

seram 34

Sociedad Española de Radiología Médica

Congreso Nacional

PAMPLONA 24 MAYO
27 2018

Palacio de Congresos Baluarte

23 mayo Cursos Precongreso

Objetivos docentes

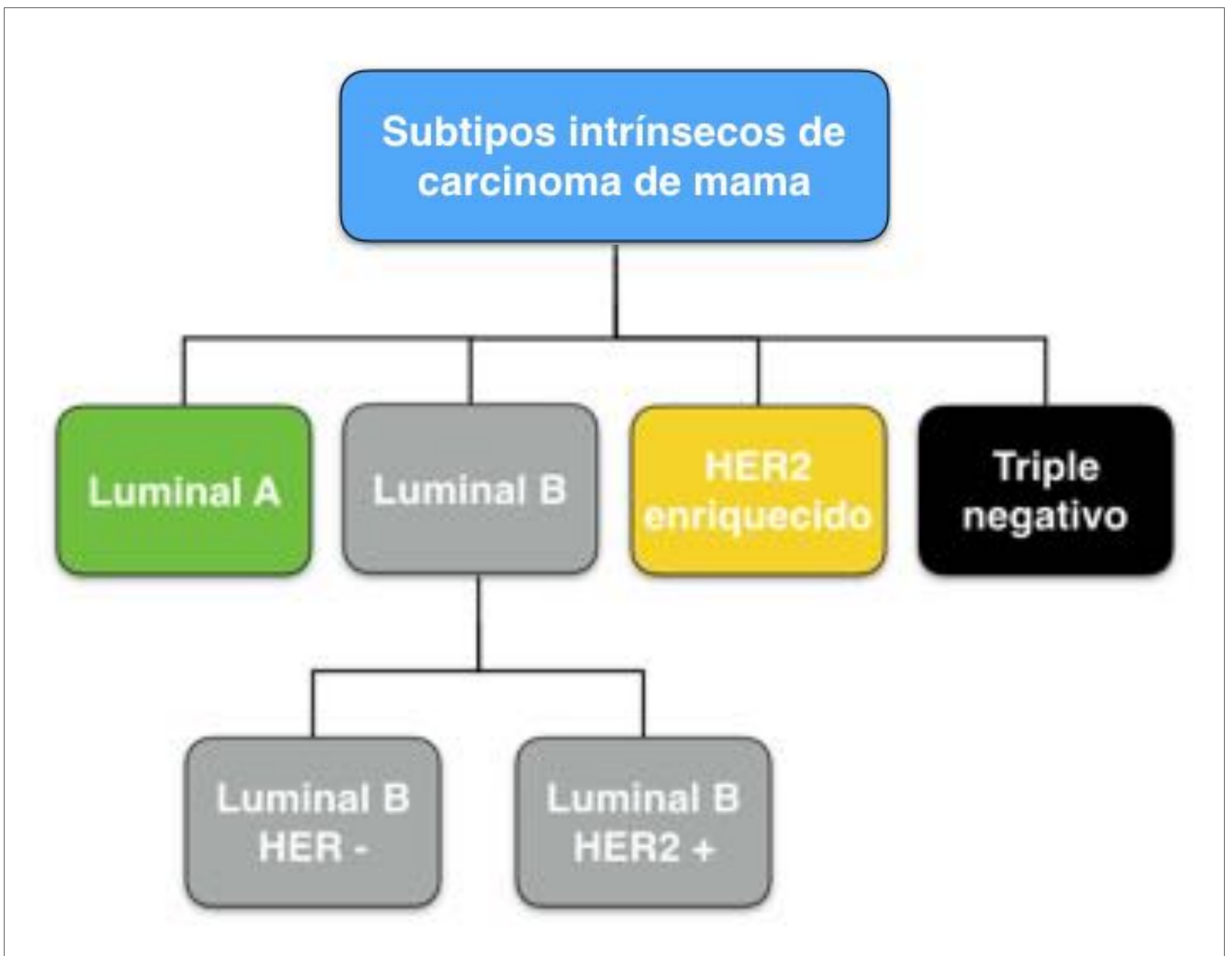
1. Ofrecer al radiólogo dedicado a la mama unos conocimientos básicos y útiles sobre inmunohistoquímica.
2. Describir el patrón propio de cada subtipo molecular de carcinoma de mama infiltrante en esta técnica.
3. Entrenar lo aprendido, mediante la resolución de varios casos prácticos con diferentes hallazgos en inmunohistoquímica.
4. Facilitar así la interpretación de la información referente al inmunofenotipo tumoral que, de forma habitual, se incluye en el informe de anatomía patológica tras la biopsia percutánea de un carcinoma de mama y, posteriormente, tras la intervención quirúrgica.

Revisión del tema

- La clasificación molecular del cáncer de mama fue introducida a comienzos del siglo XXI, gracias a las investigaciones de Perou y sus colaboradores en microarrays de ADN [1].
- Se basa en el perfil de expresión genética del tumor.
- Origina fenotipos biológicos diferentes de carcinoma de mama infiltrante.
- Esta diversidad en el patrón de expresión genética explica que, pacientes con carcinoma de mama diagnosticado en idéntico estadio, puedan presentar respuestas distintas frente a los tratamientos y resultados clínicos variables.

Revisión del tema

- Aunque se han descrito un mayor número de subtipos moleculares, en la práctica habitual se han adoptado solo cuatro, que son los más frecuentes y agrupan tumores con rasgos comunes.



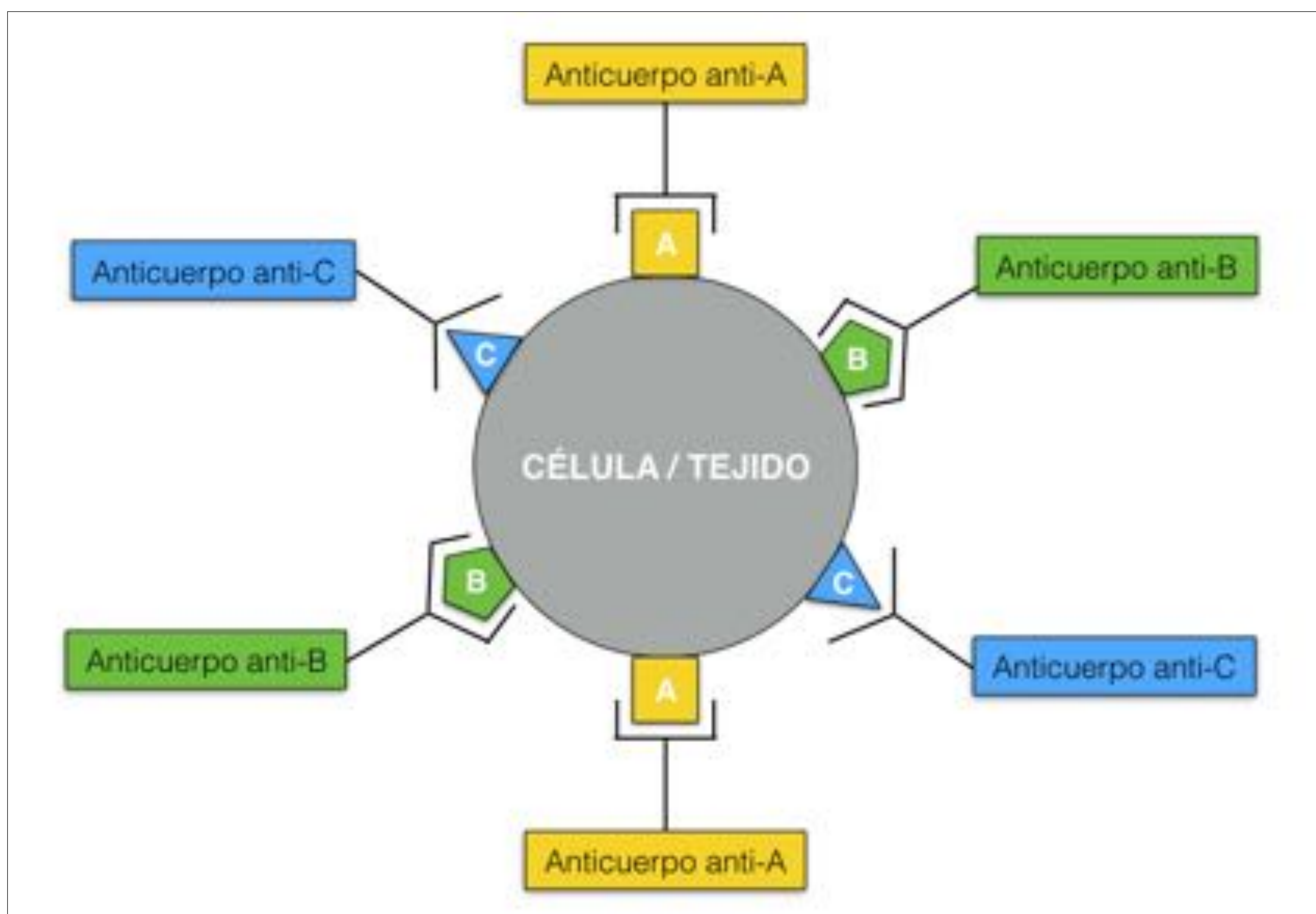
Revisión del tema

- Así, en el manejo actual del cáncer de mama resulta decisivo conocer el subtipo molecular en cada mujer, ya que tiene un alto valor pronóstico y es la base para el diseño de terapias personalizadas.
- Sin embargo, las pruebas genómicas no están indicadas en todos los casos, debido a limitaciones logísticas o económicas [2].
- En su lugar, las Guías de Práctica Clínica de la ESMO recomiendan un abordaje alternativo mediante el análisis de marcadores inmunohistoquímicos subrogados, para identificar los subtipos intrínsecos de cáncer de mama definidos molecularmente [3]:



Revisión del tema

- Este examen alternativo se denominó IHC4.
- La inmunohistoquímica se basa en la reacción antígeno-anticuerpo, y permite localizar antígenos específicos (marcadores) en tejidos y células.
- Para poder ser visualizados al microscopio, se añade a los anticuerpos un cromógeno (enzima, tinción fluorescente...), que se activa cuando el anticuerpo se une con su antígeno.



