

HER-2/neu. Nuevo marcador para tumor de mama.

¿Qué es HER-2/neu ?

En los últimos años, el estudio de los oncogenes celulares ha sido uno de los campos de mayor investigación dentro de la Biología Molecular y la Medicina. Se conoce que la activación y la sobre-expresión de estos oncogenes cumplen un importante papel en el desarrollo del cáncer, lo que permite obtener información adecuada para la evaluación de las decisiones terapéuticas a aplicar en cada caso.

Dentro de esta familia de oncogenes se encuentra el HER-2/neu, sigla proveniente de Human Epidermal Growth Factor Receptor-2.

El gen HER-2/neu codifica un receptor para factores de crecimiento que se expresa en células epiteliales normales. Es una proteína, denominada p185, de 185 kDa de peso molecular, presente en la superficie celular con funciones en el crecimiento y proliferación celular. Se supone que cada célula tiene dos copias del gen HER-2, pero por razones aún desconocidas, algunas células cancerosas poseen múltiples copias de dicho gen (amplificación genética) lo que se traduce en una sobre-expresión de la proteína HER-2/neu.

La oncoproteína HER-2/neu está compuesta por tres dominios: el dominio citoplasmático con actividad de tirosina quinasa, el dominio transmembrana y el dominio extracelular (ECD) 1, 2,3 que es la porción que interactúa con los factores de crecimiento y con los dominios extracelulares de otros miembros de la familia HER-2/neu, como HER-1, HER-3 y HER-4 que también son receptores de la superficie celular para factores de crecimiento. 4,5

Existe una estrecha correlación entre los niveles circulantes de Her-2/neu, sobre-expresión de Her-2/neu, masa tumoral y activación del receptor de membrana.

La liberación del dominio extracelular se asocia con un incremento de la fosforilación tirosin-quinasa intracelular y la concentración sérica del Her-2/neu puede ser un indicador no sólo de la amplificación génica sino también de la activación del receptor.<sup>18</sup>

Desde 1980, se ha descrito que el oncogen HER-2/neu y su producto proteínico intervienen en el desarrollo del cáncer de mama y de sus metástasis.<sup>6, 7</sup> Se estima que un 20-30% de los cánceres de mama sobre-expresan esta proteína. Trabajos recientes demuestran que la prevalencia de tumores HER-2/neu positivos, reflejada por los niveles séricos elevados de ECD circulante, es mayor que la reportada previamente mediante estudios realizados en tejido tumoral. Niveles elevados de ECD se encuentran en aproximadamente 18% de mujeres con cáncer de mama primario y en aproximadamente 43% de pacientes con tumor de mama metastásico. <sup>24</sup>

Los tumores que presentan la sobre-expresión son más agresivos, tienen un crecimiento más rápido, una mayor probabilidad de recurrencia post-tratamiento y pueden responder de manera diferente a las terapias habituales, por lo que generalmente los pacientes tienen un pobre pronóstico.

El significado de la positividad para HER-2/neu tiene valor pronóstico, dado que se asocia con enfermedad más agresiva y valor predictivo porque permite la identificación de pacientes que pueden beneficiarse de Herceptina. <sup>21</sup>

HER-2/neu en Tejido (para diagnóstico primario)

Los métodos más comúnmente utilizados para la determinación del gen y de la proteína HER-2/neu son: FISH (Fluorescent In Situ Hybridization) para DNA, IHC (Immunohistochemistry) para medir la expresión de la proteína p185 e Inmunoensayos (ELISA y Quimioluminiscencia Directa) para medir el dominio extracelular (ECD) circulante en suero.

FIGURA 1

<b>Comparison of Laboratory Methods for HER-2/neu Testing</b>			
<b>Specimen Type</b>	<b>IHC Tissue</b>	<b>FISH Tissue</b>	<b>QL Serum</b>
<b>Technical Complexity</b>	Moderate	High	Low
<b>Target</b>	p185	DNA	Extracellular domain, p105
<b>Interpretation</b>	Subjective	Quantitative	Quantitative
<b>FDA-Approved Clinical Application</b>	Candidacy for Herceptin; prognosis	Candidacy for Herceptin; prognosis	Monitoring of MBC patients

Yeh I. Am J Clin Pathol, 2002, 117 (Suppl 1):S26-S35

Comparación de los métodos de laboratorio para determinación de HER-2/neu: IHC, FISH y QL (Quimioluminiscencia Directa en ADVIA Centaur).

