



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

**FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
INSTITUTO NACIONAL DE PEDIATRÍA**

IMPLICACIÓN PRONOSTICA DE LA SOBRE
EXPRESIÓN DE LA PROTEÍNA HER2/ERBB2 EN
OSTEOSARCOMA PEDIÁTRICO

TESIS

QUE PARA OBTENER EL DIPLOMA DE:
**ESPECIALISTA EN ONCOLOGIA MEDICA
PEDIATRICA**

PRESENTA:
DRA. ANA CRISTINA GARCÍA ESPINOSA

TUTOR:

DRA. ARACELI CASTELLANOS TOLEDO

CO-TUTOR:

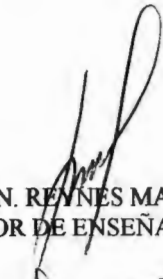
M en C IGNACIO MORA MAGAÑA




MÉXICO, D. F.

2006

**IMPLICACION PRONOSTICA DE LA SOBRE EXPRESION DE LA
PROTEINA HER2/ErbB2 EN OSTEOSARCOMA PEDIATRICO**



**DR. JOSE N. REYNES MANZUR
DIRECTOR DE ENSEÑANZA**



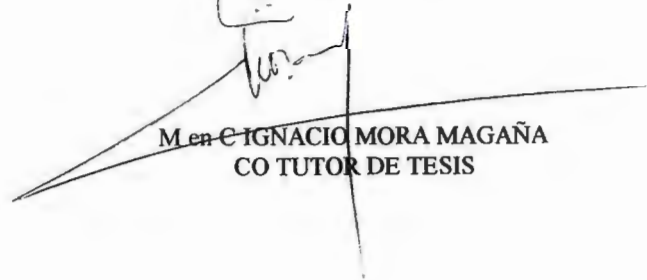
**DRA. MIRELLA VAZQUEZ RIVERA
JEFE DEL DEPARTAMENTO DE PRE Y POSGRADO INP**



**DRA. ROCIO CARDENAS CARDOS
JEFE DEL DEPARTAMENTO DE ONCOLOGIA**



**DRA. ARACELI CASTELLANOS TOLEDO
TUTOR DE TESIS**



**M en C IGNACIO MORA MAGAÑA
CO TUTOR DE TESIS**

INDICE

	PAGINAS
RESUMEN	5
ANTECEDENTES	6
OBJETIVOS	12
CRITERIOS PARA LA VALORACIÓN DE LOS ESTUDIOS DE ESTA REVISION	13
↓ Tipo de Estudio	13
↓ Tipo de Participantes	13
↓ Tipos de Medidas de Resultados	13
ESTRATEGIAS DE BUSQUEDA PARA LA IDENTIFICACIÓN DE LOS ESTUDIOS	13
METODOS DE LA REVISIÓN	17
↓ Identificación de los estudios	17
↓ Calidad Metodológica	18
↓ Extracción de Datos	19
RESULTADOS	19
CONCLUSIONES LOS AUTORES	31
DISCUSIÓN	34
CONCLUSIONES	37
ANEXOS	38
BIBLIOGRAFIA	49

AGRADECIMIENTOS

A Dios por darme la fortaleza de
Continuar en el camino de la vida,
Por darme sabiduría y por permitirme
Ser el instrumento para salvaguardar
La vida de los niños.

A mis padres y a mi tía María por todo su amor y
Paciencia en este largo camino y por su apoyo
Incondicional, así como infundirme la confianza
necesaria para alcanzar mis metas.....

A todos mis maestros y amigos Dr Roberto Rivera Luna, Dra. Rocío
Cardénas, Dr. Alberto Olaya V., Dr. Armando Martínez A.,
Dr Carlos Leal L., Dra. Ana Ma. Niembro. Gracias por ayudarme
A mi formación como oncóloga, por sus consejos y enseñanzas.

A mi asesora, mi maestra y mi amiga Dra. Araceli Castellanos
Gracias por todo su apoyo incondicional, gracias por sus regaños
Gracias por sus enseñanzas y consejos.

Gracias al Dr. Carlos Jiménez y al Dr. Ignacio Mora por todo
Su apoyo en la realización de mi tesis.

A mis amigas Carolina, Soad, Maribel, Minora y
Carmen así como a JC Ling por estar y acompañarme en
los momentos más difíciles y maravillosos de mi
carrera, por todos sus consejos y enseñanzas, por
ayudarme a madurar en esta etapa de mi vida. Así como
compartir grandes momentos de mi vida.

A DBN por darme todo su apoyo y gracias por
Compartir grandes momentos conmigo, y
hacerme muy feliz.

IMPLICACION PRONOSTICA DE LA SOBREEXPRESION DE LA PROTEINA HER2/erbB2 EN OSTEOSARCOMA PEDIATRICO

García-Espinosa Ana C.^{*}, Castellanos-Toledo Araceli^{**}, Cárdenas-Cardos Rocío^{***}, Mora-Magaña Ignacio^{****}

* Residente de 5to año de oncología pediátrica.

