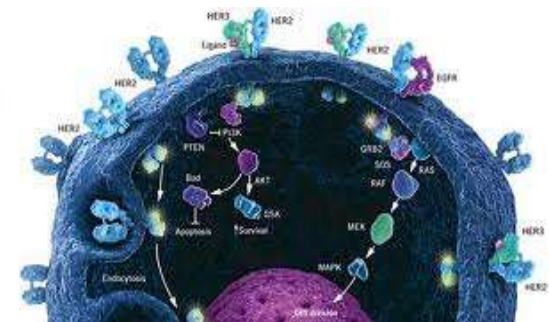
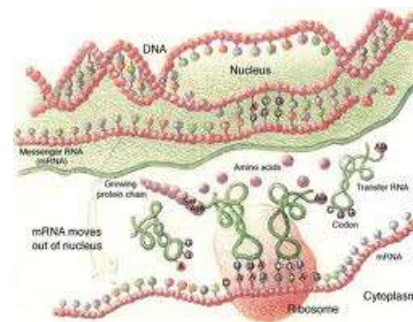
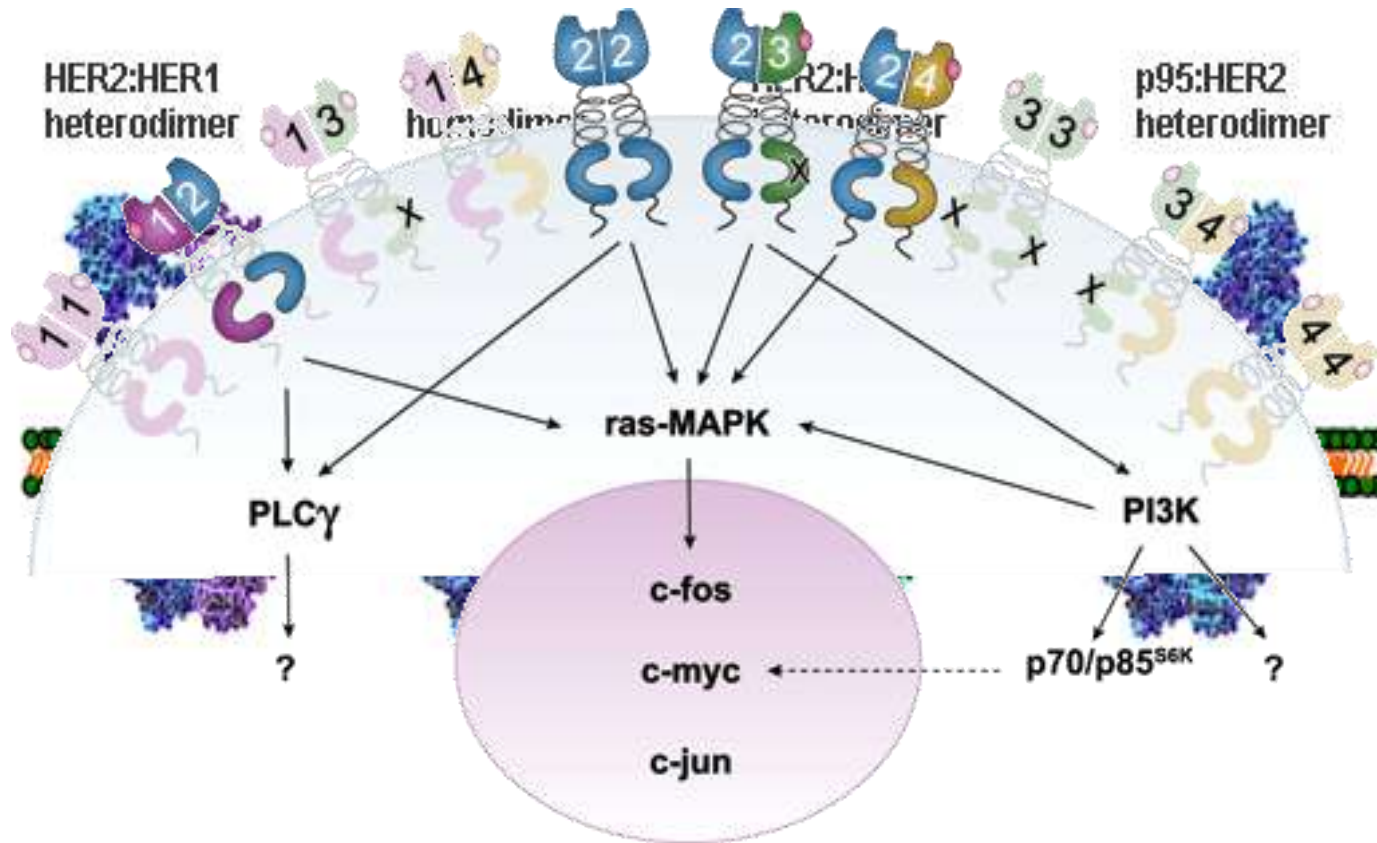


DETERMINACIÓN DEL ESTATUS DEL GEN HER2 EN CÁNCER DE MAMA

¿ADN, mARN o proteína?



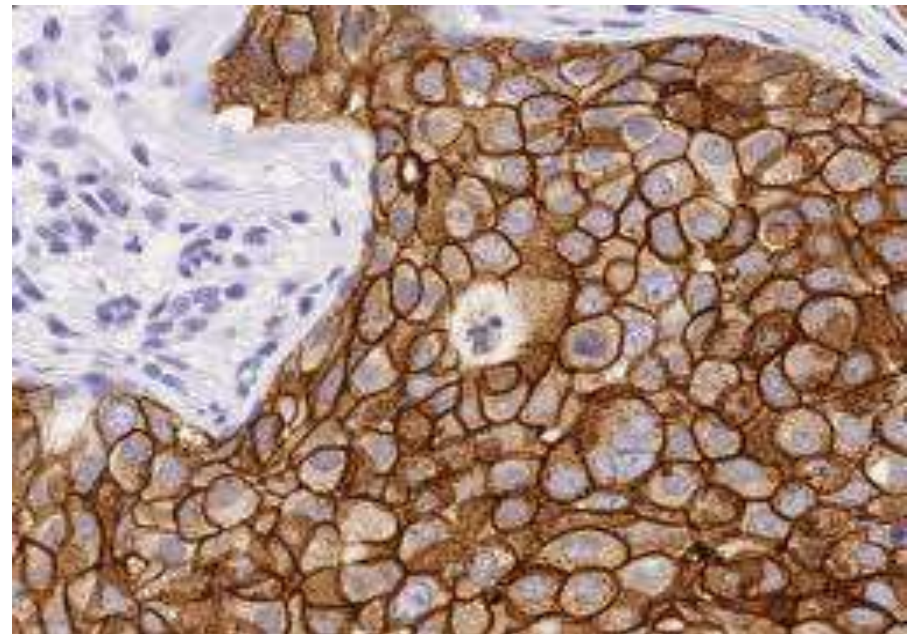


DETERMINACIÓN DEL HER 2

- Valor predictivo
 - Trastuzumab
 - Resistencia tratamientos convencionales
 - < respuesta a terapia adyuvante con tamoxifeno
 - > respuesta a antraciclinas y taxanos
- Clasificaciones moleculares
 - Si es positivo, constituye una entidad molecular
 - Si es negativo, otras
- En CDI:
 - Asociación más frecuente con tumores G2/3, RH neg y con metástasis linfáticas de inicio.
 - F. Pronóstico independiente adverso en relación a supervivencia
 - Mayor probabilidad de metástasis

TÉCNICA IHQ

- Test de inicio más frecuente
- Cuantitativa
- Por medio de líneas celulares, se ha establecido la siguiente correlación:
 - 0 : <20.000 receptores
 - 1+: 100.000 receptores
 - 2+: 500.000 receptores
 - 3+: 2.300.000 receptores



INMUNOHISTOQUÍMICA

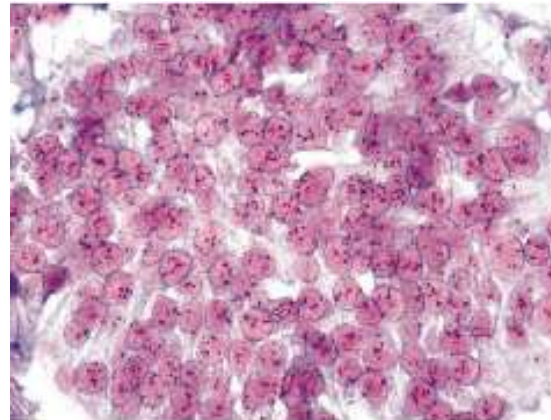
LIMITACIONES	VENTAJAS
Fase preanalítica: Fijación Procesado Inclusión en parafina caliente	Bajo coste
Recuperación antigénica Tipo de ATC (monoclonal vs policlonal) Ausencia de control (+) interno	Buena preservación laminillas inmuno- teñidas
Subjetividad en sistema de gradación semicuantitativo subjetivo	Microscopio de rutina

FISH: PATRÓN ORO”

LIMITACIONES	VENTAJAS
Coste elevado	Puede ser totalmente automatizada
Interpretación laboriosa (tiempo) Necesidad de microscopio fluorescente No permanente	Interpretación más estandarizada
Gran dificultad para ver tejido subyacente y distinguir DCIS de áreas infiltrantes	Control interno