Nota: MBC=cáncer metastásico de mama

Los ensayos IHC y FISH se realizan en muestras de tejido de tumor primario y han sido aprobados por FDA para determinar el status de HER-2/neu en cáncer primario de mama. Son hasta el momento los únicos métodos que permiten seleccionar a aquellos pacientes susceptibles de recibir Herceptina (Trastuzumab), droga específica anti-HER-2/neu, indicada para cánceres de mama metastásico. La Herceptina es un anticuerpo monoclonal que se une al receptor HER-2/neu, bloqueándolo, previniendo la estimulación del crecimiento celular e inhibiendo así el cáncer. El HER-2/neu status y la elegibilidad para recibir Herceptina se determinan a partir del estudio de una muestra de tumor de mama.

IHC es un método inmunohistoquímico que permite identificar la sobre-expresión de la proteína HER-2/neu en el tejido tumoral, utilizando anticuerpos específicos contra los receptores HER-2/neu. Se cuantifica mediante un score de 0 a 3, considerando 0 y 1 como negativo y 3 como positivo. Cuando se obtiene un score de 2, resulta apropiada una confirmación por el método FISH.

El método FISH es una medida de la amplificación del gen HER-2/neu y permite identificar cuántas copias del gen están presentes dentro de las células cancerosas. Si se detectan más de dos copias del gen, se considera que existe amplificación y el resultado es HER-2/neu positivo para dicha muestra.

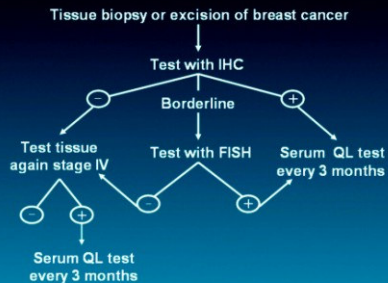
Existen algunas limitaciones en ambos métodos que fundamentalmente tienen que ver con la estandarización y los criterios de interpretación, ya que son métodos semicuantitativos sujetos a considerable variabilidad.<sup>13, 14</sup> La limitación más importante es que se trata de métodos que se realizan por única vez para determinar el HER-2/neu status en la muestra de tejido del tumor primario y no pueden utilizarse para la evaluación del HER-2/neu status en pacientes con tumor de mama metastásico.

HER-2/neu en suero (para monitoreo)

El monitoreo de los niveles séricos es el único método disponible para determinar el HER-2/neu status después de la extirpación del tumor primario.

FIGURA 2

### Proposed Triage of HER-2 Testing Procedures



*Yeh I. Am J Clin Pathol, 2002, 117 (Suppl 1):S26-S35*

Protocolo propuesto para la evaluación de HER-2/neu  
 Nota: QL= Quimioluminiscencia Directa en ADVIA Centaur

Se ha demostrado que el dominio extracelular (ECD) es una glucoproteína denominada p105, que tiene un peso molecular que varía entre 97 kDa y 115 kDa. Se libera en la sangre de los sujetos normales y está elevado en un subgrupo de mujeres con cáncer de mama metastásico.<sup>8-12</sup>

Diversos estudios demostraron que el monitoreo de los niveles séricos de HER-2/neu durante el cáncer de mama metastásico puede brindar información en tiempo real del estado de la patología y determinar si existe respuesta al tratamiento. Los valores obtenidos de HER-2/neu pueden utilizarse en el seguimiento y el control de pacientes con cáncer de mama metastásico cuyo nivel inicial de HER-2/neu en suero es superior a 15 ng/mL. Niveles en disminución indican respuesta al tratamiento, mientras que niveles en aumento sugieren que la enfermedad está progresando.

Es el primer ensayo para una oncoproteína circulante que puede ayudar en la toma de las mejores decisiones terapéuticas para pacientes con cáncer de mama metastásico y es el único ensayo disponible para el control y monitoreo del status de tumores HER-2/neu positivos.