** Médico Adscrito al servicio de Oncología Pediátrico

*** Jefe del Servicio de Oncología Pediátrica

**** Jefe del servicio de metodología e Investigación

RESUMEN

Antecedentes:

En la actualidad, los factores de crecimiento y sus receptores juegan un papel importante en el desarrollo de la célula normal y de la célula tumoral además de regular el crecimiento celular, la diferenciación, la apoptosis, la migración celular e invasión¹. El receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR), fue el primer receptor identificado de la familia de los receptores conocidos como receptor tipo I de las tirosin-quinasas o receptores erbB³, que anormalmente son activados por muchos tumores epiteliales. El gen receptor del factor de crecimiento epidérmico humano 2 (HER2) es también conocido como *neu* y *c-erbB 2*⁴ y ayuda a controlar el crecimiento celular, su división y su reparación⁵. El gen *c-erbB-2* se ha encontrado amplificado en 10% a 30% de los cánceres de mama, ovario, gástrico, cervicouterino, adenocarcinoma y en el carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello⁶, y su sobre expresión solo ha demostrado tener implicaciones pronósticas en el cáncer gástrico⁹ y en el cáncer de mama⁷, en éste último, el valor terapéutico de *c-erbB-2* también ha sido ampliamente demostrado⁸. Recientes publicaciones²⁴, han demostrado que la sobre expresión de HER2/erbB2 también sucede en algunas otras neoplasias malignas no epiteliales como el osteosarcoma y el sarcoma de Ewing. Algunos estudios¹⁵, han demostrado una alta incidencia (aproximadamente 40%) de la expresión de HER2 en osteosarcoma y han postulado el uso del anticuerpo monoclonal específico antiHER2 para el tratamiento en los tumores primarios de hueso. La verdadera implicación pronóstica de HER2 en osteosarcoma aún no está bien determinada, ya que mientras algunos autores^{15, 18}, han demostrado la correlación entre la sobre expresión del HER2/erbB2 con enfermedad metastásica, pobre respuesta histológica y pobre sobrevida libre de eventos, otros, la han asociado a un menor riesgo de metástasis^{17, 23}, o simplemente no han documentado su expresión^{5, 24}. Sin embargo, la sobre expresión de HER2 asociada a mal pronóstico en osteosarcoma indicaría asimismo que la terapia con anticuerpos monoclonales dirigidos contra este blanco, podría considerarse como una alternativa eficaz en el tratamiento de ésta neoplasia altamente metastásica¹⁵. Debido a la controversia que existe acerca de la sobre expresión de la proteína HER2/erbB2 como implicación pronóstica en el osteosarcoma en niños se decide realizar esta revisión para posteriormente realizar estudios en nuestra población para investigar si es ó no un factor pronóstico en la sobrevida de los pacientes.

Objetivo: Conocer la implicación pronóstica asociada a sobre expresión del gen HER2/erbB2 en pacientes con osteosarcoma pediátrico publicadas en la literatura.

Estrategia de búsqueda: Se realizó la búsqueda de literatura sobre HER2/erbB2 y osteosarcoma pediátrico en las bases de datos como son LILACS, PUBMED, ARTEMISA, IMBIOMED, COCHRANE, EMBASE en los años del 1990 al 2005. Se realiza la búsqueda desde 1990 debido a que anteriormente no se conocía sobre la proteína HER2/erbB2.

Criterios de selección: Se incluyeron los estudios que evaluaron a pacientes pediátricos y adultos con osteosarcoma, S. Ewing, y sarcomas de partes blandas y se excluyeron los artículos sobre animales.

Resultados principales: De los 14 estudios revisados, 5 artículos son referentes a sarcomas de partes blandas, tanto en pacientes pediátricos como en adultos, de estos 5 artículos solo 3 muestran la sobre expresión de HER2/erbB2, mostrando el 10.6%, el 31% y 52.3% respectivamente. Solo se identificó la sobre expresión de HER2/erbB2 en cierto tipos de sarcomas como carcinosarcoma, fibrohistiocitoma maligno, en la dermatofibrosarcoma y en el sarcoma sinovial. Fueron 9 los artículos referentes a osteosarcoma, todos los artículos fueron realizados tanto en pacientes pediátricos como en adultos, de estos 7 presentan sobre-expresión de HER2/erbB2 mostrando un 42%, 45.3%, 63%, 45%, 44%, 53%, 30% respectivamente. Sin embargo, 6 de los 7 artículos coinciden en cuanto a que los pacientes con sobre-expresión de HER2 tienen una SLE menor que aquellos pacientes sin sobre-expresión de HER2 (40% vs. 78% a 5 años) ($p=0.01$). Y solo en un artículo demuestra que la sobre-expresión se asocia a buen pronóstico.

Conclusiones: La sobre-expresión de HER2 tiene una implicación pronóstica negativa, con una SG y un SLE muy pobre a pesar de tratamientos agresivos.

ANTECEDENTES:

Desde hace dos décadas, se ha venido investigando el papel que juegan los factores de crecimiento en la tumorigenesis del cáncer. Los factores de crecimiento y sus receptores son bien conocidos ya que actualmente juegan un papel importante durante el desarrollo de la célula normal y de la célula tumoral y además regulan diversos eventos incluyendo el crecimiento celular, la diferenciación, la apoptosis, la migración celular y la invasión ⁽¹⁾.

El receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR), ha surgido como un importante factor en el desarrollo y crecimiento de muchos tipos de cánceres. Ahora se acepta que en el camino de la señalización, el EGFR juega un papel importante en múltiples procesos de la tumorigenesis, contribuyendo a la proliferación de la célula cancerosa, a la angiogénesis, y a las metástasis, así como a la protección de la apoptosis ⁽²⁾.

El EGFR fue el primer receptor identificado de una familia de receptores conocidos como receptores tipo I de las TK o receptores Erb B ⁽³⁾.

Los receptores Erb B son activados por diversos mecanismos ⁽³⁾. Bajo condiciones fisiológicas, una variedad de ligandos de la familia EGFR conducen a la formación de los complejos homo o heterodiméricos entre los cuatro receptores erbB ^(2, 3), los cuáles son proporcionados para la amplificación y diversificación de la señalización. En las células tumorales, éstos receptores pueden ser activados por mecanismos agregados más allá del receptor, con producción de sobre expresión, mutaciones y producción autocrina. Anormalmente, los receptores Erb B son activados por muchos tumores epiteliales.

La familia de los EGFR incluye a los siguientes cuatro diferentes receptores: EGFR/ErbB-1, HER2/ErbB-2, HER3/ErbB-3, y HER4/ErbB-4.

HER2 es la pareja principal del EGFR, ya que el complejo heterodimérico que contiene HER2 es más estable en la superficie celular que otros complejos que contienen a otros miembros de la familia EGFR ⁽²⁾.

El gen receptor del factor de crecimiento epidérmico humano 2 (HER2) es también conocido como *neu* y *c-erbB 2* ⁽⁴⁾.

El HER2/*neu* es un receptor glicoproteico de membrana de 185 KD, codificada en el cromosoma 17q21 con actividad tirosin-cinasa ⁽⁵⁾, es el producto del protooncogen *c-erbB-2* y es estructuralmente igual al EGFR.

HER2/*neu* es un gen que ayuda a controlar el crecimiento celular, su división y su reparación ⁽⁶⁾. Su sobre expresión ha demostrado jugar un papel importante en la transformación celular, en la tumorigenesis y en el desarrollo de las metástasis.

Hallazgos adicionales en células transplantadas con HER2 así como de animales transgénicos, soportan la hipótesis de que este proto-oncogen no solo es un marcador si no que también contribuye directamente en la patogénesis y la agresividad clínica de los tumores que lo sobre expresan ⁽⁴⁾.

Inicialmente, la sobre-expresión de HER2 fue observada en una variedad de adenocarcinomas, principalmente en pacientes con carcinomas de sitio primario desconocido. Muchos pacientes con carcinomas de sitio primario desconocido tienen tumores que son pobremente diferenciados, agresivos y poseen un alto potencial metastásico. En las autopsias de pacientes con carcinoma de sitio primario desconocido, se han documentado tumores primarios en lugares ocultos que son asociados con la sobre-expresión de HER2 ^(7, 8). Este fenotipo, también se ha visto asociado a la sobre-expresión de HER2 en pacientes con cáncer de mama.

HER2 es sobre-expresado en al menos 1 de cada 4 cánceres de mama, y se correlaciona con un pobre resultado clínico en mujeres con o sin ganglios positivos ⁽⁴⁾. Esta sobre-expresión es considerada como un factor pronóstico negativo y está asociado con un intervalo libre de enfermedad muy corto y pobre sobrevida global ^(6, 7).

El gen *c-erbB-2* (HER2/neu), también se ha encontrado amplificado en 10 a 30% de los cánceres de ovario y gástrico, en la línea celular MKN-7 de cáncer gástrico, y en otros tipos diversos de tumores que incluyen al adenocarcinoma de pulmón, carcinoma del cervix uterino y el carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello ⁽⁹⁾.

La sobre-expresión de HER2/neu en 30% de mujeres con cáncer de ovario, se asoció a un porcentaje más bajo de recurrencia o persistencia del cáncer en algunos estudios, pero en otros se asoció con una disminución de la sobrevida media, sin ser un hallazgo consistente.

Se ha sugerido que la proteína encodada por el gen *c-erbB-2* es un receptor del factor de crecimiento potencialmente envuelto en el crecimiento y progresión de las células malignas, a pesar del hecho de que el ligando de la glicoproteína de transmembrana (p185) aún no ha sido identificado. El mecanismo por el cual *c-erbB-2* podría contribuir a la progresión maligna aún está por ser aclarado, sin embargo dos estudios ^(10, 11), han proporcionado evidencia que señala una sobre-regulación de la invasión y metástasis dependiente de p185 en las líneas celulares de cáncer de mama NIH3T3 y MDA-MB-435. Una implantación de NIH3T3 con un HER2/neu activado potenció la capacidad de invasión in vivo e in Vitro.

El valor pronóstico y el valor terapéutico del *c-erbB-2* ha sido demostrado principalmente en el cáncer de mama. Pacientes con sobre-expresión del gen *c-erbB-2* tienen una sobrevida global y libre de recaída significativamente más baja que aquellos pacientes sin la sobre-expresión de *c-erbB-2*, los niveles elevados de la expresión de p185 se correlacionan positivamente con las metástasis en los ganglios linfáticos ⁽⁹⁾.