DUO-CISH

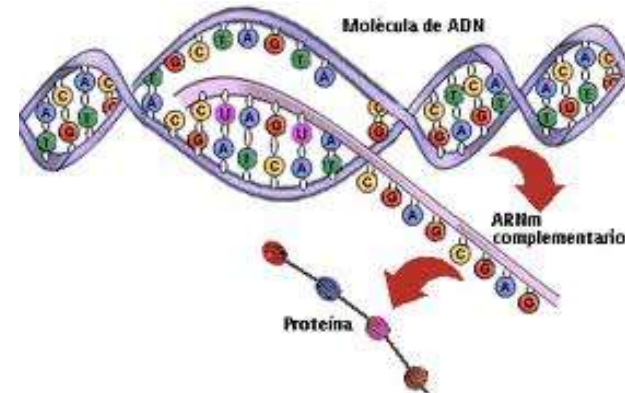
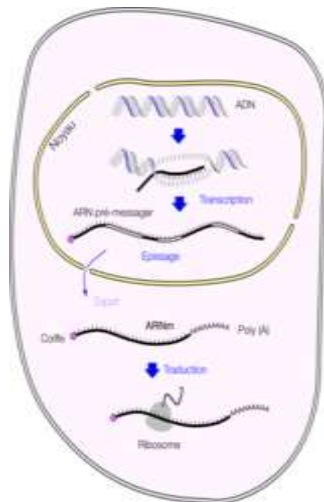
- Concordancia FISH y CISH: 100%
- Tiempo de interpretación: DUO-CISH 28% menos



Tomás García-Caballero et al. Histopathology 2010, 56, 472–480

AMPLIFICACIÓN GEN

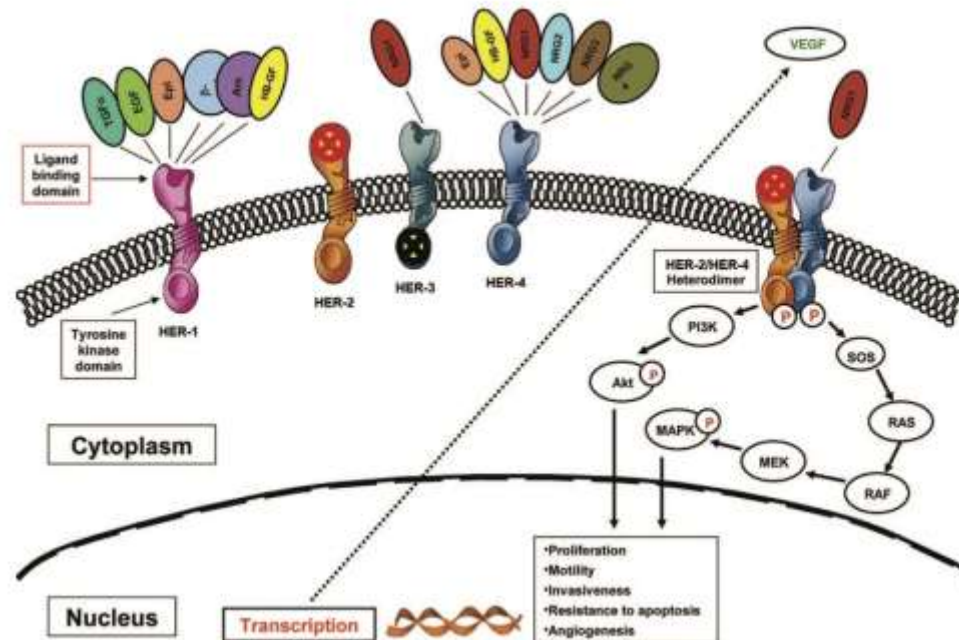
- Amplificación no siempre significa transcripción
Puede ocurrir que muchas amplificaciones no tengan un promotor delante o bien que no queden bajo la influencia del promotor principal o que sean retro-transcritos.
- Presencia de mRNA no implica amplificación del gen, pero tal vez sí vía activada
- Hibridación ADN: sondas oligo-pseudogen



TRASTUZUMAB EN PACIENTES HER-2 NEGATIVOS

■ NSABP-31

- Pueden existir otras vías de transmisión de señal, no relacionadas con la amplificación del HER2, que sean inhibidas por el trastuzumab
- HER2 negativos que sobre-expresan neuroregulina (ligando para HER4) son inhibidos por el trastuzumab



original article

Annals of Oncology 18: 845–850, 2007
doi:10.1093/annonc/mdm059
Published online 9 March 2007

Quantitative real-time PCR analysis and microarray-based RNA expression of HER2 in relation to outcome

J. Bergqvist^{1*}, J. F. Ohd¹, J. Smeds¹, S. Klaar¹, J. Isola², H. Nordgren³, G. P. Elmberger¹, H. Hellborg⁴, J. Bjohle¹, A.-L. Borg¹, L. Skoog¹ & J. Bergh¹

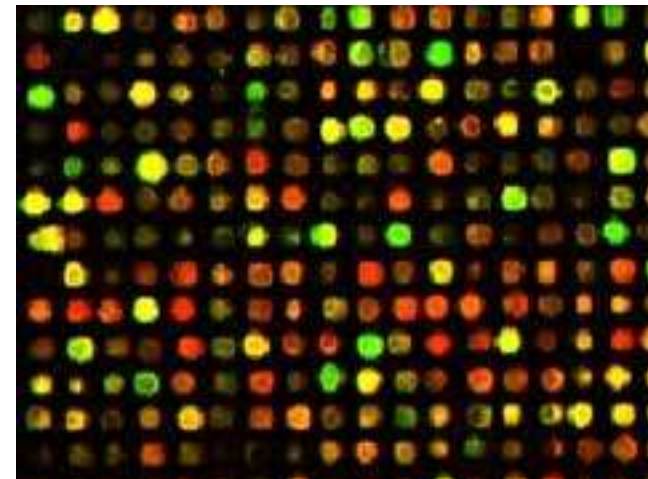
¹Department of Oncology and Pathology, Karolinska Institute and University Hospital, Stockholm, Sweden; ²Laboratory of Cancer Genetics, Institute of Medical Technology and University Hospital of Tampere, Tampere, Finland; ³Department of Pathology, Uppsala University Hospital, Uppsala; ⁴Stockholm-Gotland Regional Tumor Registry, Oncology Centre, Karolinska University Hospital, Stockholm, Sweden

It was recently reported that there is 83% concordance between HER2 mRNA expression and HER2 DNA amplification, resulting in a statistically significant association of 0.67, $P < 0.02$ (Spearman correlation test) [25]. Moreover, our data confirm studies demonstrating substantial agreement between the results of HER2 status evaluation at the DNA, mRNA, and protein levels [28, 29].

mARN

TargetPrint™: Mide mARN del RE, RP y HER2 en tejido fresco (microarray)

Oncotype™: Mide expresión mARN HER2 en cortes parafina (RT-PCR)



HIBRIDACIÓN IN SITU mARN (RISH)

Dr J Alba CENBIMO

Sondas de DNA monocatenario para el estudio de la expresión génica en tejidos fijados en formol e incluidos en parafina mediante la hibridación *in situ*