Revisión del tema

- Este procedimiento es aplicable tanto en las muestras obtenidas en la biopsia percutánea como en la pieza quirúrgica.
- En la Conferencia de Consenso de St. Gallen 2015 [2] se definieron los diferentes subtipos moleculares de cáncer de mama en inmunohistoquímica, en función del estado de esos cuatro marcadores en las células tumorales.

Luminal A	Luminal B		HER2 enriquecido	Triple negativo
	HER2 -	HER2 +		
RE positivo	RE positivo	RE positivo	RE negativo	RE negativo
HER2 negativo	HER2 negativo	HER2 positivo	HER2 positivo	HER2 negativo
RP alto	RP bajo	Cualquier RP	RP negativo	RP negativo
Ki67 bajo	Ki67 alto	Cualquier Ki67	Ki67 alto	Ki67 alto

HER2: receptor 2 de factor de crecimiento epidérmico humano; Ki67: valor del índice proliferativo Ki67; RE: receptores de estrógenos; RP: receptores de progesterona.

Revisión del tema

- Simultáneamente, es posible estudiar las anomalías de la proteína p53 en cada caso concreto.
- En la siguiente tabla se enumeran las principales ventajas y limitaciones de la utilización de la inmunohistoquímica en el manejo actual del cáncer de mama [4,5]:

Ventajas de la determinación del subtipo molecular con IHQ

Ampliamente disponible en la rutina diaria

Compatible con diferentes tipos de fijación

Alta sensibilidad y especificidad

Ofrece la opción de cuantificar el grado de expresión

El fondo morfológico facilita la interpretación

Puede usarse retrospectivamente en material archivado

Desventajas del empleo de IHQ frente a las pruebas genéticas

Medida de RE, RP y Ki67 poco reproducible

Menor precisión para identificar el subtipo intrínseco

Proporciona información de menor valor pronóstico

No permite discriminar pacientes con bajo riesgo de recidiva

No permite evaluar la conveniencia o no de quimioterapia adyuvante

IHQ: inmunohistoquímica; RE: receptores de estrógenos; RP: receptores de progesterona; Ki67: índice proliferativo Ki67.

Marcadores tisulares

- A continuación, describimos lo más relevante de cada uno de los cuatro marcadores estándar en inmunohistoquímica del cáncer de mama:
 - Receptores de estrógenos.
 - Receptores de progesterona.
 - Receptores HER2.
 - Índice proliferativo Ki67.
- Ilustramos todos los patrones inmunohistoquímicos con imágenes microscópicas de ejemplo, para poder entender cómo lleva a cabo el anatomopatólogo la evaluación del estado de dichos marcadores.
- Incluimos también en este apartado el gen supresor de tumores p53.

Receptores hormonales

- El estado de los receptores hormonales viene determinado por la expresión en las células tumorales de receptores nucleares para estrógenos y progesterona.
- En inmunohistoquímica, se valora tanto la intensidad de la tinción como el porcentaje de células que son positivas para ambos receptores.
- Las pacientes con niveles altos de receptores hormonales presentan mejor pronóstico, en términos de supervivencia global, intervalo libre de enfermedad y tiempo al fracaso del tratamiento [6].
- Por otro lado, la expresión de receptores de estrógenos tiene un alto valor predictivo, y permite seleccionar las pacientes que se beneficiarán de la terapia endocrina adyuvante, independientemente del estado de los receptores de progesterona [7].

Receptores de estrógenos

Patrón de tinción inmunohistoquímica	Evaluación	Ejemplos de tejido
Ausencia de tinción nuclear en las células tumorales	Receptores de estrógenos negativos	
Presencia de tinción nuclear en las células tumorales	Receptores de estrógenos positivos	