ErbB-2 es sobre-expresado en el cáncer de mama frecuentemente como un resultado de la amplificación del gen. Esta sobre-expresión/amplificación del ErbB-2 ha sido asociada con las altas incidencias de recaídas y muertes, particularmente en pacientes con enfermedad ganglionar. La influencia de ErbB-2 sobre los resultados de pacientes con ganglios negativos ha sido más difícil de demostrar, sin embargo, algunos estudios recientes han demostrado bien el valor pronóstico en este subgrupo de pacientes, aunque la amplificación cuantitativa de ErbB-2 parece ser más relevante clínicamente para identificar a los pacientes que responderán mejor a trastuzumab (anticuerpo monoclonal antiHER), doxorubicina u otros agentes ⁽¹²⁾.

Así la causa principal de la sobre expresión de HER2/neu parece ser la amplificación del gen ⁽⁷⁾.

En pacientes post-menopáusicas con cáncer de mama de alto riesgo, algunos estudios han demostrado que los estrógenos inhiben específicamente la expresión de HER2 y que las células mamarias responden al estrógeno por medio de la modificación en la colocación del receptor en su superficie ⁽¹³⁾.

Recientemente, la amplificación del gen HER2/neu ha recibido mucha atención, esto es debido a su gran utilidad clínica como marcador pronóstico y como factor predictivo de respuesta al tratamiento ⁽¹⁴⁾. En algunas investigaciones experimentales con modelos animales y estudios clínicos con mujeres que tenían cáncer de mama y sobre-expresión de HER2/neu, se demostró la regresión del tumor como respuesta al tratamiento con el anticuerpo monoclonal antiHER2/neu ⁽¹⁴⁾.

Recientes publicaciones, han demostrado que la sobre-expresión de HER2/ErbB2 también sucede en algunas otras neoplasias malignas no epiteliales como osteosarcoma y el sarcoma de Ewing ^(15, 16, 17, 18). Los sarcomas de partes blandas representan el 1% de todas las enfermedades malignas en el adulto y el 15% de las enfermedades malignas en la infancia y el tratamiento de estas enfermedades malignas es controversial. El oncogen HER2/neu ha sido expresión de HER2/neu probablemente juegue un papel importante en el desarrollo de los cánceres humanos. También se ha observado que la sobre expresión de HER2/neu esta asociada con una pobre supervivencia y que ha mostrado que incrementa su malignidad e induce quimioresistencia en ciertas condiciones experimentales.³²

El sarcoma sinovial es un sarcoma de partes blandas agresivo que representa hasta en un 10% de los sarcomas con un pico de incidencia en la adolescencia y en adultos jóvenes. El papel de la activación de HER2/neu en los tumores de partes blandas es pobremente entendido, y los datos moleculares insuficientes sobre los estudios de inmunohistoquímica han sido reportados. La expresión de la proteína HER2/neu fue estudiada en 204 sarcomas y la sobre expresión fue ausente en todas estas neoplasias.³³

El osteosarcoma es una neoplasia con un alto porcentaje de metástasis al diagnóstico y un alto riesgo de desarrollo de las mismas y de recaída local durante y después del tratamiento. En las últimas décadas, la identificación de quimioterapia efectiva para los pacientes con osteosarcoma llevó a un mejoramiento significativo de los resultados del tratamiento ⁽¹⁹⁾. Los protocolos de tratamiento actuales, usan una combinación de cirugía y quimioterapia, alcanzando una sobrevida libre de enfermedad (SLE) aproximada de 70% a 5 años en los pacientes que no tienen metástasis al diagnóstico ⁽²⁰⁾. Aunque esto representa una alta proporción, los pacientes que recaen, raramente responden a los tratamientos de rescate ⁽¹⁹⁾. Uno de los más importantes predictores de resultados en osteosarcoma es la respuesta histológica del tumor a la quimioterapia pre-quirúrgica ^(20, 21). Intentos de intensificación del tratamiento basado sobre al menos una respuesta histológica óptima, no han mejorado los resultados ⁽²¹⁾. El uso de una quimioterapia preoperatoria más intensa en ensayos clínicos subsecuentes ha aumentado el porcentaje de pacientes con buena respuesta histológica pero no ha cambiado la sobrevida libre de eventos (SLE). Por lo tanto, los resultados en osteosarcoma no han mejorado significativamente en la última década.