Alta homología

Alta astringencia

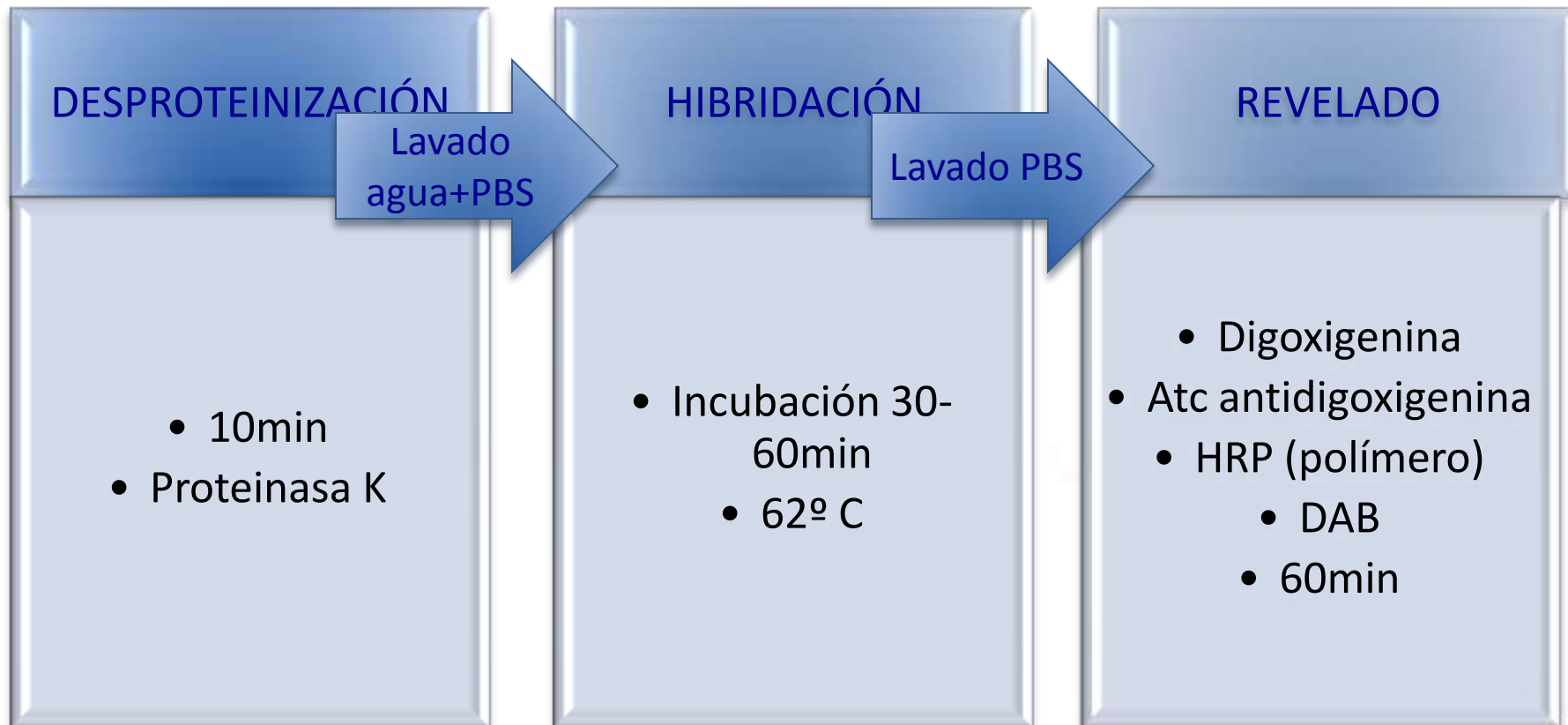
62º C



RISH

CARÁCTERÍSTICAS	VENTAJAS
Sondas de DNA monocatenario más largas que oligos (100-700 nucleótidos)	Mayor especificidad
T sustituidas por U - digoxigenina C - digoxigenina	Rápida incubación
Producto liofilizado con su buffer de hibridación incluido	Técnica tan sencilla como una IHQ
	Almacenamiento y transporte a temperatura ambiente

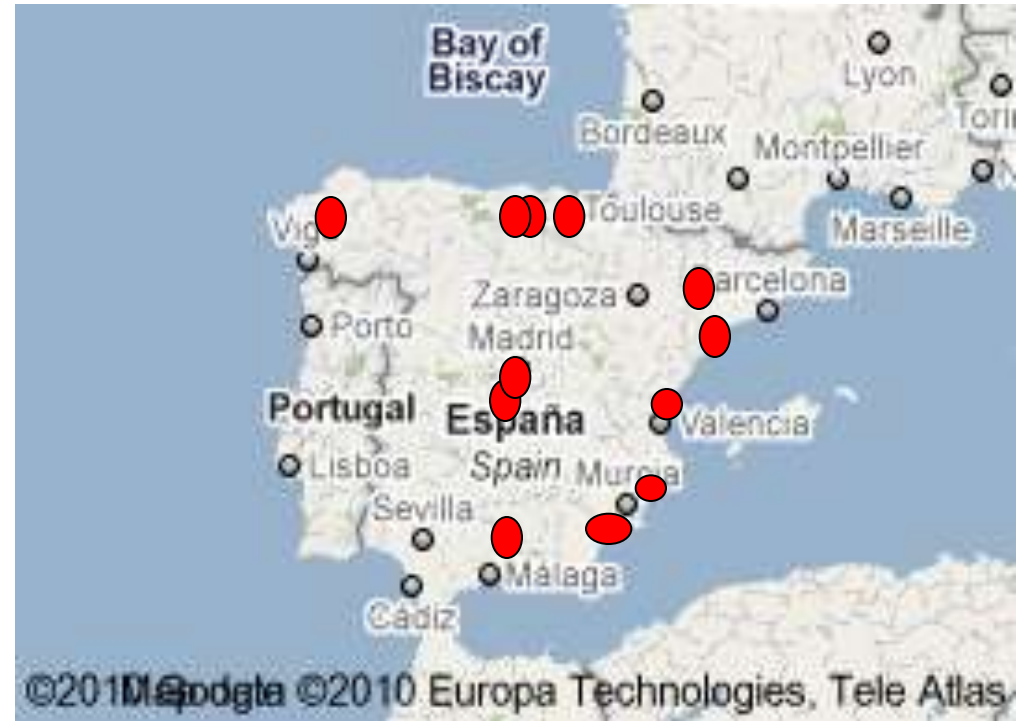
PROTOCOLO RISH



DISEÑO DEL ESTUDIO

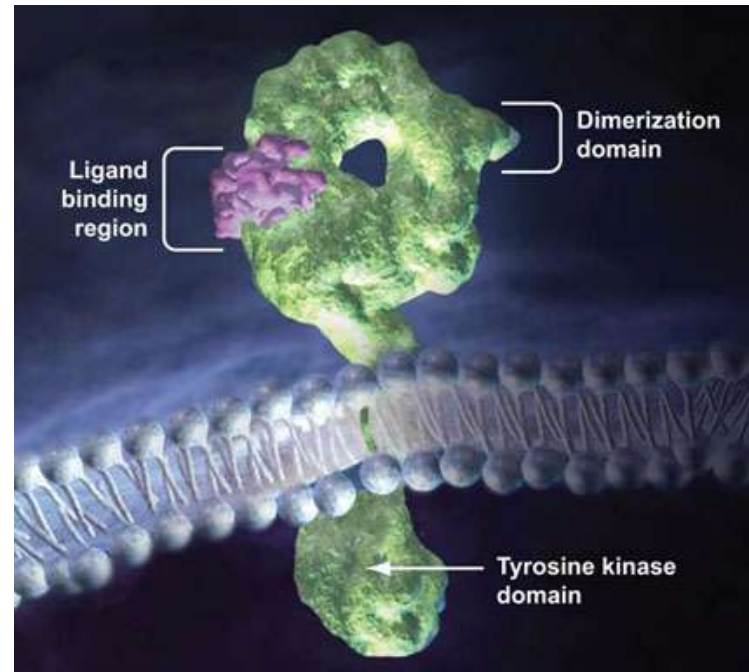
Estudio multicéntrico retrospectivo prospectivo de 435 casos de cáncer de mama, procedentes de 12 hospitales españoles

- H Lluís Alcanyís
- F Jiménez Díaz
- H de la Ribera
- H de Linares
- H Virgen de la Salud
- H Obispo Polanco
- H Universitario Xeral de S de C
- H de Donosti
- H Oncológico de San Sebastián
- H de Reus
- H La Paz
- H de Navarra
- H Virgen de la Arreixaca



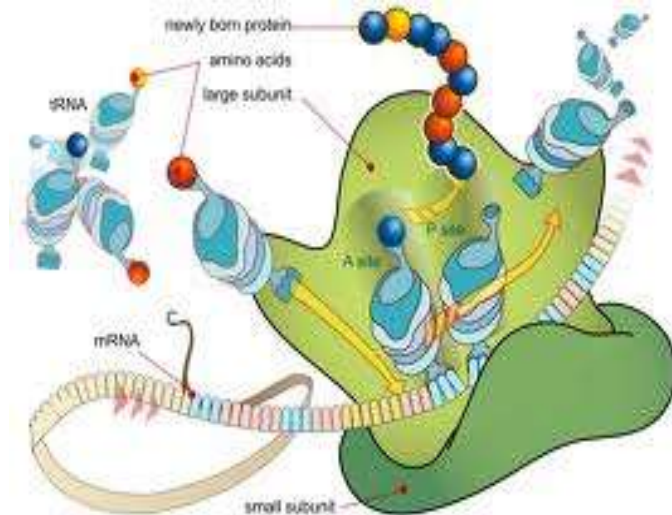
CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- Pacientes diagnosticadas de carcinoma infiltrante de mama (pT1, pT2, pT3 o pT4, N0, N1, N2 o N3)
- Se considerará “caso”
 - Corte representativo del tumor obtenido de la pieza quirúrgica o BAG



MATERIAL Y MÉTODO

- Variables incluidas
 - Iniciales de la paciente
 - Nº de registro
 - Fecha nacimiento
 - Neoadyuvancia: Sí/No
 - Tipo histológico (WHO)
 - Grado: Nottingham
 - LIV: Sí/no
 - Tamaño (mm)
 - RE, RP, Ki-67
 - Hecep-Test, Duo-Cish, Histosonda
 -
 - Comentarios