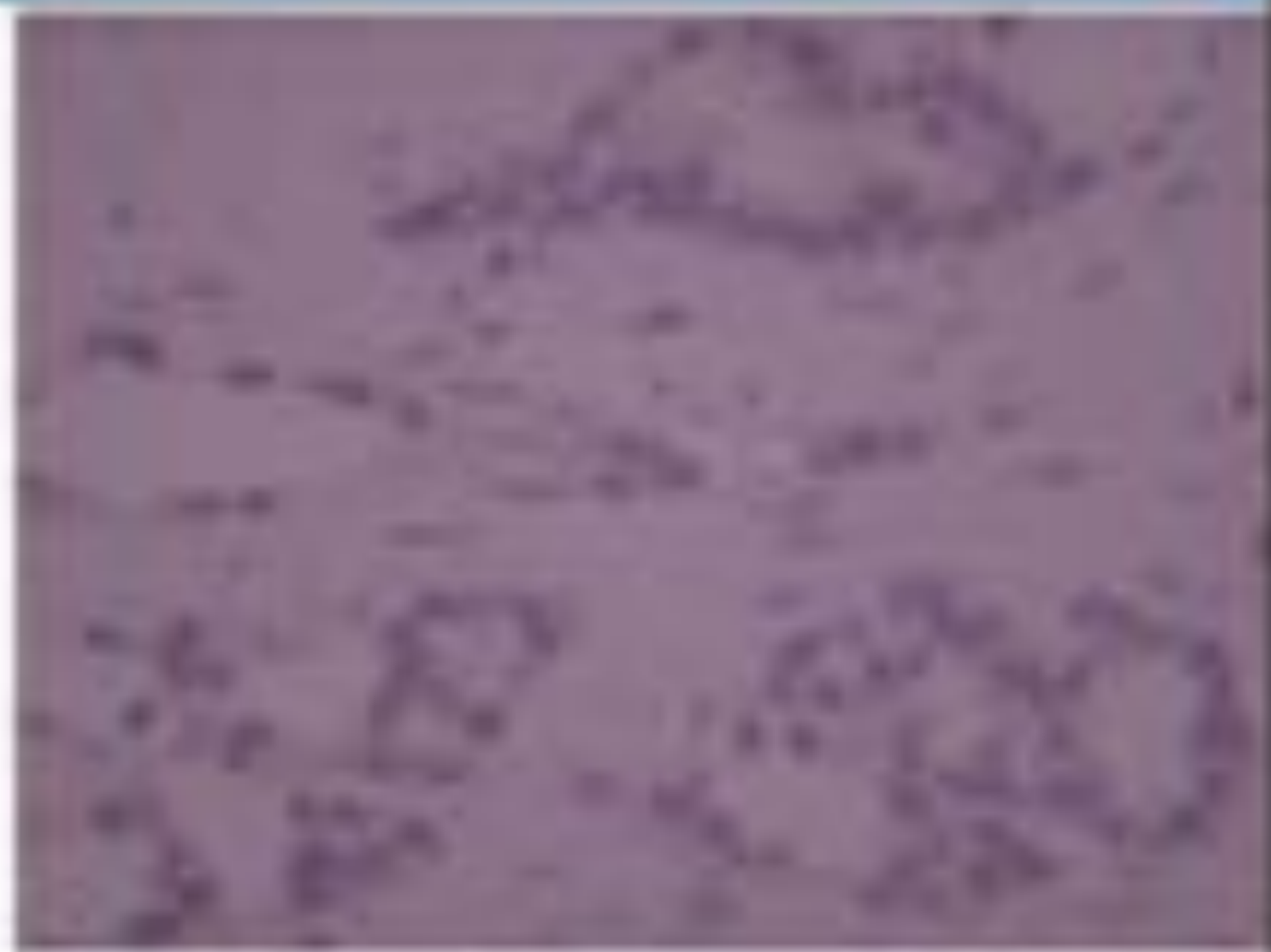

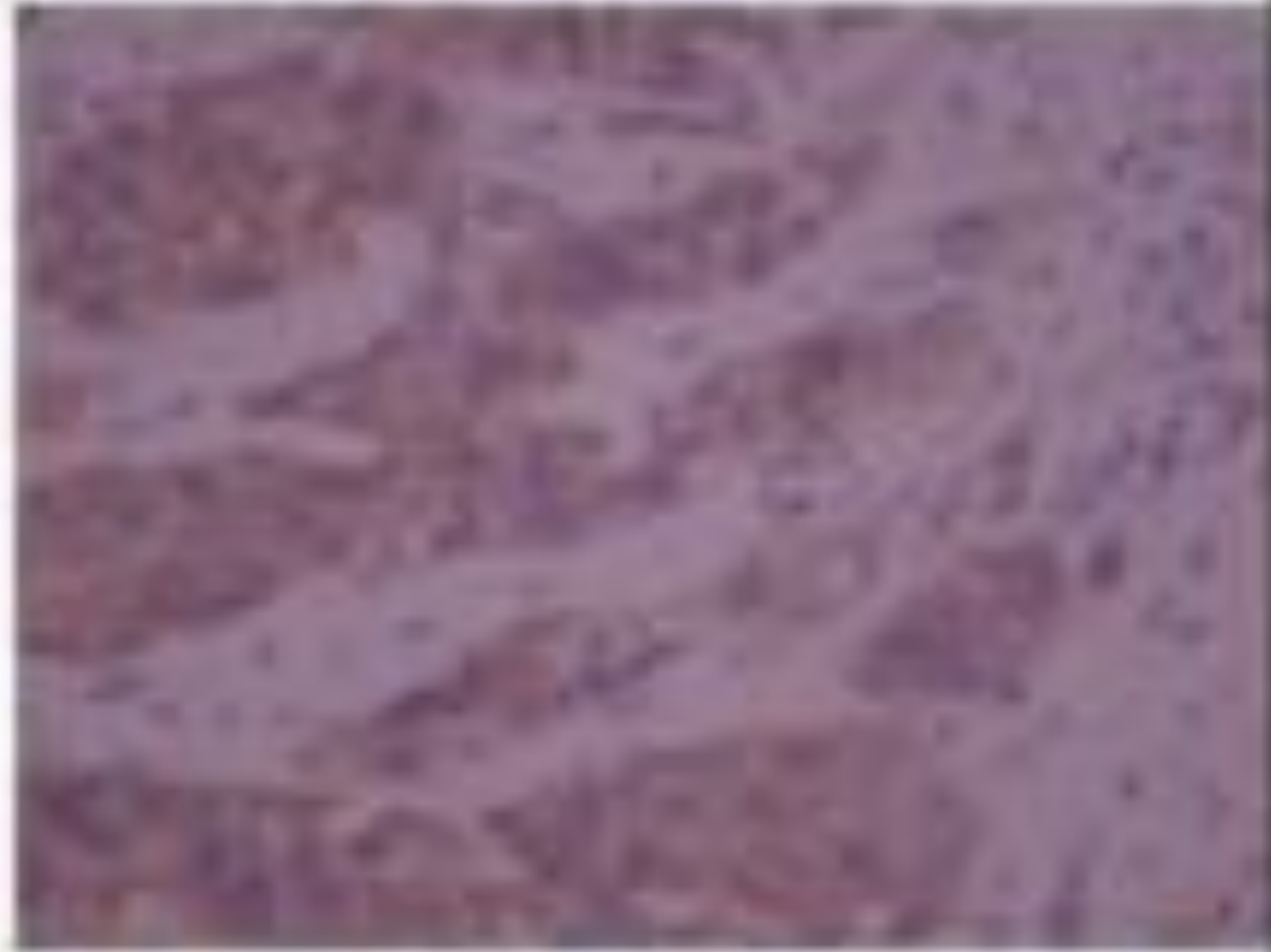
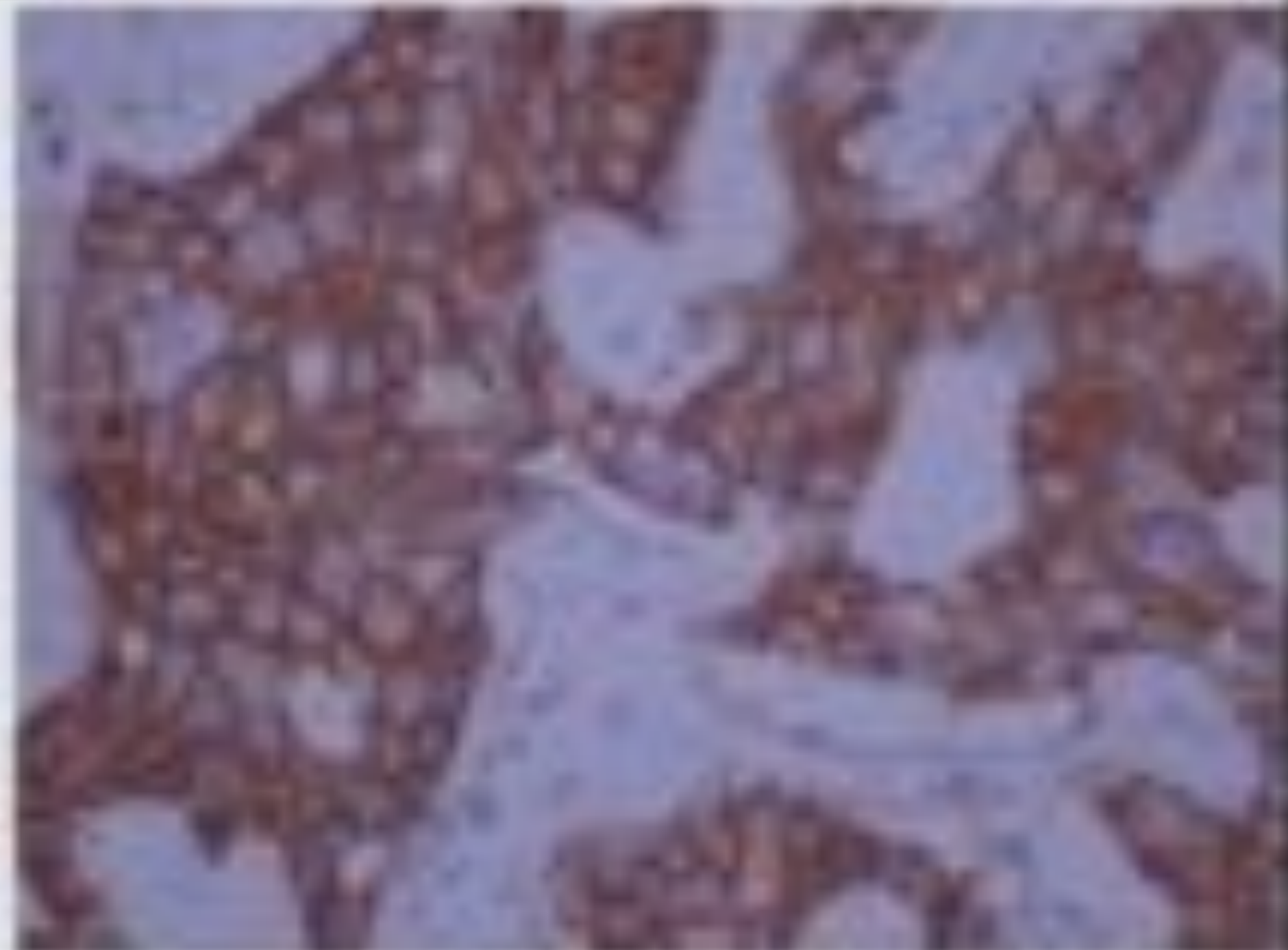
Receptores de progesterona

Patrón de tinción inmunohistoquímica	Evaluación	Ejemplos de tejido
Ausencia de tinción nuclear en las células tumorales	Receptores de progesterona negativos	
Presencia de tinción nuclear en las células tumorales	Receptores de progesterona positivos	

Receptores HER2

- El oncogén receptor 2 de factor de crecimiento epidérmico humano (HER2) codifica un receptor de membrana que participa en el crecimiento y diferenciación celular.
- Su evaluación en inmunohistoquímica puede ser negativa, positiva o no concluyente.
- Cuando el resultado es dudoso (puntuación 2+), está indicado realizar una prueba adicional denominada hibridación in situ con fluorescencia (FISH).
- Inicialmente, su positividad en el carcinoma de mama se consideró un factor de peor pronóstico [8].
- Sin embargo, la principal utilidad del estado HER2 es predictiva, ya que todas las pacientes que expresan receptores son sensibles al tratamiento con agentes anti-HER2, lo que mejora el pronóstico en todas las fases de la enfermedad.