En la actualidad, existe una necesidad urgente de tener la capacidad de estratificar al diagnóstico a los pacientes con osteosarcoma dentro de grupos de alto y bajo riesgo. En muchos cánceres, como la leucemia aguda linfoblástica y neuroblastoma, características biológicas y clínicas al diagnóstico, permiten la identificación de pacientes con el riesgo de enfermedad recurrente. Esto a su vez, permite la estratificación del tratamiento, lo cual puede mejorar la capacidad para curar a los pacientes de alto

riesgo y minimizar la toxicidad en los de bajo riesgo. En la actualidad, la capacidad para predecir el pronóstico al diagnóstico en osteosarcoma es limitada. El más importante predictor de resultados al diagnóstico es la presencia o ausencia de metástasis¹⁹. El 15% a 20% de los pacientes que presentan metástasis al diagnóstico, tienen un pronóstico extremadamente pobre, con aproximadamente 10% de SLE a largo plazo. Las metástasis como predictoras no son útiles en el 80% a 85% de pacientes que se presentan con enfermedad local únicamente. En éstos pacientes, se han identificado un número limitado de determinantes que predicen resultados. Estas determinantes están relacionadas al tamaño del tumor o al sitio de presentación (más relacionadas a la resecabilidad del tumor). Desafortunadamente éstas determinantes son de valor predictivo insuficiente para permitir la estratificación del tratamiento.

Algunos de los factores biológicos evaluados hasta ahora como factores pronósticos potenciales en osteosarcoma son la expresión de la glicoproteína-p y *erbB-2*^(18, 22). La expresión de la glicoproteína-p, que es el producto del gen de resistencia a múltiples drogas, incluye a la doxorubicina, la cuál es el componente principal del tratamiento del osteosarcoma. El protooncogen *c-erbB-2*, el cuál encoda al receptor del factor de crecimiento epidérmico 2 (HER2), encoda a una proteína estructuralmente homóloga al EGFR, y su sobre-expresión en humanos, induce a la transformación maligna de los fibroblastos.

Recientemente, dos estudios han demostrado que la sobre-expresión de la proteína ErbB2 (HER2/neu) en osteosarcoma, está asociada con la presencia de metástasis pulmonares y disminución en la sobrevida, así como una pobre respuesta histológica a la quimioterapia prequirúrgica^(15, 18). Uno de los primeros estudios en demostrar la correlación existente entre la expresión de ErbB-2 y el pobre pronóstico para los pacientes con osteosarcoma, fue el realizado por Onda y colaboradores en 1996⁽¹⁸⁾. Posteriormente, Gorlick y colaboradores⁽¹⁵⁾, realizaron un estudio retrospectivo realizando inmunohistoquímica sobre el material obtenido de 53 pacientes tratados en el Memorial Sloan-Kettering Cáncer Center, demostrando altos niveles de expresión de HER2/erbB-2 en 42.6% de los casos, y una alta frecuencia de expresión en las muestras de los pacientes con enfermedad metastásica al diagnóstico y al tiempo de la recaída. La expresión de HER2/erbB-2 correlacionó con una significativamente pobre respuesta histológica (p0.03). En los pacientes que al diagnóstico se presentaron con enfermedad no metastásica, la expresión de HER2/erbB-2 al tiempo de la biopsia inicial fue asociada con una disminución significativa de SLE (47% vs. 79%) a 5 años.

Contrariamente, Akatsuka y cols.⁽²³⁾, demostraron que la expresión de ErbB2 disminuye en los individuos con osteosarcoma tanto como ellos llegan a ser metastásicos, sugiriendo que ErbB2 no juega un papel importante en el desarrollo de las metástasis pulmonares. Posteriormente, éste mismo investigador realizó un nuevo estudio en 81 pacientes sin enfermedad metastásica al diagnóstico para determinar si la presencia de altos niveles de ErbB2 eran un predictor del comportamiento clínico del osteosarcoma, encontrando que el 61% de los tumores examinados demostraron una alta expresión de ErbB2 y su presencia fue asociada significativamente con una incrementada probabilidad libre de evento y sobrevida global⁽¹⁷⁾. El análisis multivariado demostró que el riesgo de eventos adversos y muerte fue aumentando sustancialmente entre los pacientes con expresión disminuida de la proteína ErbB2 en las células del tumor, comparados con los pacientes que tuvieron alta expresión de ErbB2 en las células del tumor. No se demostró una relación entre la expresión de ErbB2 y la extensión de la necrosis del tumor después de la quimioterapia prequirúrgica. La conclusión más importante para éste estudio fue que una tinción negativa para ErbB2 es un factor de riesgo independiente para pobres

resultados en osteosarcoma, sugiriendo que la expresión disminuida de ErbB2 podría ser usada para identificar tumores con una tendencia a la progresión después de la quimioterapia.

Este mismo estudio propone las siguientes explicaciones biológicas para la asociación de la sobre-expresión de ErbB2 con los resultados favorables en los pacientes con osteosarcoma que no tuvieron metástasis al tiempo del diagnóstico y fueron tratados con cirugía y altas dosis de quimioterapia neoadyuvante. La pérdida de expresión de ErbB2 fue notada en 14 de 19 pacientes cuyo tumor inicial llegó a ser metastásico. La pérdida de expresión ocurrió durante la administración de altas dosis de quimioterapia. Estas observaciones sugieren que tal vez, la sobre-expresión de ErbB2 no juega un papel importante en las metástasis pulmonares, las cuáles por sí mismas determinan el pronóstico del osteosarcoma. Lo anterior se fundamenta en datos de laboratorio que demuestran que la actividad del gen c-erbB2 puede aumentar el potencial metastásico experimental pero no el espontáneo en las células del carcinoma de colon murino. Además, es posible que las clonas positivas para ErbB2 fueran borradas durante la administración de altas dosis de quimioterapia adyuvante y que las clonas negativas de ErbB2 sobrevivientes son las que llegaron a ser metastásicas. Por lo tanto, es aceptable que los pacientes con osteosarcoma cuyos tumores sobre-expresan ErbB2 puedan beneficiarse con altas dosis de quimioterapia adyuvante y tener más largas SLE y global que aquellos cuyos tumores no sobre-expresan ErbB2.