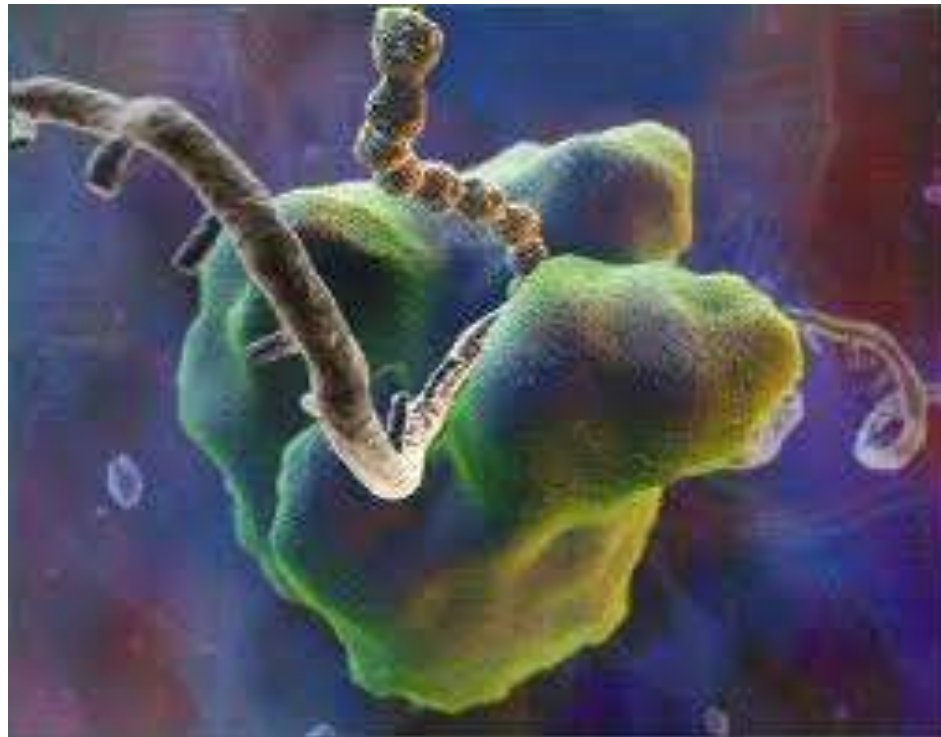
MATERIAL Y MÉTODO



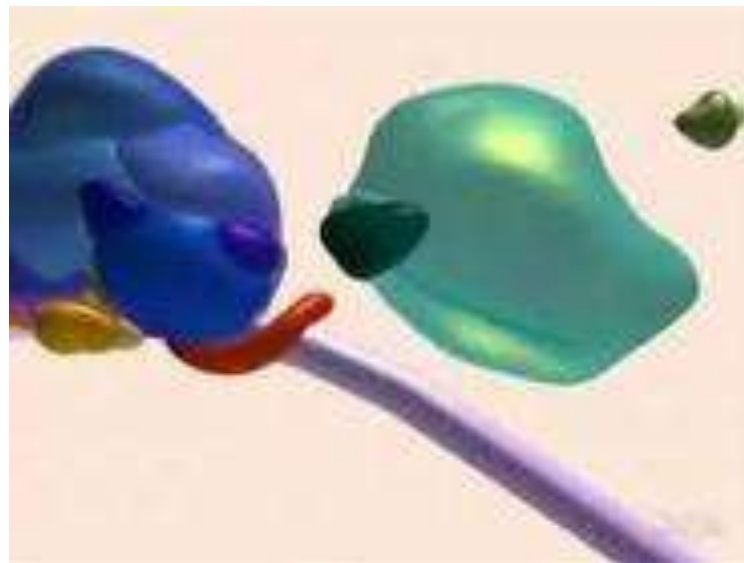
RISH
DUO-CISH

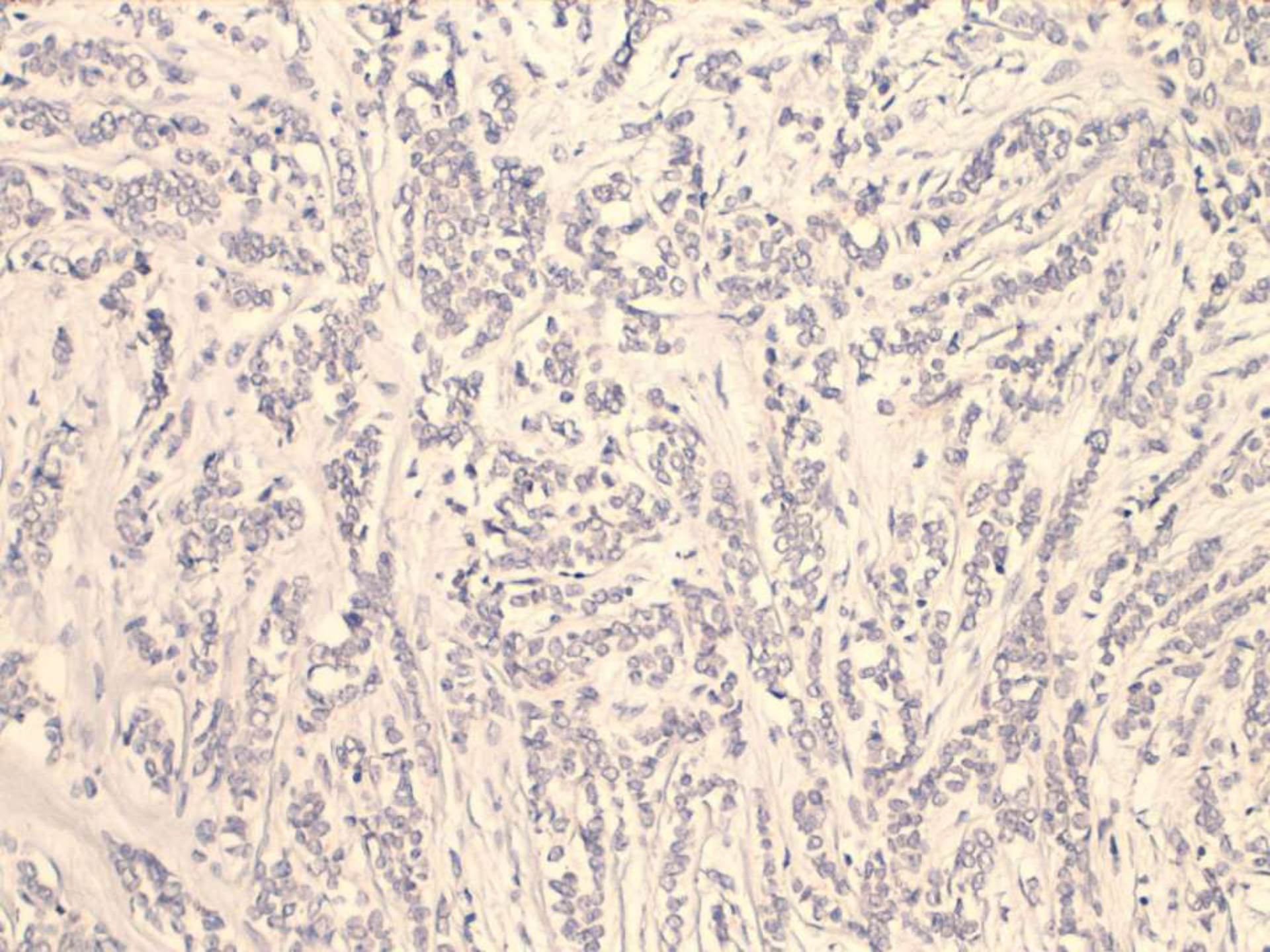
OBJETIVOS

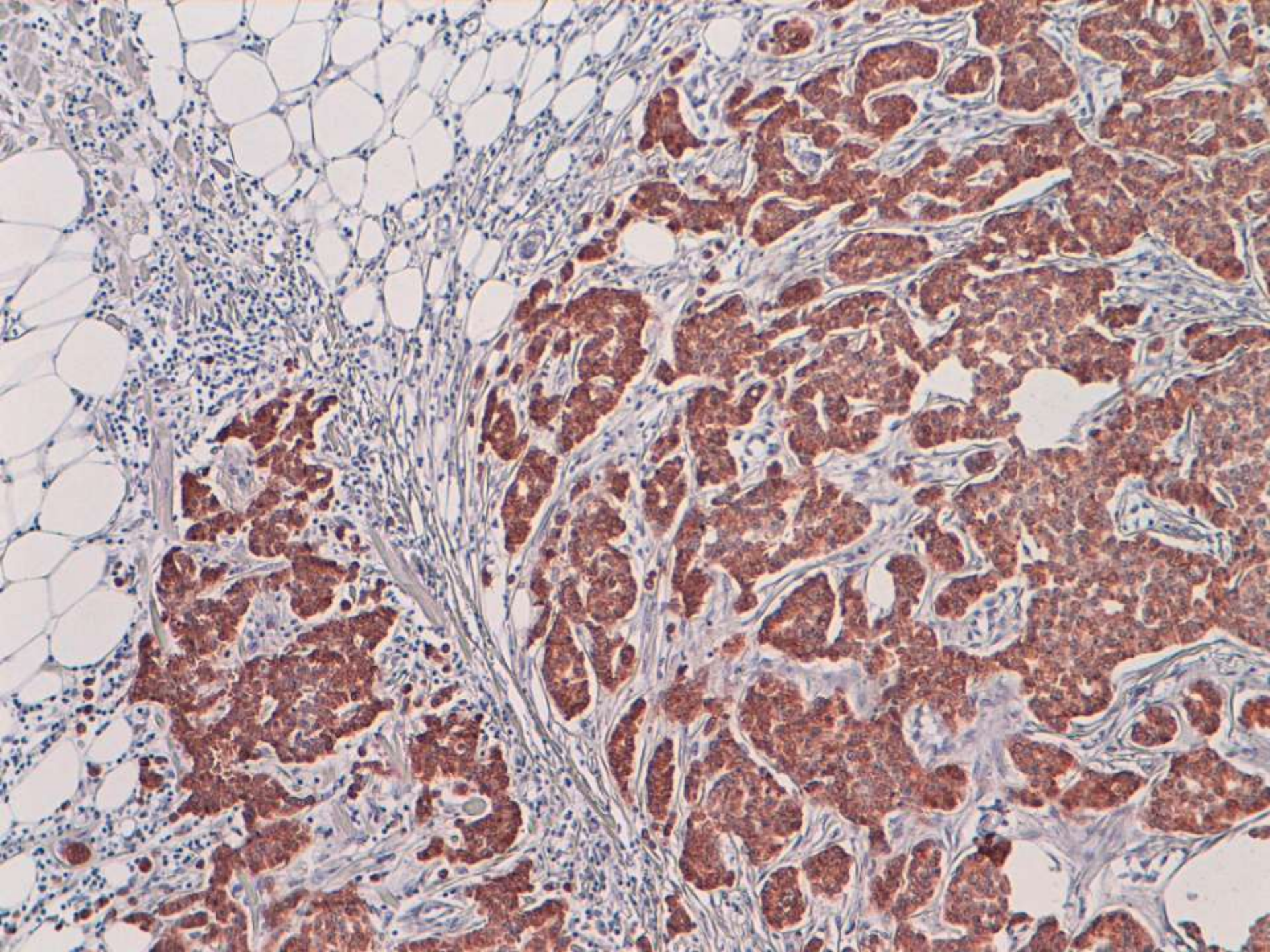
Estudio comparativo de la expresión de HER-2 en carcinoma infiltrante de mama: ADN, mARN y proteína