Para la determinación del ECD existen métodos ELISA, aunque actualmente el método más difundido por su excelente performance es el inmunoensayo que emplea la tecnología de Quimioluminiscencia Directa en ADVIA Centaur. Es un inmunoensayo tipo sándwich de dos puntos: el reactivo lumínico está compuesto por el anticuerpo monoclonal de ratón TA-1 marcado con éster de acridinio y el reactivo conjugado con fluoresceína está compuesto por el anticuerpo monoclonal de ratón NB-3 marcado con fluoresceína. Estos dos anticuerpos monoclonales son específicos de epítopes únicos del ECD de HER-2/neu. La fase sólida está compuesta de anticuerpo de captura monoclonal de ratón purificado anti-fluoresceína unido de forma covalente a partículas paramagnéticas. Es un método totalmente automático, que utiliza 20 microlitros de suero, y un tiempo de 18 minutos por muestra hasta obtener el resultado final. Es cuantitativo dado que existe una relación directa entre la cantidad de HER-2/neu presente en la muestra del paciente y la cantidad de unidades relativas de luz (RLU) detectadas por el sistema automatizado.

#### Utilidad Clínica de la Determinación de HER-2/neu Sérico

La utilidad clínica de los métodos IHC y FISH está limitada a su uso como marcadores de la presencia de HER-2/neu en la muestra de tejido del tumor de mama, identificando al paciente para la terapia con Herceptina. La única forma que un paciente sea seleccionado para una terapia con Herceptina es que tenga confirmado un tumor que sobre-exprese HER-2/neu, siendo FISH e IHC los métodos que determinan la elegibilidad.

La utilidad clínica del método que cuantifica HER-2/neu en suero es el control y monitoreo de aquellos pacientes con tumores que presentan sobre-expresión. No reemplaza a los métodos FISH o IHC, sino que es complementario de los mismos. Además, debido a que se trata de un método cuantitativo de alta sensibilidad y especificidad, constituye una herramienta adecuada para controlar y monitorear los cambios de los niveles séricos de HER-2/neu a través del tiempo.

La FDA aprobó el método en suero para el monitoreo de pacientes con cáncer de mama metastásico basado en los estudios que demostraron que niveles séricos en aumento reflejan progresión de la enfermedad o falta de respuesta al tratamiento, mientras que niveles en descenso indican regresión de la enfermedad o adecuada respuesta al tratamiento.<sup>16, 23</sup>

Actualmente, están llevándose a cabo estudios que podrían también demostrar la utilidad clínica de la determinación en suero de HER-2/neu en el pronóstico y en la detección temprana de la enfermedad. Se demostró que pacientes con niveles de HER-2/neu inferiores a 15 ng/mL tienen significativamente un mejor pronóstico que aquellos pacientes con valores persistentemente elevados por encima de 15 ng/mL.<sup>22</sup> El HER-2/neu sérico es el único método disponible que está biológicamente ligado en forma directa al proceso de carcinogénesis y al curso de la enfermedad, lo cual otorga mayor relevancia clínica a los resultados obtenidos.

El método es no invasivo y permite el monitoreo de pacientes con cáncer de mama que están recibiendo cualquier tipo de terapia sistémica. Sin embargo, la ventaja más importante es la capacidad de obtener un resultado en tiempo real, lo que significa que se está evaluando el status de HER-2/neu precisamente en el momento de la toma de decisión respecto al tratamiento. Esto es particularmente relevante para aquellos pacientes considerados elegibles para un tratamiento específico anti-HER-2/neu mediante decisiones terapéuticas tomadas exclusivamente a partir de la información del status del tejido tumoral obtenido históricamente.<sup>15</sup>

#### Utilidad Clínica de HER-2/neu en el Tratamiento con Herceptina

La utilidad clínica de HER-2/neu es fundamental a partir de la introducción de las terapias con anticuerpos monoclonales, como la Herceptina, que bloquea el efecto de la proteína HER-2/neu. La administración de Herceptina ha demostrado tener un impacto clínico positivo en el tratamiento de cáncer de mama primario y metastásico.

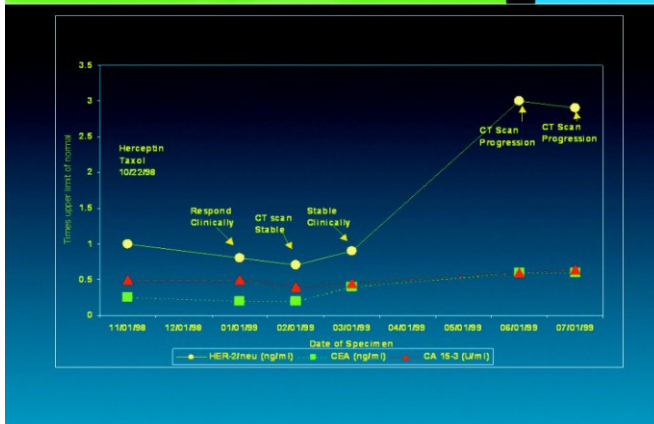
La evaluación de los niveles séricos basales y el monitoreo de los mismos a través del curso de la enfermedad permite evaluar la conveniencia de aplicar terapias más agresivas o modificar las actuales por otras alternativas. Durante el curso de la enfermedad, el monitoreo brinda información acerca de la respuesta a la terapia que contribuye a adoptar los regímenes de tratamiento más apropiados para cada paciente.