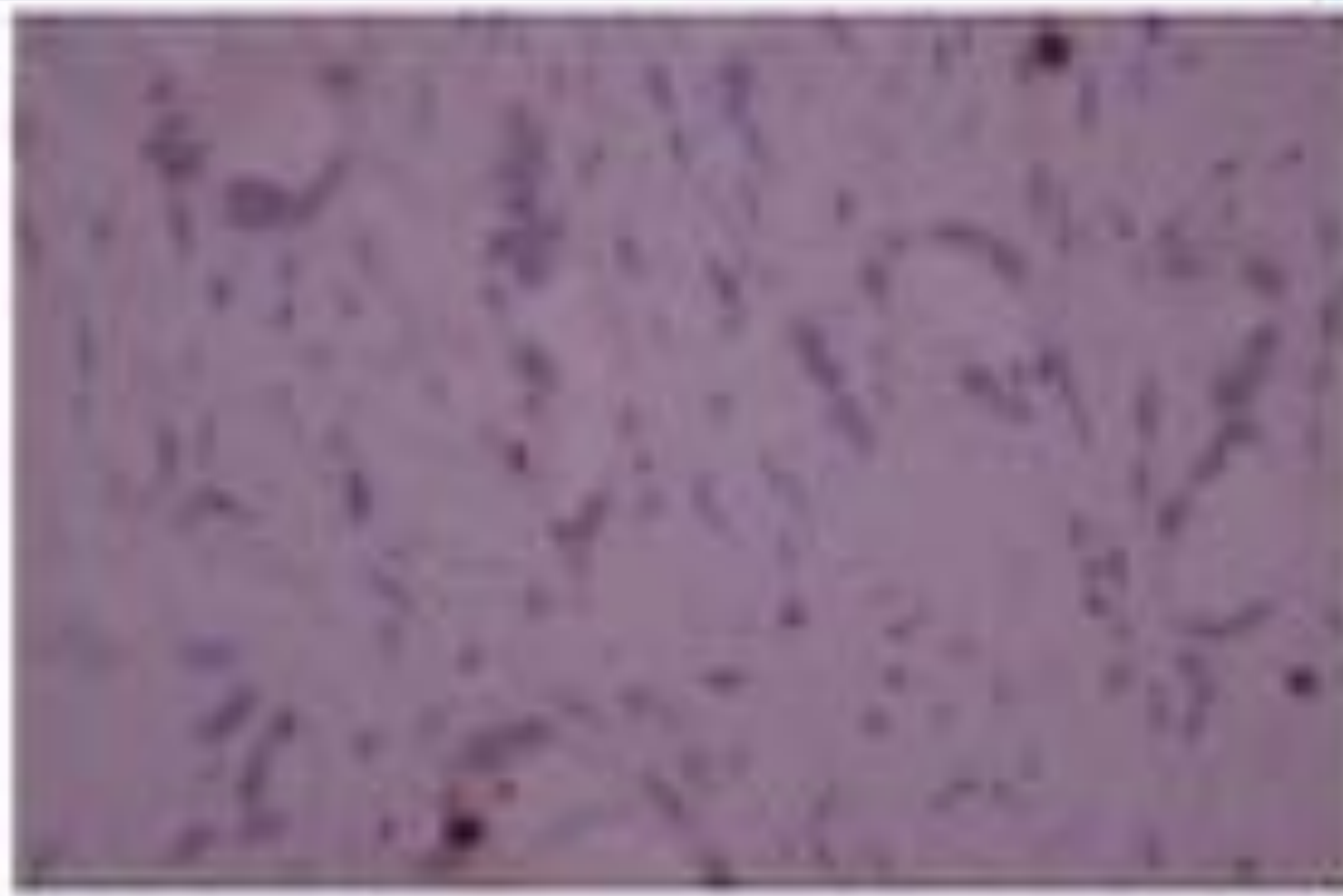
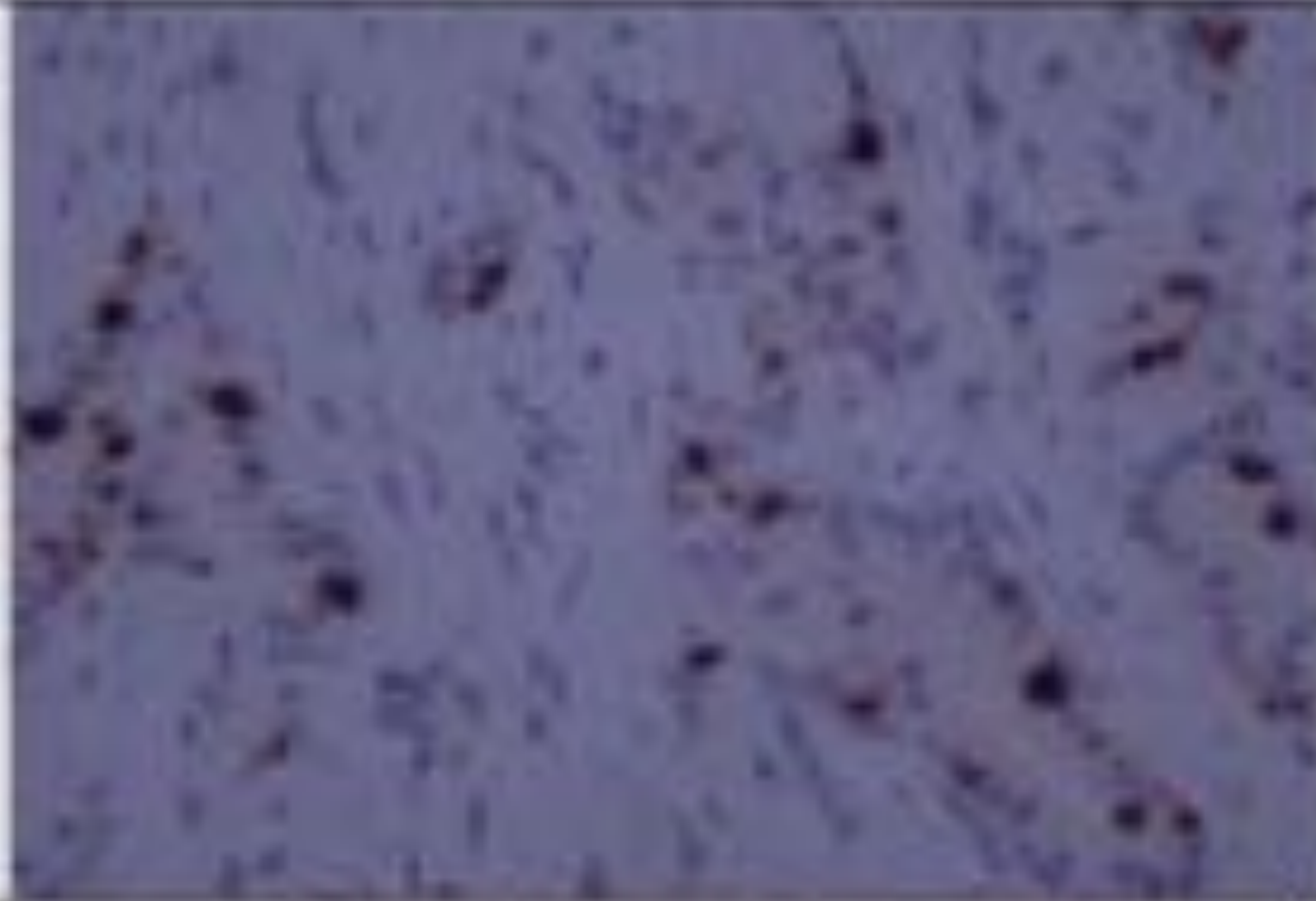
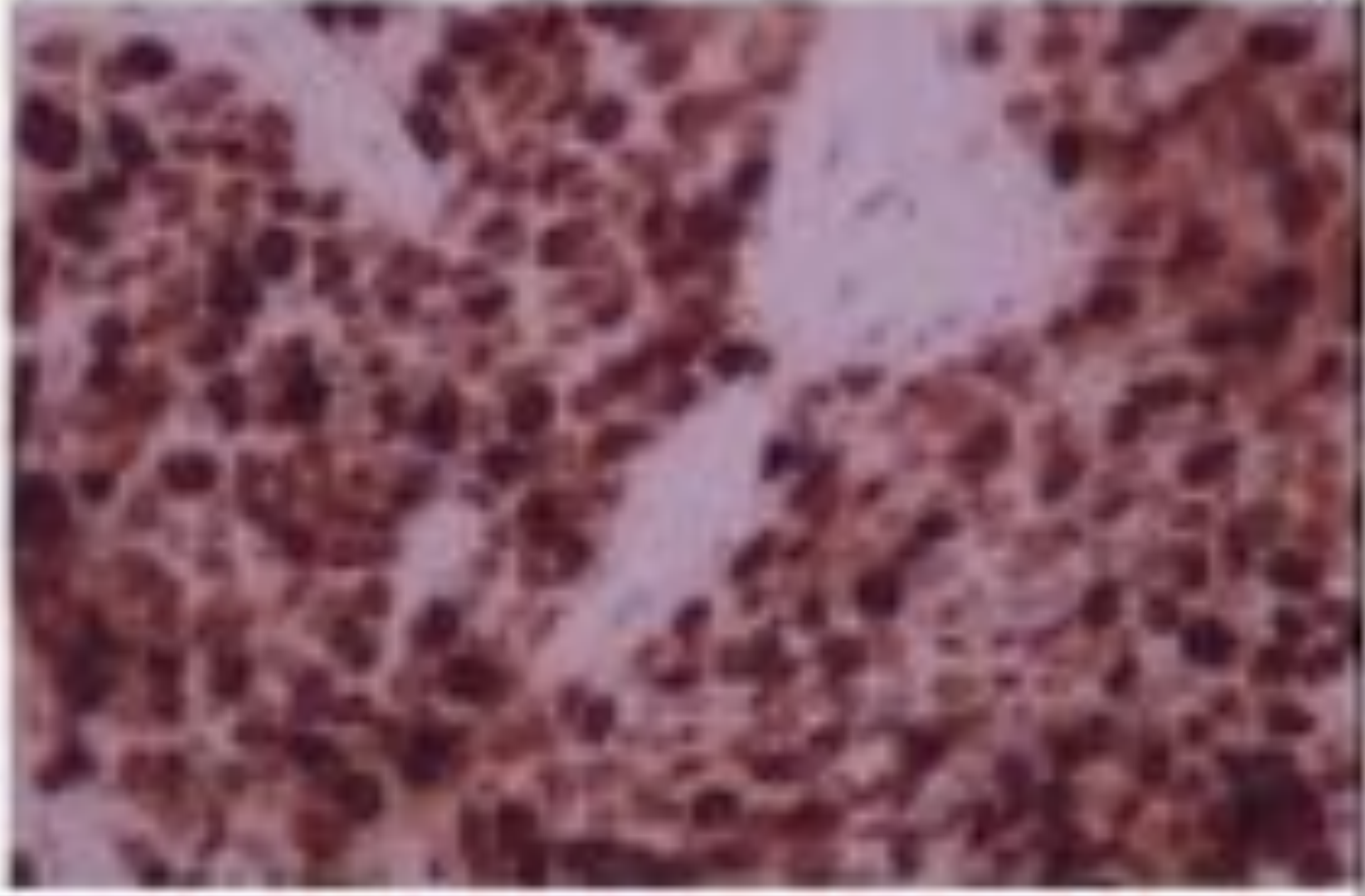
Receptores HER2