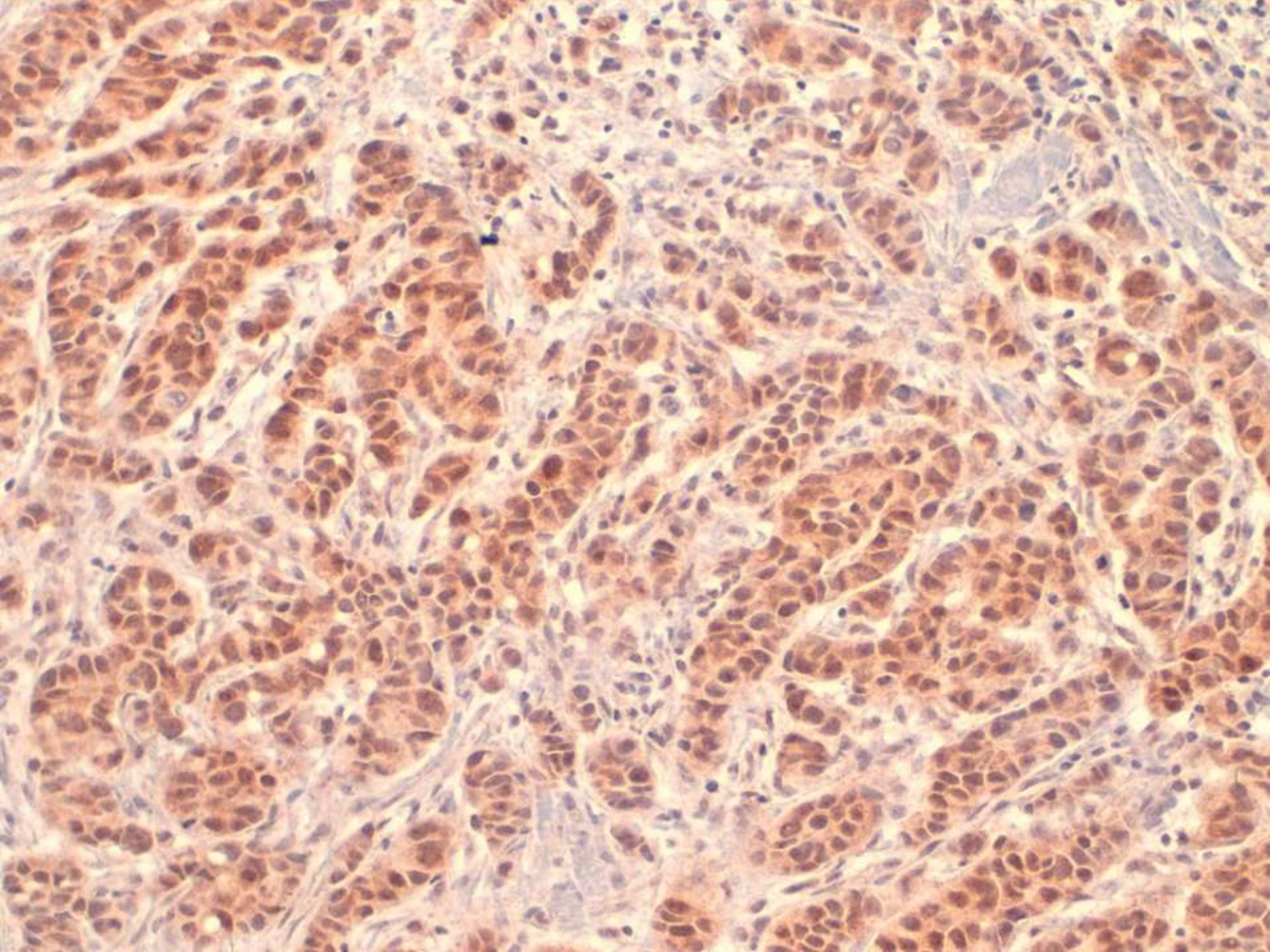


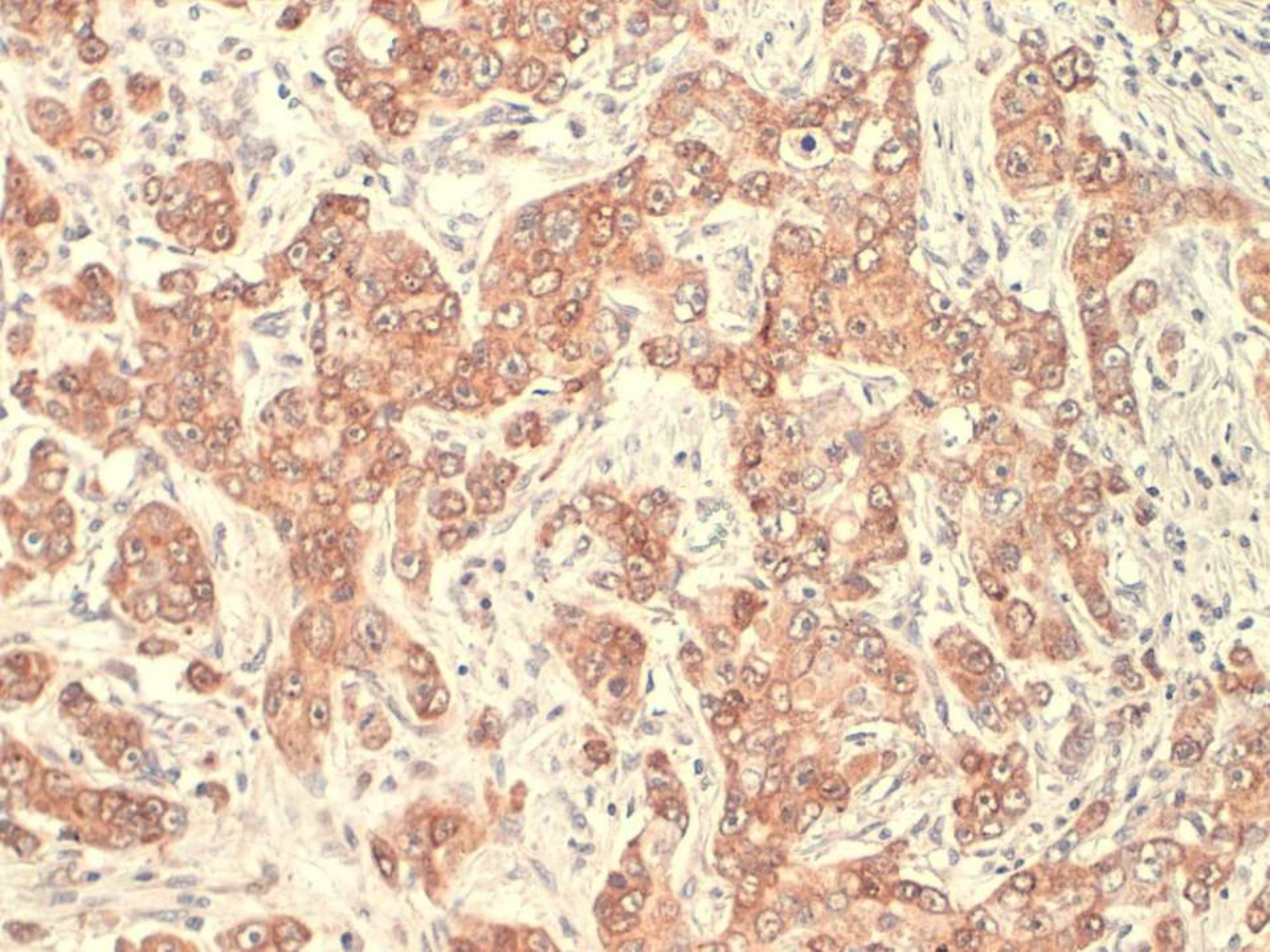
RESULTADOS

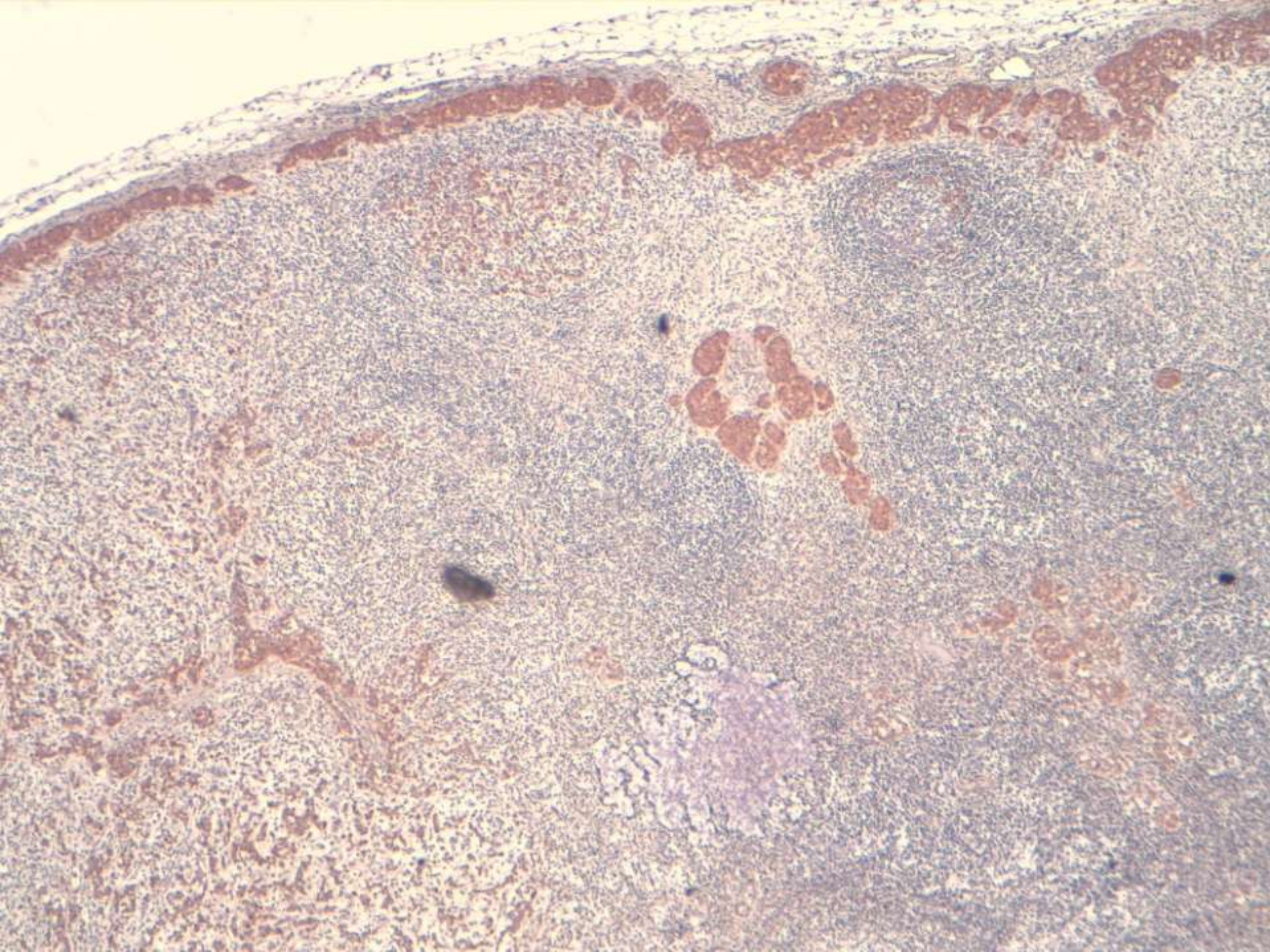


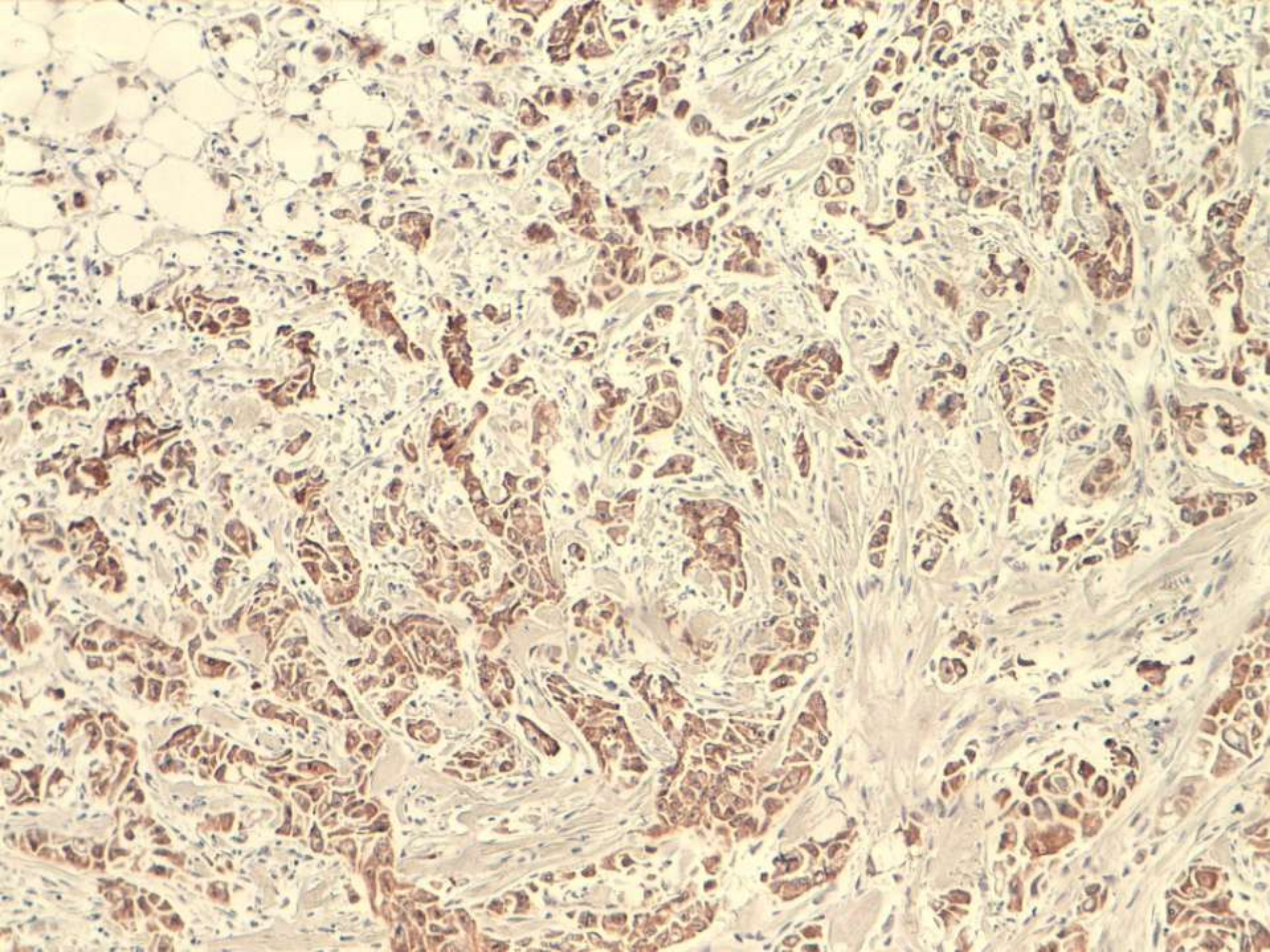


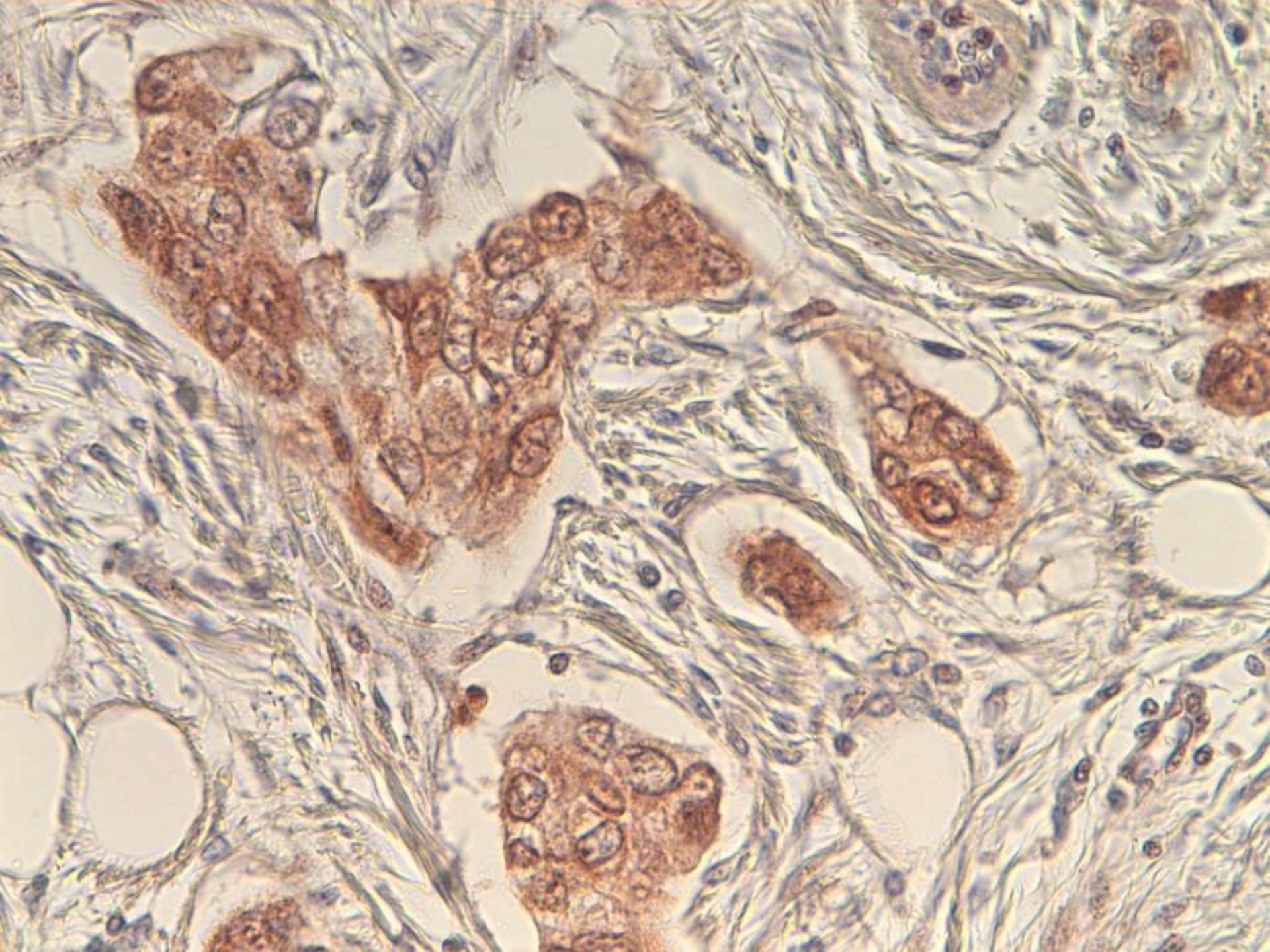


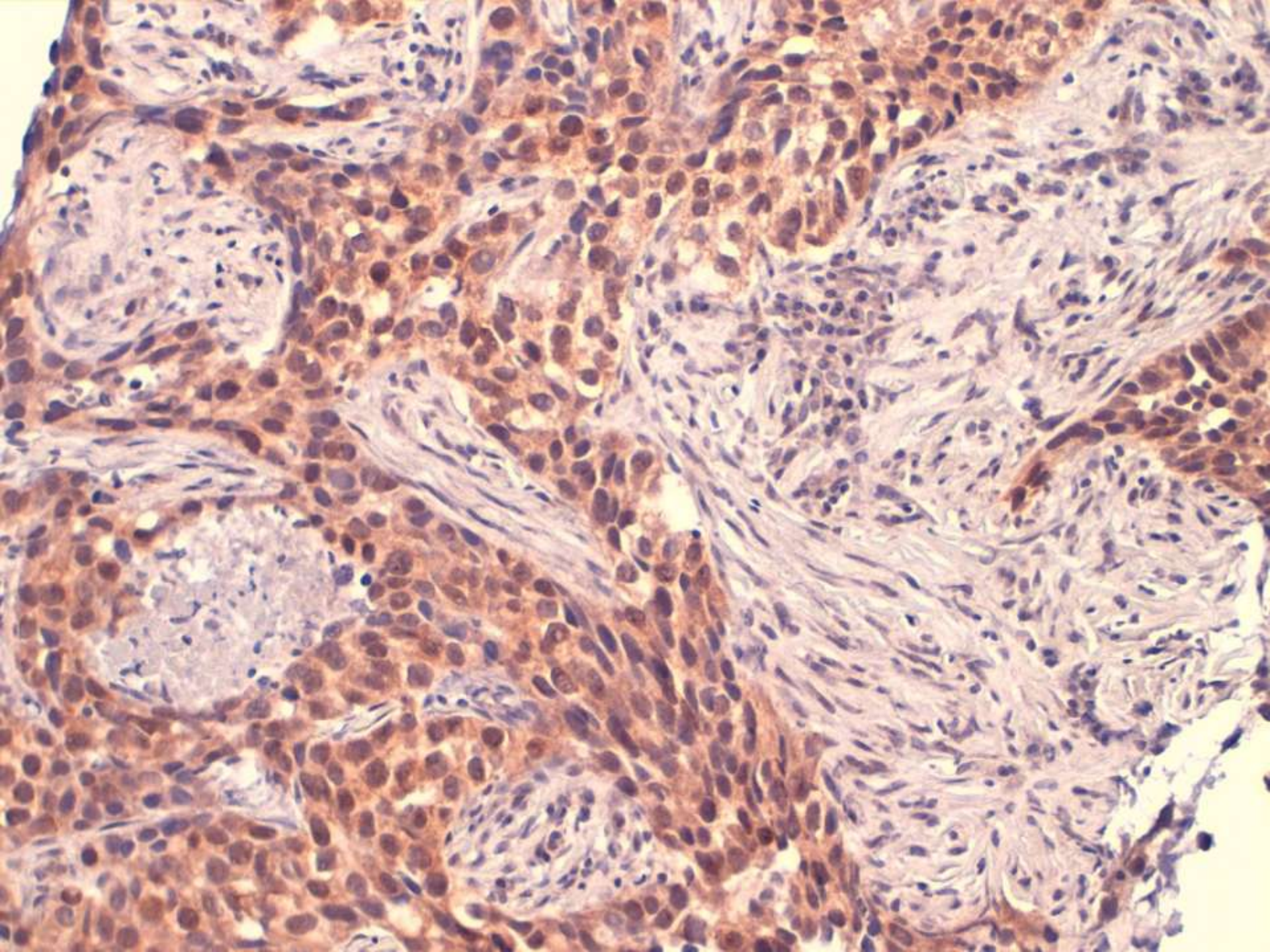


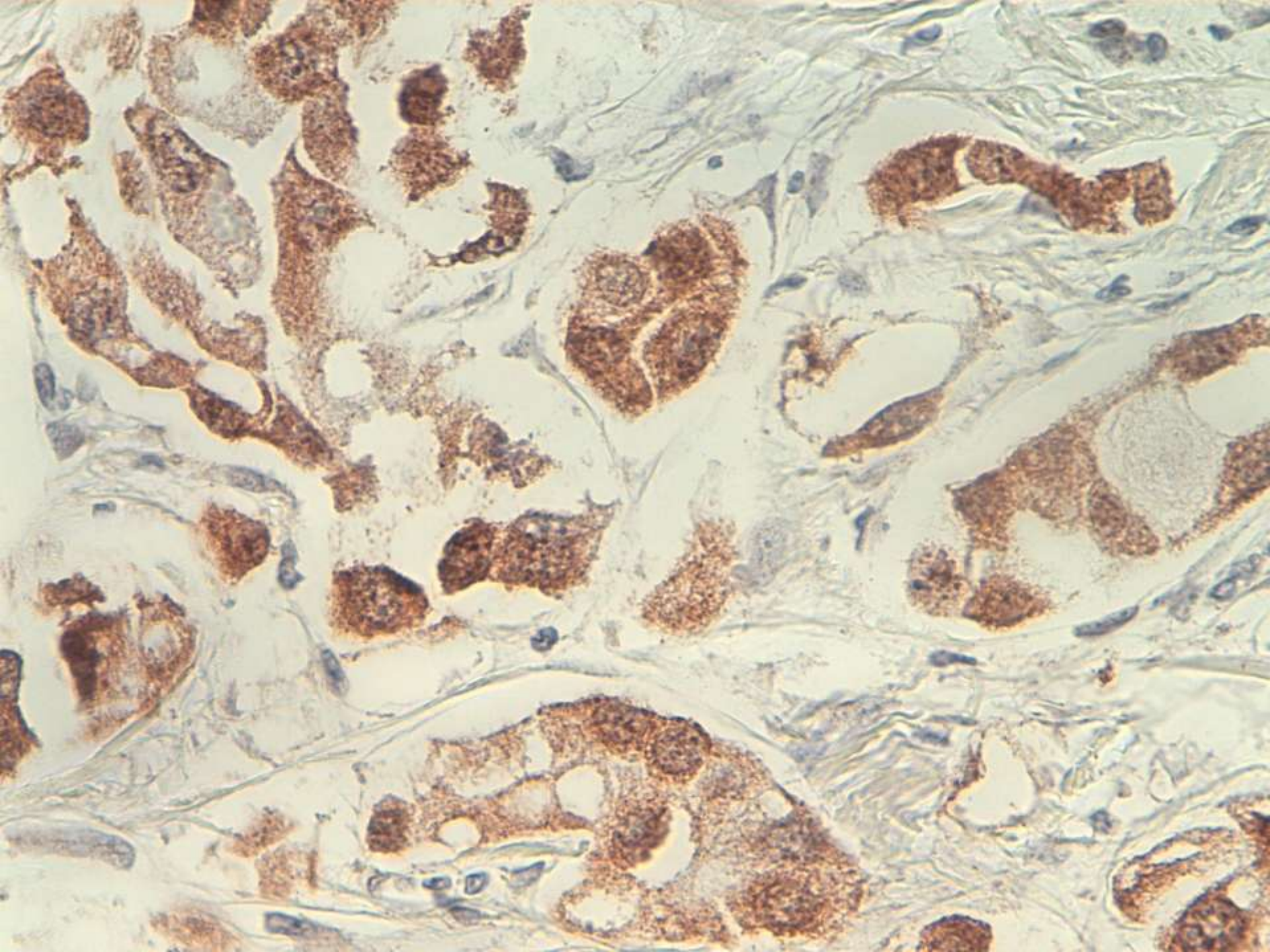


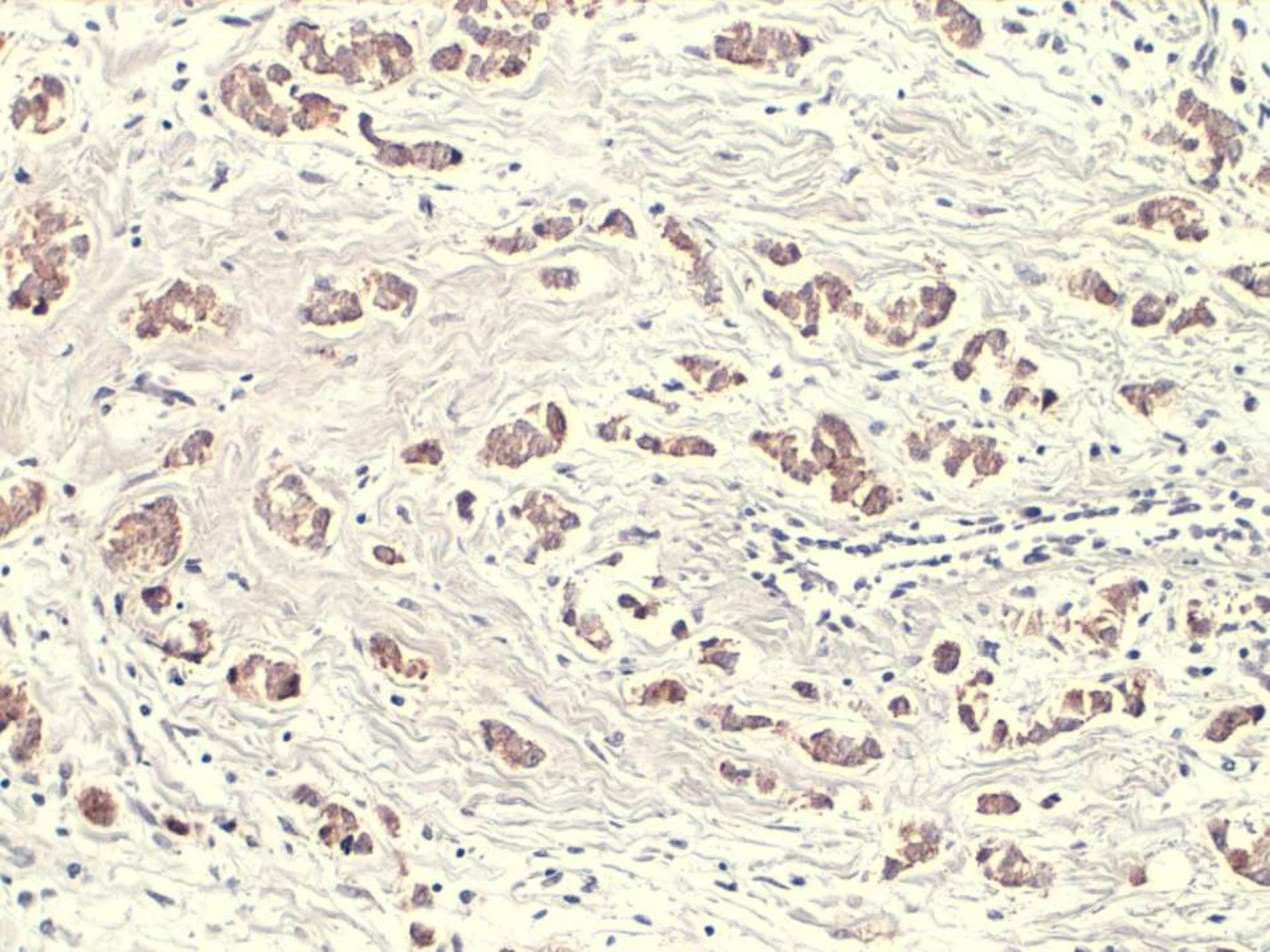












n=416	HER2 NEG (0/1+)	HER2 POS (3+)
RISH POS	19	86
RISH NEG	196	11

CONCORDANTES

90.38%

Pos=27,56%

Neg=62,8%

DISCORDANTES

9,62%

RISH pos/ IHQ (0/1+): 6,08%

RISH neg/ IHQ (3+) : 3.52%