En otros 2 estudios ^(5, 24), en contraste con lo reportado previamente, los resultados demostraron la ausencia de expresión del HER2/neu en osteosarcoma y en sarcoma de Ewing, sugiriendo que los altos porcentajes de casos positivos en las investigaciones de Gorlick ⁽¹⁵⁾ y Onda ⁽¹⁸⁾, plantean la posibilidad de que estos resultados sean incorrectos debido a la posibilidad de sobre interpretación. Diferencias en los anticuerpos usados en éstos estudios pudieron contribuir para algunas de las discrepancias. Además, patrones de tinciones de inmunohistoquímica no frecuentemente usados pueden llevar a interpretaciones erróneas ya que pueden estar influenciados por la duración y el método de fijación, así como por el grado de recuperación del antígeno. En forma secundaria, los resultados también dependerán del anticuerpo usado.

Press y colaboradores ⁽²⁵⁾, evaluaron un panel de 28 anticuerpos (7 policlonales y 21 monoclonales) sobre 187 casos de cáncer de mama que previamente demostraron ser HER2/neu positivos y demostraron que la habilidad para detectar células positivas a HER2/neu varió de 6% a 82%, sugiriendo que, se debe tener mucha precaución en la interpretación de la inmunohistoquímica, por el fenómeno bien estudiado de la inconsistencia interobservador, uniforme con el material de referencia estandarizado.

En cáncer de mama, la amplificación del oncogen HER2/neu típicamente se ha asociado con la sobre-expresión del HER2/neu, evidenciado por la tinción de la membrana. La importancia de tinciones restringidas al citoplasma ha sido cuestionada. Un estudio que usó el anticuerpo HER2/neu 20N (policlonal), demostró que la tinción citoplásmica se correlacionó con la amplificación de HER2/neu, sin embargo un segundo anticuerpo reportado en el mismo estudio, reconoció un componente de HER2/neu unido a la membrana que podría ser superior en predecir el pronóstico en cáncer de mama. La tinción citoplásmica puede representar una alteración en el proceso de estabilidad del HER2/neu mRNA y p185-HER2/neu o ambos.

Una revisión de estudios de inmunohistoquímica (IHQ) publicados sobre la sobre-expresión de HER2/neu, demostró un amplio rango de índices de sobre-expresión, variando del más bajo de 9% al

más alto de 60%, y esto pudo deberse a que una amplia variedad de diferentes anticuerpos se usaron en estos estudios⁽⁷⁾. Muchos patólogos están consientes que la IHQ tiene sus propios desafíos respecto a la fragilidad del espécimen (por ejemplo: fijación y tinción) que pueden afectar la calidad de los resultados. En adición a lo anterior, éste planteamiento requiere además, de un método uniforme para la interpretación y calificación de los resultados.

El HercepTest (DAKO, Glostrup, Denmark), aprobado por la FDA, representa un método confiable para la investigación de la expresión de HER2/neu porque es un equipo de pruebas de IHQ que usa un anticuerpo policlonal de conejo con procedimientos y criterios de evaluación ya estandarizados. Aunque éste anticuerpo no ha sido usado en todos los ensayos clínicos de Herceptin (trastuzumab) hasta ahora publicados, los estudios que están en desarrollo en estos momentos, están usando el HercepTest para tener una respuesta más clara de su valor predictivo^(7, 2, 8, 14).

Algunos sostienen que la detección de la amplificación del gen HER2/neu en las células del cáncer de mama por la técnica de hibridación por fluorescencia in situ (FISH), es el mejor enfoque. Las críticas para ésta técnica incluyen la necesidad como pre-requisito de una técnica con adiestramiento específico y sus costos. Además de esto, también requiere de una cantidad razonable de experiencia en la interpretación de los resultados y aún se desconoce si la técnica de FISH fracasa para identificar a aquellos pacientes con carcinomas que sobre-expresan HER2/neu en la ausencia de la amplificación del gen, que pueden beneficiarse de la terapia con Herceptin. Hay, sin embargo, solo datos limitados actualmente disponibles sobre la frecuencia de éste fenómeno. La más reciente publicación sobre esta cuestión fue presentada por Mass y colaboradores en la Reunión Anual 2000, de la American Society of Clinical Oncology⁽²⁶⁾.