Patrón de tinción inmunohistoquímica	Puntuación	Evaluación	Ejemplos de tejido
Tinción de membrana nula o en <10% de células tumorales	0	HER2 Negativo	
Tinción tenue o casi imperceptible de membrana en >10% de células tumorales, que puede ser discontinua	1+	HER2 Negativo	
Tinción completa débil o moderada de membrana en >10% de células tumorales	2+	HER2 dudoso (débilmente positivo)	
Tinción completa fuerte de membrana en >10% de células tumorales	3+	HER2 fuertemente positivo	

Índice Ki67

- El antígeno Ki67 se expresa en el núcleo de las células que se encuentran en el ciclo (excepto en la fase G0), por lo que es una medida del grado de proliferación celular.
- Una vez cuantificado el porcentaje de células tumorales positivas en la tinción inmunohistoquímica, a este índice se le asigna una puntuación: bajo, intermedio o alto.
- Su sobreexpresión se ha asociado con un pronóstico menos favorable en las mujeres con carcinoma de mama precoz [9].
- A pesar de ello, los estudios realizados y sus métodos de evaluación del Ki67 son heterogéneos, por lo que su uso como factor pronóstico genera controversia y aún no está globalmente aceptado.

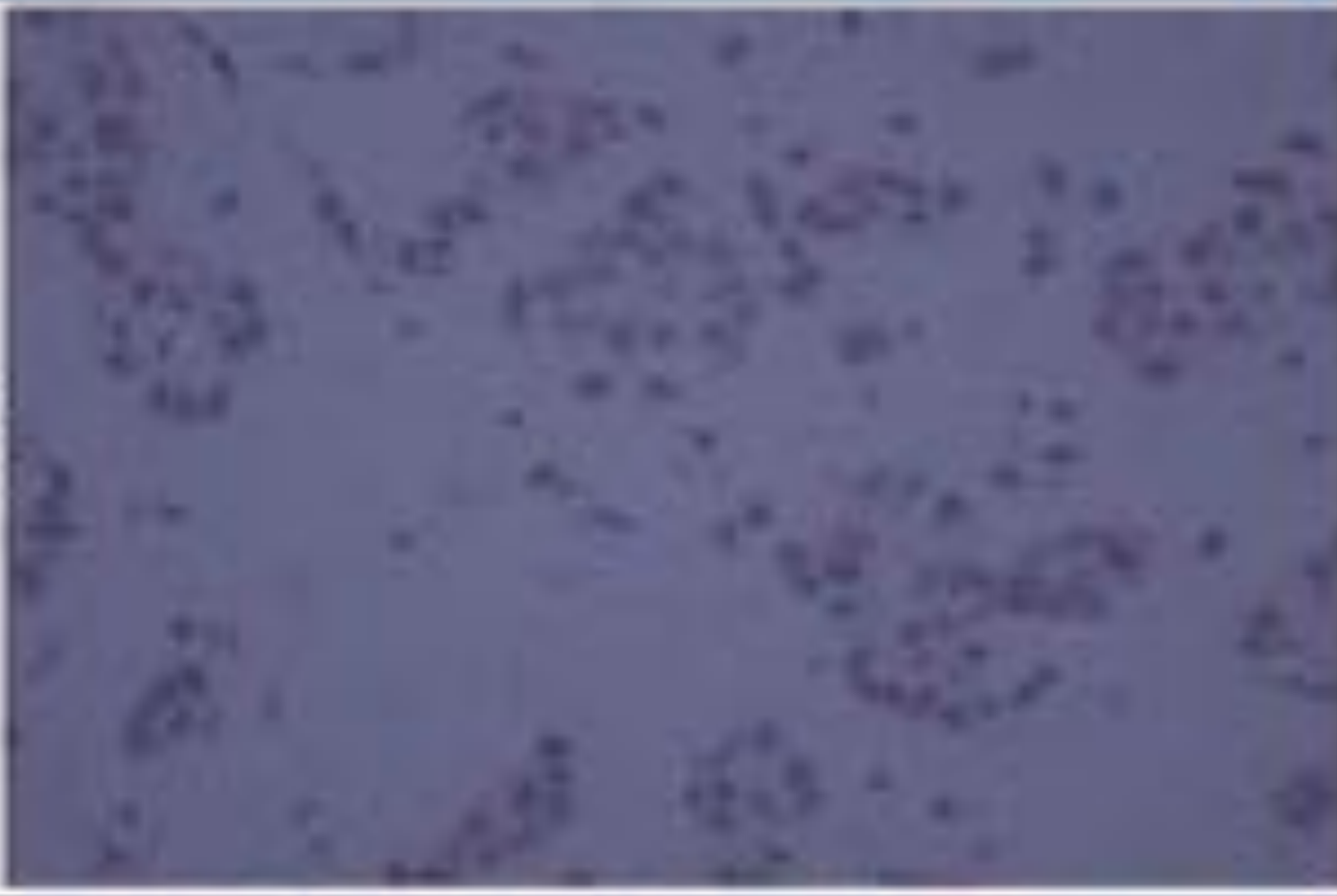
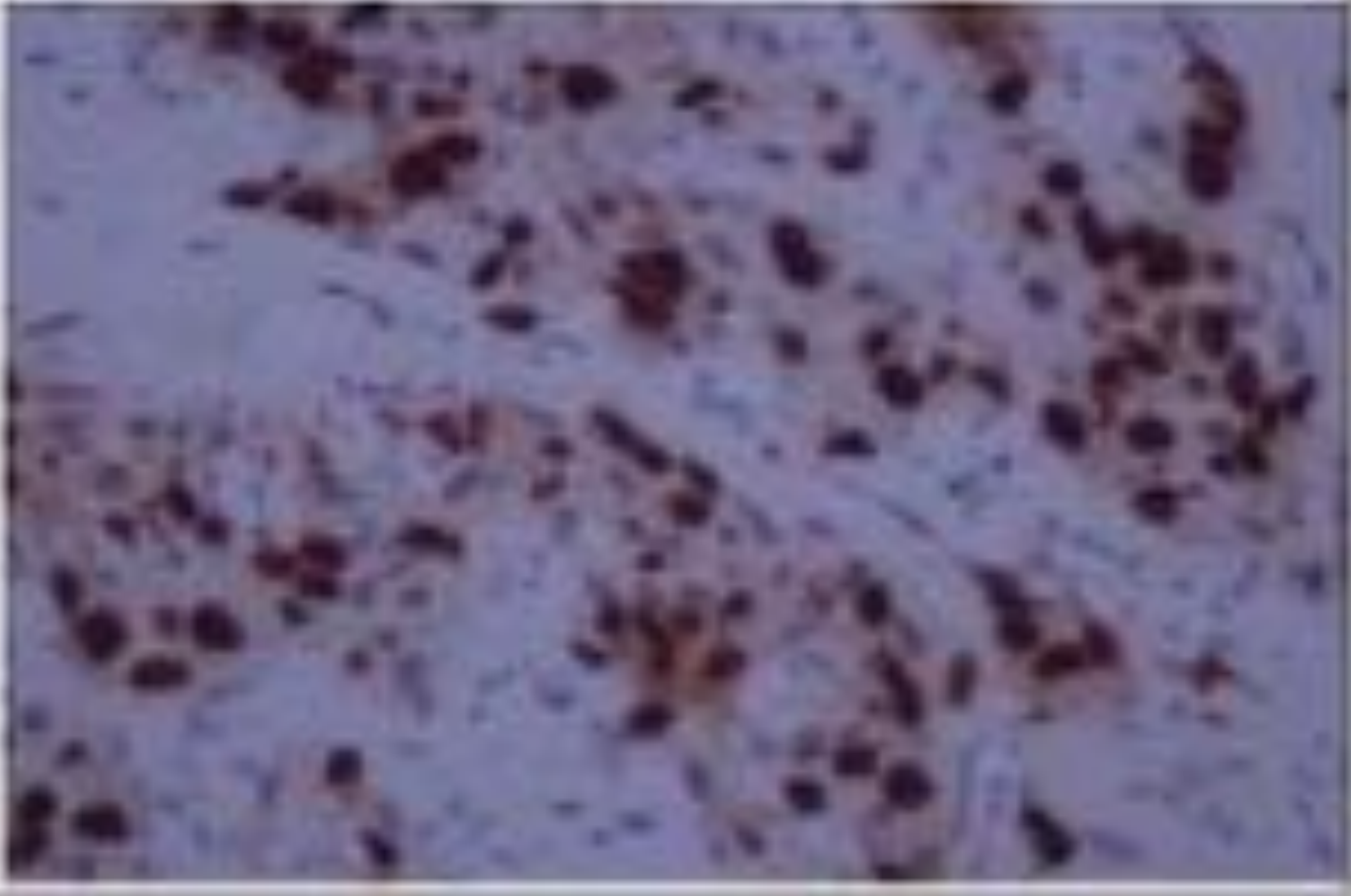
Índice Ki67