n=389	DUO-CISH +	DUO-CISH -
RISH +	90	32
RISH -	10	257

CONCORDANCIA : 89,2%
NEG: 66,07%
POS: 23,13%

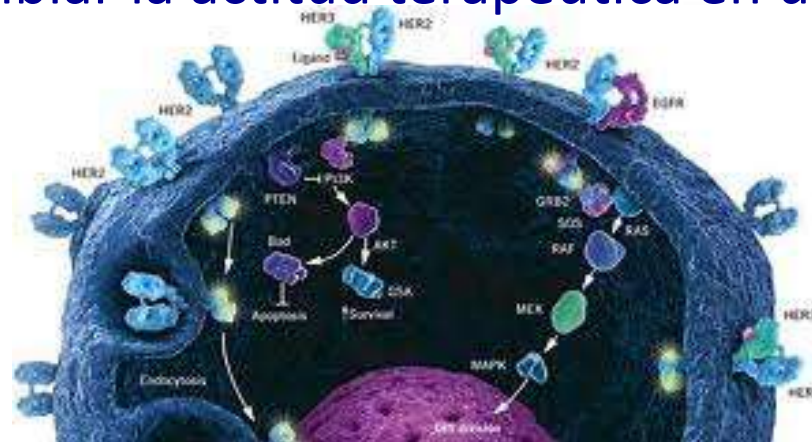
DISCORDANCIA : 10,8%
8,2% son DUO-CISH (-) / RISH (+)
2,5% son DUO-CISH (+) / RISH (-)

N = 209 /94	DUO	RISH	PROT
1	+	+	0/1+
19 (10%)	-	+	0/1+
189	-	-	0/1+
0	+	-	0/1+
78	+	+	3+
8	-	+	3+
3	+	-	3+
5 (5%)	-	-	3+

N = 100	DUO	RISH	PROTEÍNA
14	+	+	2+
6	-	+	2+
8	+	-	2+
72	-	-	2+

CONCLUSIONES: POR GRUPOS

- 10% de los IHQ (0/1+) no se detecta amplificación pero tienen mARN
- 5% de los IHQ (3+) tienen proteína sin mARN ni amplificación