Los niveles séricos de HER-2/neu reflejan la respuesta al tratamiento. Los cambios en los niveles séricos pueden predecir la respuesta a Herceptina: la disminución de los mismos a las dos o tres semanas de iniciado el tratamiento predice buena respuesta, mientras que el aumento o el mantenimiento de los valores iniciales indican una mala respuesta y resistencia al tratamiento.<sup>24</sup> En pacientes con cáncer de mama metastásico bajo tratamiento con Herceptina que presentan niveles basales elevados, la cinética de los niveles séricos no sólo sigue una curva paralela, sino que incluso precede el curso clínico de la enfermedad.<sup>17</sup>

El HER-2/neu es superior a otros marcadores tumorales, como CA 15-3 y CEA para monitorear el tratamiento con Herceptina.<sup>19</sup>

#### FIGURA 3

## Monitoring of Patient on Herceptin Tx



Monitoreo de un paciente sometido a tratamiento con Herceptina. Se observa la diferencia de respuesta de los niveles de HER-2/neu en comparación con los marcadores CEA y CA 15-3

Los resultados que se obtendrán del estudio internacional multicéntrico BCIRG 006 (Breast Cancer International Research Group) permitirán evaluar la utilidad del HER-2/neu en adyuvancia, donde se espera que el trastuzumab tenga un impacto sustancial en el corto plazo.

### Diferencias con otros marcadores tumorales de mama

El HER-2/neu sérico no es un marcador tumoral más, ya que es una oncoproteína directamente relacionada a los procesos biológicos de carcinogénesis y metástasis, y por ello, tiene mayor relevancia clínica que los marcadores tumorales de mama que habitualmente se utilizan.

Los métodos para determinar los marcadores tumorales tradicionales como CEA y CA 15-3 miden la presencia de glicoproteínas de alto peso molecular que actúan como indicadores de crecimiento tumoral, pero no existe evidencia de que estas glicoproteínas participen biológicamente en la conversión de células normales a células cancerosas. En cambio, la oncoproteína HER-2/neu que se mide cuantitativamente en suero deriva de un oncogen conocido que está biológicamente involucrado en dicha conversión.

### Ventajas de la Determinación Sérica de HER-2/neu

Un marcador tumoral va a ser realmente útil si las decisiones terapéuticas basadas en sus variaciones mejoraran la sobrevida global, la sobrevida libre de enfermedad, la calidad de vida y los costos del tratamiento. El HER-2/neu cumple con estos requisitos y además:

- Los niveles séricos de HER-2/neu son indicadores de la agresividad del tumor.
- El monitoreo de los niveles séricos luego del diagnóstico primario puede ser un indicador temprano de la progresión de la enfermedad.
- El monitoreo de los cambios séricos del HER-2/neu junto a la alteración de los parámetros clínicos se correlacionan con el curso de la enfermedad en el cáncer de mama metastásico.
- La disminución de los niveles séricos del HER-2/neu con el tratamiento instituido reflejan buena respuesta al mismo.

Los descensos de los niveles por debajo de 15 ng/mL y su mantenimiento se asocian con incrementos en la sobrevida.

- La combinación de CA 15-3 con los niveles séricos del HER-2/neu pueden ser de utilidad en la monitorización de la respuesta terapéutica.
- Es el único método para monitorizar en tiempo real la respuesta al tratamiento de las pacientes con cáncer de mama metastásico.