Patrón de tinción inmunohistoquímica	Evaluación	Ejemplos de tejido
Tinción nuclear en <10% de células tumorales	Ki67 bajo	
Tinción nuclear en el 15-30% de células tumorales	Ki67 intermedio	
Tinción nuclear en >30% de células tumorales	Ki67 alto	

Gen supresor p53

- A las pacientes con carcinoma de mama que presentan mutaciones en el gen supresor de tumores p53 se les atribuye un peor pronóstico [10].
- En lugar de practicar un test genético, es posible conocer su estado mediante un marcador subrogado en inmunohistoquímica.
- Así, la proteína p53 mutada se degrada más lentamente que en condiciones normales, y es posible detectar su acumulación como tinción nuclear positiva en las células tumorales.
- Sin embargo, su papel como factor pronóstico en el cáncer de mama está en fase de investigación, y existen discrepancias entre los distintos métodos.
- Por ese motivo, las principales guías clínicas no incluyen el análisis rutinario de la proteína p53 entre sus recomendaciones.

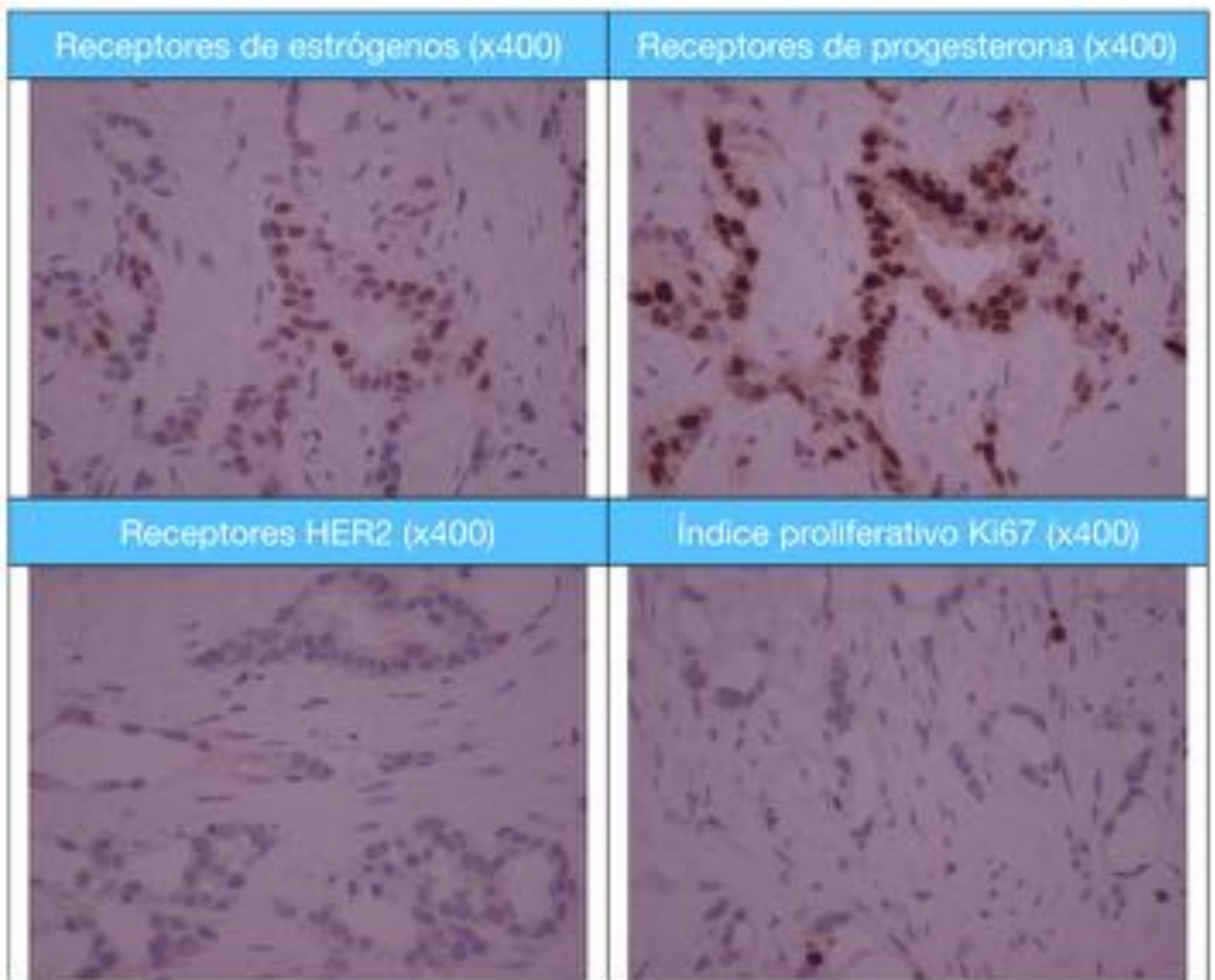
Gen supresor p53

Patrón de tinción inmunohistoquímica	Evaluación	Ejemplos de tejido
Tinción nuclear en <10% de células tumorales	Gen supresor de tumores p53 sin anomalías	
Tinción nuclear en >10% de células tumorales	Mutación del gen supresor de tumores p53	

Casos prácticos

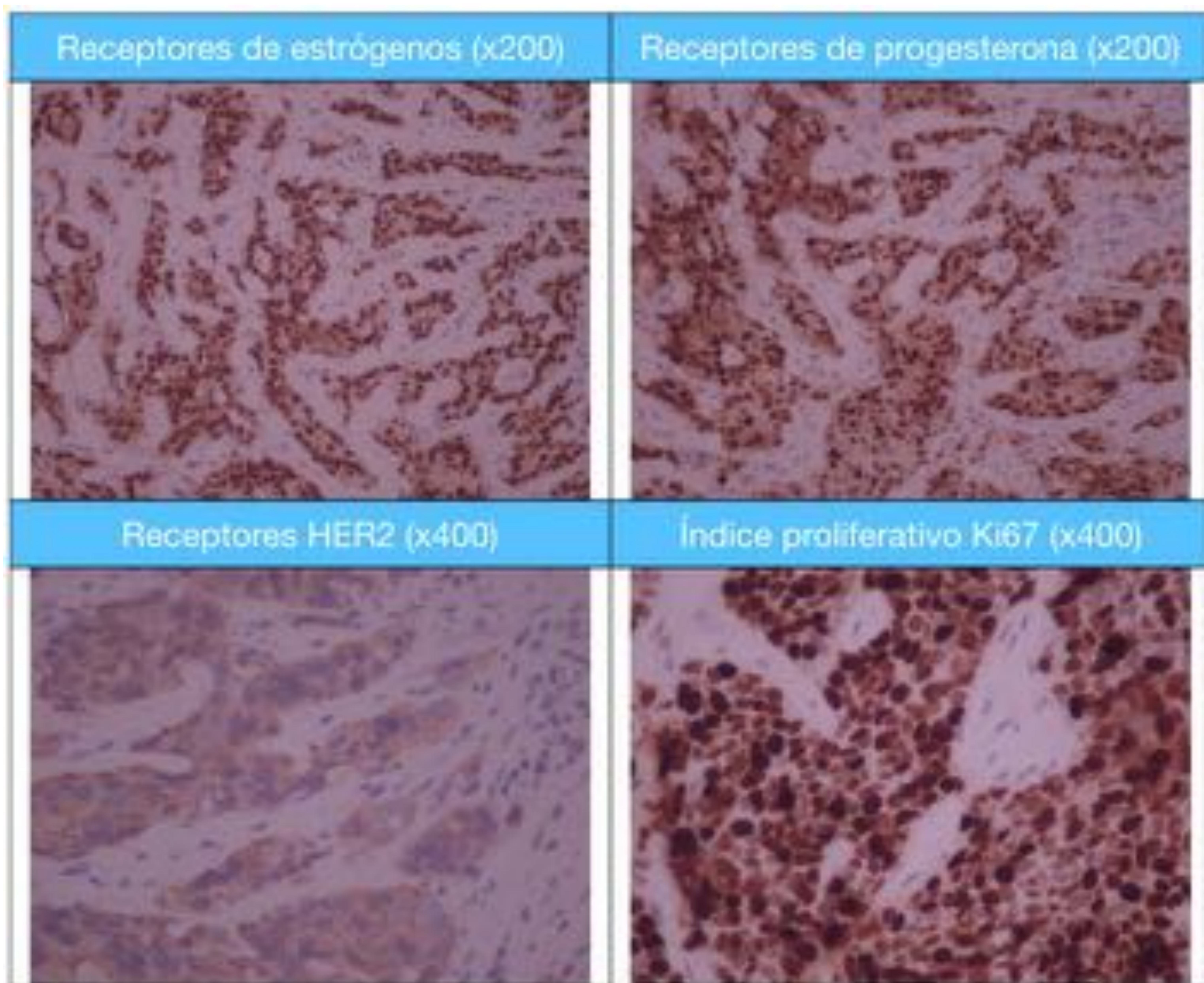
- Una vez revisados los subtipos intrínsecos de carcinoma infiltrante de mama, así como los cuatro marcadores subrogados que los definen en inmunohistoquímica, planteamos al lector cinco casos prácticos para su resolución, basados en diferentes combinaciones de imágenes microscópicas.