- 14% de los casos IHQ (2+) pueden estar mal orientados desde el punto de vista terapéutico
- 5% son IHQ (3+) sin DUO ni RISH
- RISH puede cambiar la actitud terapéutica en un 7,3% de los casos

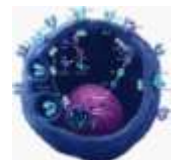


CONCLUSIONES: ANÁLISIS DE DISCORDANTES

N=403	DUO	RISH	PROTEÍNA
0,7%	+	-	3+
1,2%	-	-	3+
1,9%	-	+	3+
4,7%	-	+	0/1
3,4%	+	+	2+
17,8%	-	-	2+
1,4%	-	+	2+
1,9%	+	-	2+

CONCLUSIONES: RISH C-ERBB-2

1. HISTOSONDA: ARNm transcrito (diana)
2. Técnica informativa ya que, independientemente de la amplificación del gen, detecta expresión del gen
3. Resultado es cualitativo (sí o no). No hay que contar porcentajes.
4. Estandarizable (sencilla y reproducible)
5. Mayor rapidez de la técnica (2h aprox)
6. Alta concordancia con DUO-CISH (89,2%) y con IHQ (90,3%)
7. Económicamente puede ser rentable para los servicios de salud.



DR FRANCESC RIU
DR RICARDO REZOLA
DRA IRUNE RUIZ
DR TOMÁS GARCÍA-CABALLERO
DR DAVID HARDISSON
DR JAVIER MARTINEZ
DR JUAN DE DIOS BARRANCO
DR RAFAEL CANO
DRA ALICIA CÓRDOBA
DR LUIS POLO
DR JOSÉ MIGUEL LÁZARO
DR FEDE ROJO



mARN