Un estudio realizado en 2001⁽⁷⁾, de la sobre-expresión de HER2/neu sobre los bloques de parafina de 85 cánceres invasivos de mama, usando un panel de 5 anticuerpos monoclonales (9G6, 3B5, CB11, TAB250, GSF-HER2) y 2 policlonales (A8010, A0485) en adición al HercepTest (DAKO, Glostrup, Denmark) y la amplificación del gen HER2/neu determinado por FISH usando una prueba color dual, concluyó que la comparación de inmunohistoquímica (IHQ) y FISH demostró una excelente correlación de altos niveles de sobre-expresión de HER2/neu (3+) con la amplificación del gen, y que FISH no proporcionó más información en éstos tumores. Los anticuerpos analizados difieren en su reactividad en los casos con ninguna o baja amplificación del gen. Los índices más altos de sobre-expresión de HER2/neu fueron identificados por HercepTest/A0485 de DAKO. Setenta y cinco por ciento de los tumores que fueron calificados como 2+ (débilmente positivos) usando el HercepTest compartieron una menor asociación con la amplificación del gen.

Por otro lado, los autores concluyen que pacientes que tuvieron IHQ 2+ y FISH positivo, tienen un beneficio clínico de Herceptin similar a aquellos pacientes quienes son IHQ 3+. Los autores también concluyen que la amplificación del gen HER2/neu por FISH parece ser un predictor más preciso del beneficio clínico del tratamiento con Herceptin que la sobre-expresión por IHQ que parece ser debatible con respecto a los datos presentados. Considerando los datos actualmente disponibles⁽²⁶⁾, parece razonable aplicar el análisis de FISH solo a aquellos casos especiales.

Las investigaciones hasta ahora publicadas de sobre-expresión de HER2/neu en osteosarcoma, han usado IHQ para tal fin^(5, 15, 17, 18, 23, 24). Algunos de estos estudios que han incluido HercepTest/A0485 (DAKO, Corp.) en sus investigaciones como único anticuerpo^(5, 24), demostraron una ausencia de expresión de Her2/neu. Curiosamente, otros estudios que sí demostraron la sobre-expresión de

HER2/neu en los tejidos preservados de osteosarcoma ^(15, 17, 18), utilizaron anticuerpos diferentes a HercepTest en la investigación (anticuerpo monoclonal CB11/Novocastra Lab, y 5B5/Becton Dickinson Lab.). Una de éstas investigaciones, la publicada por Gorlick y Huvos del Memorial Sloan-Kettering Cáncer Center ⁽¹⁵⁾, usó como anticuerpo principal el 5B5 de Becton Dickinson, obteniendo altos niveles de HER2/ErbB-2 en 42.6% de las muestras investigadas, ésta expresión fue confirmada en todos los casos con el kit de HercepTest de DAKO.

Como ya se ha comentado existen muy pocas investigaciones sobre HER2/neu y su implicación pronostica que han demostrado la expresión de HER2/neu en osteosarcoma específicamente, y estas pocas publicaciones, muestran controversia primero en la frecuencia de la expresión del gen y otras, en el verdadero valor pronóstico del mismo, y no existen datos concluyentes del verdadero valor pronóstico de su sobre-expresión en ésta neoplasia. Por lo anterior se decidió realizar el presente estudio con el fin de analizar toda la literatura existente sobre la expresión de HER2 y poder conocer su verdadera implicación pronostica o al menos concluir algún valor predictivo de este marcador sobre el comportamiento biológico del osteosarcoma en niños.

Por otro lado la finalidad principal del estudio será conocer algunas de estas conclusiones las cuales a su vez servirán como fundamento de una investigación prospectiva realizada en la población con osteosarcoma atendida en el INP para conocer nuestros propios resultados: saber si la población investigada lo expresa, conocer en esta población que lo expresa los hallazgos clínicos que la caracterizan, establecer si esta sobre-expresión puede ser correlacionada al comportamiento de la enfermedad y conocer el verdadero valor pronóstico de dicha sobre-expresión.

El presente estudio tiene como propósito principal investigar y analizar exhaustivamente la literatura que se encuentra disponible sobre la asociación de la expresión de la proteína HER2/ErbB2 en osteosarcoma para poder confirmar y determinar lo siguientes:

1. Cual es la implicación pronostica asociada a la sobre-expresión del gen HER2/erbB-2 en pacientes con osteosarcoma.
2. Que factores externos influyen en la expresión de HER2 y modifican los resultados de las muestras estudiadas.

Objetivos:

Conocer la implicación pronostica asociada a la sobre expresión del gen HER2/erbB2 en pacientes con osteosarcoma pediátrico en la literatura.

CRITERIOS PARA LA VALORACION DE LOS ESTUDIOS DE ESTA REVISION

Para el desarrollo de esta revisión seleccionamos los estudios que cumplieran las siguientes características:

Tipos de Estudio:

Solo se incluyeron los artículos cuyo diseño de estudio fue cohorte, es decir, estudios que consisten en el seguimiento de una o más cohortes de individuos que presenta diferentes grados de exposición a un factor de riesgo en quienes se mide la aparición de la enfermedad o condición en estudio. Son estudios observacionales analíticos y retrospectivos.

La razón por la que solo se incluyeron los estudios de cohorte fue por que no existen otros diseños de estudio en la literatura sobre la sobre-expresión de HER2 en pacientes pediátricos y sólo se encontraron artículos de cohorte.