Material proporcionado por:

Bayer Health Care - División Diagnósticos  
BIBLIOGRAFÍA

1. Hayes DF, et al. Elevated circulating c-neu oncogene product in patients with breast cancer. Abstract presented at the 12th Annual San Antonio Breast Cancer Symposium (December 8-9, 1989).
2. Carney WP, et al. Detection and quantitation of the human neu oncoprotein. *J Tumor Marker Oncol* 1991; 6:53-72.
3. Zabrecky JR, et al. The extracellular domain of p185/neu is released from the surface of human breast carcinoma cells, SK-BR-3. *J Biol Chem* 1991; 266:1716-1720.
4. Coussens L, Yang-Feng TL, Liao Y-C, et al. Tyrosine kinase receptor with extensive homology to EGF receptor shares chromosomal location with Neu oncogene. *Science*. 1985;1132-1139.
5. Brandt-Rauf PW, Pincus MR, Carney WP. The c-erbB-2 protein in oncogenesis: Molecular structure to molecular epidemiology. *Critical Rev in Oncogenesis*. 1994;313-329.
6. Kath R, et al. The neu-oncogene product in serum and tissue of patients with breast carcinoma. *Ann Oncol* 1993; 4:585-590.
7. Isola JJ, et al. Elevated erbB-2 oncoprotein levels in preoperative and follow-up serum samples define an aggressive disease course in patients with breast cancer. *Cancer* 1994; 73:652-658.
8. Brandt-Rauf PW, et al. The c-erbB-2 protein in oncogenesis: Molecular structure to molecular epidemiology. *Crit Rev Oncol* 1994; 5:313-329.
9. Watanabe N, et al. Serum c-erbB-2 in breast cancer patients. *Acta Oncol* 1994; 33:901-904.
10. Muss HB, et al. c-erbB-2 expression and response to adjuvant therapy in women with node-positive early breast cancer. *N Eng J Med* 1994; 330:1260-1266.
11. Anderson TI, et al. Detection of c-erbB-2 related protein in sera from breast cancer patients. Relationship to ERBB2 gene amplification and c-erbB-2 protein overexpression in tumour. *Acta Oncol* 1995; 34:499-504.
12. Molina R, et al. Utility of c-erbB-2 in tissue and in serum in the early diagnosis of recurrence in breast cancer patients: Comparison with carcinoembryonic antigen and CA 15.3. *Br J Cancer* 1996; 74:1126-1131.
13. Ross JS, Fletcher JA. The HER-2/neu oncogene in breast cancer: Prognostic factor, predictive factor and target for therapy. *Oncologist*. 1998; 237-252.
14. Kaptain S, Tan LK, Chen B. HER-2/neu and breast cancer. *Diagnostic Molecular Pathol*. 2001;139-152.
15. Lüftner D, Possinger K. The circulating antigen of HER-2/neu: Laboratory aspects and clinical role. *LigandAssay*, 2002. 7 (2): 111-117.
16. Cheli CD, Mickelson K, Thakur K, et al. ADVIA Centaur HER-2/neu assay has clinical utility in monitoring patients with metastatic breast cancer. *San Antonio Breast Cancer Symposium*, 2003. Abstract #409
17. Köstler WJ, Schwab B, Singer CF, et al. Monitoring of Serum Her-2/neu predicts Response and Progression-free Survival to Trastuzumab-Based Treatment in Patients with Metastatic Breast Cancer. *Clin Cancer Res*, 2004.
18. Molina M et al. *Cancer Res* 2001;61: 4744-9.
19. Dnistrian AM, Schwartz MK, Schwartz DC, Ghani F, Kish L. Significance of serum HER-2/neu oncoprotein, CA 15-3 and CEA in the clinical evaluation of metastatic breast cancer. *J Clin Ligand Assay* 2003; 25: 215-20
20. Chantal Tse et al, Evaluation of the Quantitative Analytical Methods Real-Time PCR for HER-2 Gene Quantification and ELISA of Serum HER-2 Protein and Comparison with Fluorescence in Situ

Hybridization and Immunohistochemistry for Determining HER-2 Status in Breast Cancer Patients. *Clinical Chemistry* 51:7, 10931101 (2005).

21. Ross JS, Fletcher JA, et al The Her-2/neu gene and protein in breast cancer 2003: biomarker and target of therapy. *Oncologist*. 2003;8:307-25

22. Schippinger, W, Ploner, F, Wernecke, KD et al.

The Prognostic Value of Sequential Serum HER-2/neu Measurement in Metastatic Breast Cancer. *Proc of ASCO - 2002*. Vol 21: pp. 429a (Abstract # 1714).

23. Carney W. The emerging role of monitoring serum HER-2/neu oncoprotein levels in women with metastatic breast cancer. *Laboratory Medicine* 2003;34:58-64

24. Carney WP, Neumann R, Lipton A, Leitzel K, Ali S, Price CP. Potential clinical utility of serum HER-2/neu oncoprotein concentrations in patients with breast cancer. *Clin Chem*. 2003; 49:1579-98