Caso práctico 1



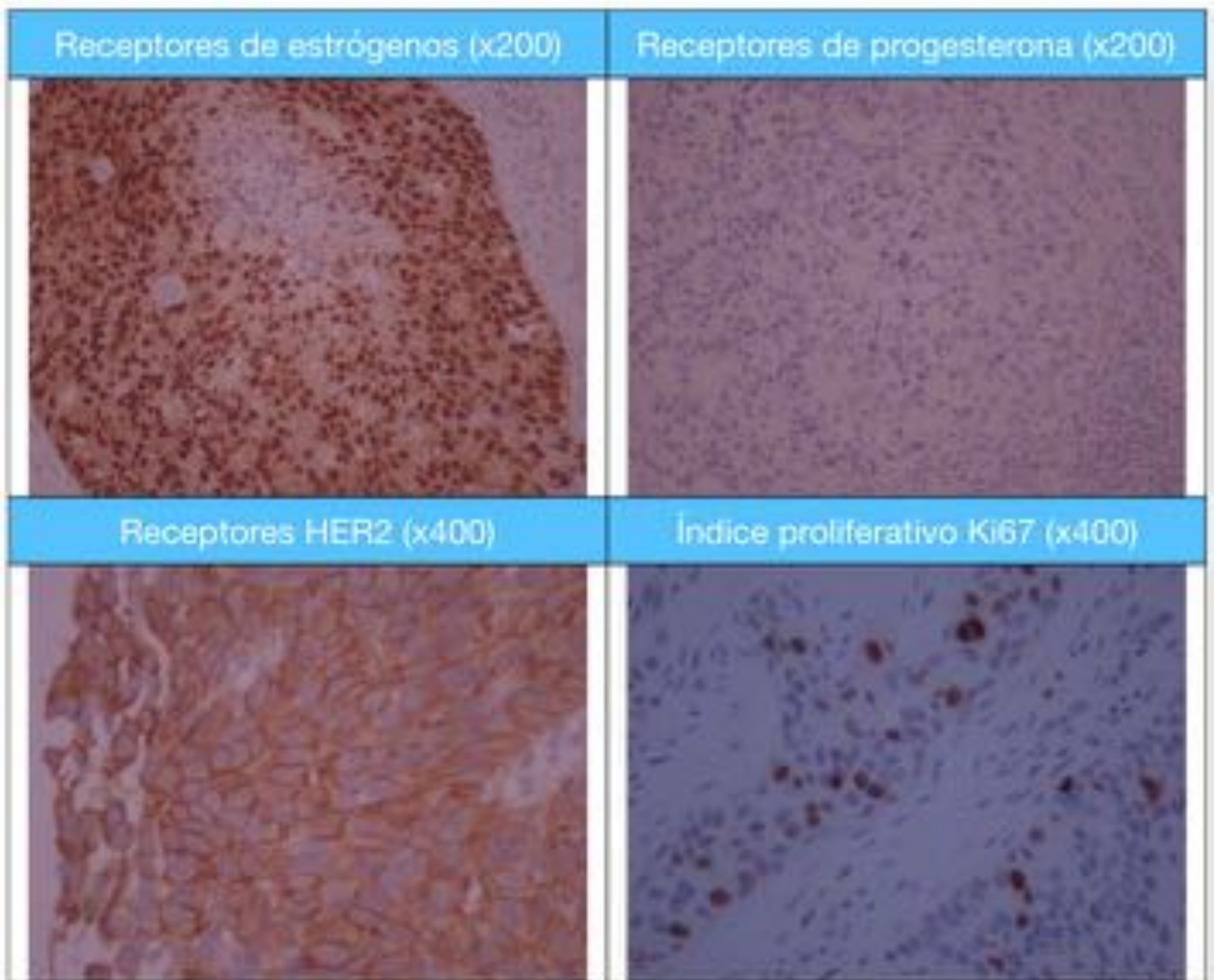
- Receptores de estrógenos? Positivos
- Receptores de progesterona? Positivos
- Receptores HER2? Negativo (0)
- Índice proliferativo Ki67? Bajo (<15%)
- ¿Subtipo molecular? Luminal A

Caso práctico 2



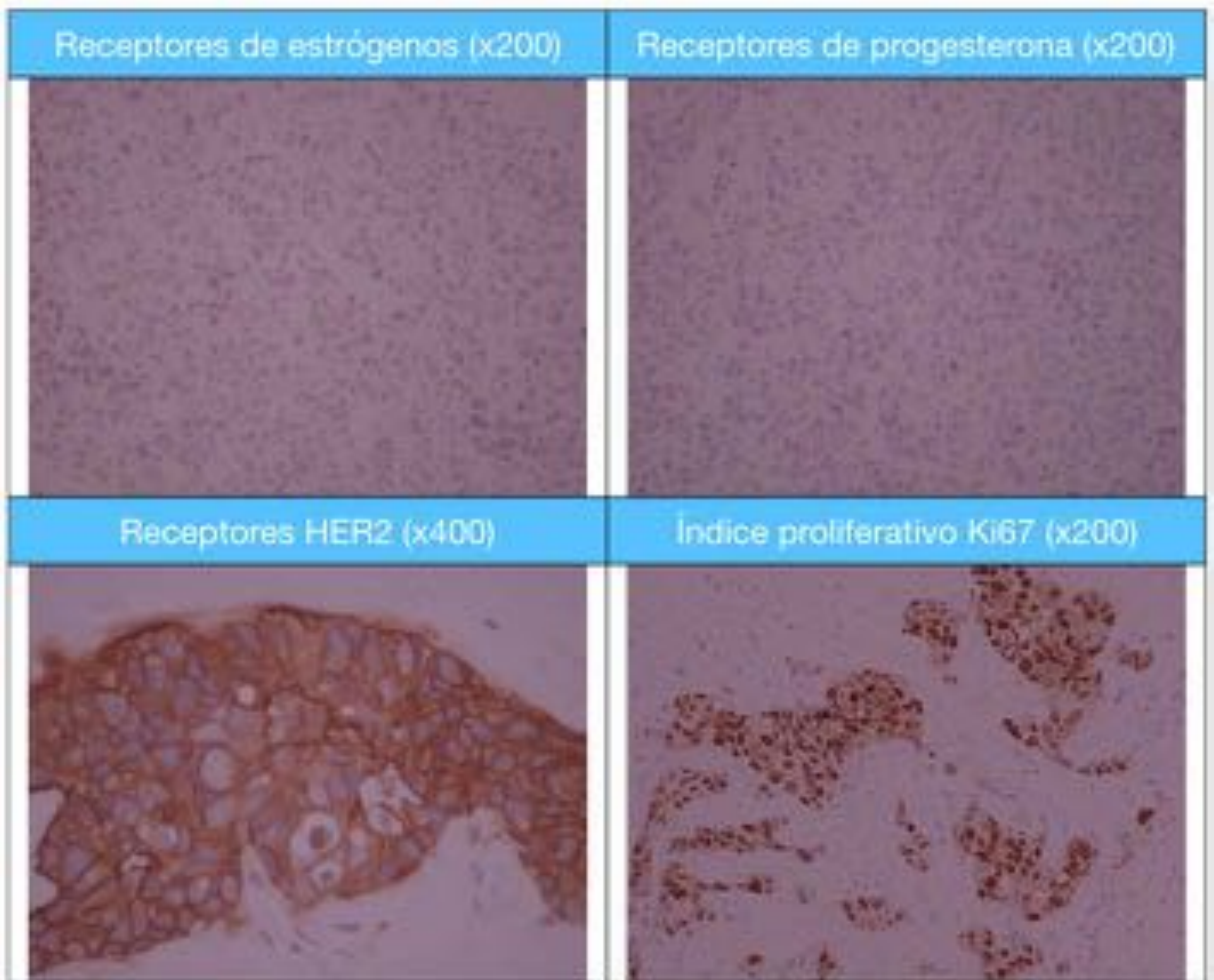
- Receptores de estrógenos? Positivos
- Receptores de progesterona? Positivos
- Receptores HER2? Dudoso (2+) / FISH negativo
- Índice proliferativo Ki67? Alto (>30%)
- ¿Subtipo molecular? Luminal B / HER2-

Caso práctico 3



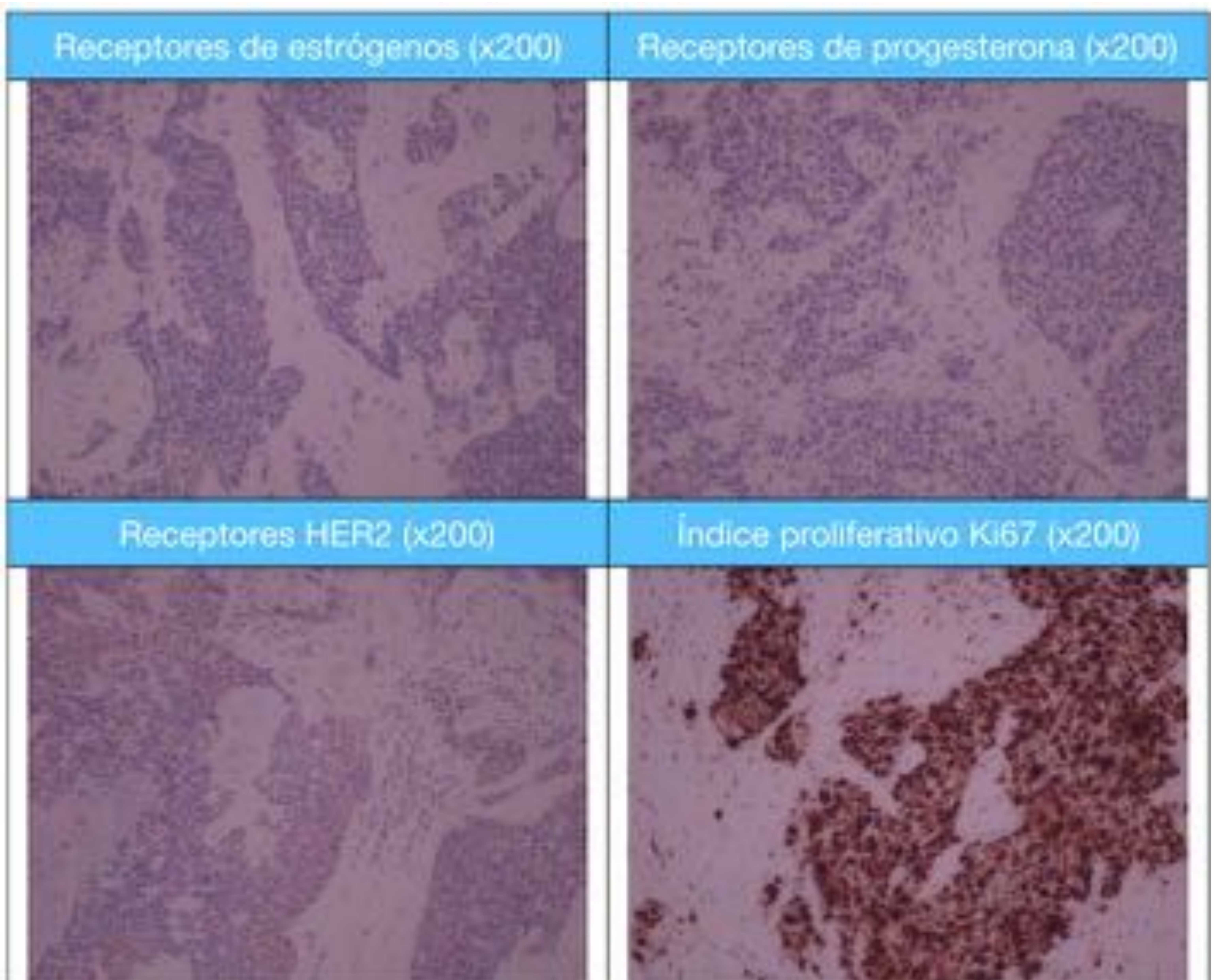
- Receptores de estrógenos? Positivos
- Receptores de progesterona? Negativos
- Receptores HER2? Positivo (3+)
- Índice proliferativo Ki67? Intermedio (15-30%)
- ¿Subtipo molecular? Luminal B / HER+

Caso práctico 4



- Receptores de estrógenos? Negativos
- Receptores de progesterona? Negativos
- Receptores HER2? Positivo (3+)
- Índice proliferativo Ki67? Alto (>30%)
- ¿Subtipo molecular? HER2 enriquecido

Caso práctico 5



- Receptores de estrógenos? Negativos
- Receptores de progesterona? Negativos
- Receptores HER2? Negativo (0)
- Índice proliferativo Ki67? Alto (>30%)
- ¿Subtipo molecular? Triple negativo

Conclusiones

1. El inmunofenotipo tumoral se relaciona con el grado de agresividad del cáncer de mama.
2. La ESMO recomienda el análisis rutinario de cuatro marcadores inmunohistoquímicos en todas las pacientes recién diagnosticadas de carcinoma de mama infiltrante.
3. Además de contribuir a identificar el subtipo intrínseco, el estado de los receptores hormonales y HER2 en las células tumorales proporciona información pronóstica y predictiva de respuesta a la terapia hormonal y anti-HER2.
4. Unos conocimientos básicos de inmunohistoquímica son de gran utilidad para el radiólogo dedicado a la mama, ya que el resultado de esta técnica puede tener su reflejo en el diagnóstico y seguimiento por imagen de esta enfermedad.

Referencias

1. Perou CM, Sørlie T, Eisen MB, van de Rijn M, Jeffrey SS, Rees CA, et al. Molecular portraits of human breast tumours. *Nature*. 2000;406:747-52.
2. Coates AS, Winer EP, Goldhirsch A, Gelber RD, Gnant M, Piccart-Gebhart M, et al. Tailoring therapies-improving the management of early breast cancer: St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer. 2015. *Ann Oncol*. 2015;26:1533-46.
3. Senkus E, Kyriakides S, Ohno S, Penault-Llorca F, Poortmans P, Rutgers E, et al. Primary breast cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol*. 2015;26:v8-30.
4. David J. Dabbs. *Diagnostic immunohistochemistry: theranostic and genomic applications*. 3rd ed. Philadelphia: Saunders/Elsevier, 2010.
5. Nielsen TO, Parker JS, Leung S, Voduc D, Ebbert M, Vickery T, et al. A comparison of PAM50 intrinsic subtyping with immunohistochemistry and clinical prognostic factors in tamoxifen-treated estrogen receptor-positive breast cancer. *Clin Cancer Res*. 2010;16:5222-32.
6. Bartlett JM, Brookes CL, Robson T, van de Velde CJ, Billingham LJ, Campbell FM, et al. Estrogen receptor and progesterone receptor as predictive biomarkers of response to endocrine therapy: a prospectively powered pathology study in the Tamoxifen and Exemestane Adjuvant Multinational trial. *J Clin Oncol*. 2011;29:1531.
7. Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group (EBCTCG), Davies C, Godwin J, Gray R, Clarke M, Cutter D, et al. Relevance of breast cancer hormone receptors and other factors to the efficacy of adjuvant tamoxifen: patient-level meta-analysis of randomised trials. *Lancet*. 2011;378:771.
8. Chia S, Norris B, Speers C, Cheang M, Gilks B, Gown AM, et al. Human epidermal growth factor receptor 2 overexpression as a prognostic factor in a large tissue microarray series of node-negative breast cancers. *J Clin Oncol*. 2008;26:5697.
9. Stuart-Harris R, Caldas C, Pinder SE, Pharoah P. Proliferation markers and survival in early breast cancer: a systematic review and meta-analysis of 85 studies in 32,825 patients. *Breast*. 2008;17:323-34.
10. Olivier M, Langerød A, Carrieri P, Bergh J, Klaar S, Eyfjord J, et al. The clinical value of somatic TP53 gene mutations in 1,794 patients with breast cancer. *Clin Cancer Res*. 2006;12:1157.