Tipo de Participantes:

Se incluyeron todos los estudios que evaluaron a pacientes pediátricos y adultos con osteosarcoma, S. Ewing, y sarcomas de partes blandas con expresión de HER2 ya que en estos estudios se ha investigado y demostrado la sobre-expresión de HER2 teniendo un mayor impacto en osteosarcoma debido a que se ha observado que en esta neoplasia HER2 puede tener una expresión pronostica negativa.

Se excluyeron los artículos sobre animales, por que la expresión de HER2 ya ha sido determinada en humanos desde 1990.

Se excluyeron también aquellos artículos que solo eran una revisión del tema.

Tipos de Medidas de Resultado:

Las medidas de resultado fueron la sobre expresión de la proteína HER2/neu y su correlación pronostica clínico-patológica positiva o negativa.

ESTRATEGIAS DE BUSQUEDA PARA LA IDENTIFICACION DE LOS ESTUDIOS

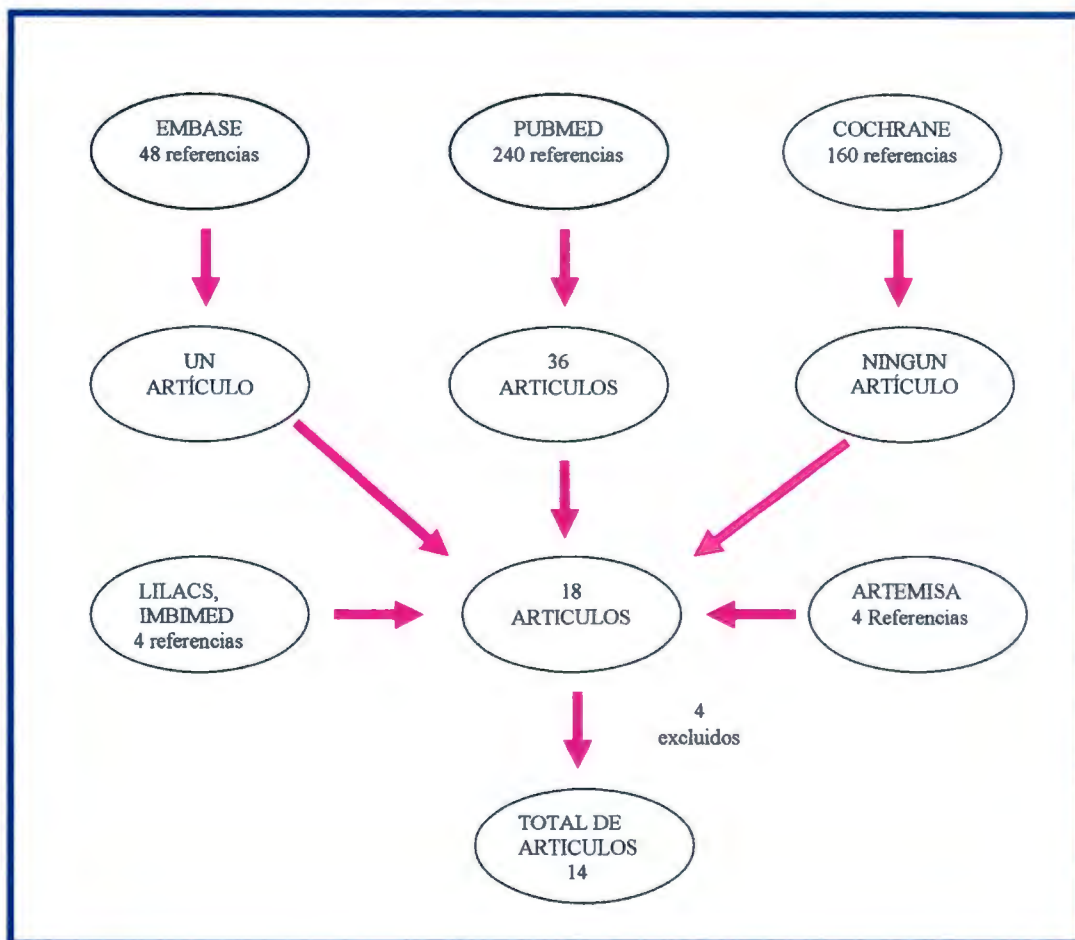
Se realizo la búsqueda de literatura sobre HER2/erbB2 y osteosarcoma pediátrico y se adoptó la estrategia general de búsqueda informática en las bases de datos de LILACS, PUBMED, ARTEMISA, IMBIOMED, COCHRANE, EMBASE en los años del 1990 al 2005. Se realiza la búsqueda desde 1990 debido a que anteriormente no se conocía sobre la proteína HER2/erbB2 en osteosarcoma. La búsqueda bibliográfica en las bases de datos de la literatura biomédica antes mencionada proporcionó un total 645 referencias bibliográficas. Después de la exclusión de los estudios que no cumplían los criterios de selección en base a la lectura de los resúmenes se seleccionaron 456 referencias y con la eliminación de los duplicados que fueron 100, así como se eliminaron los estudios que no cumplían los requisitos para el estudio, se seleccionaron 36 artículos. La lectura a texto completo y la evaluación de todos los artículos seleccionados por los autores concluyó con la inclusión consensuada de 14 estudios. Las estrategias de la búsqueda se describen en la tabla 1.

TABLA 1

LILACS	PUBMED	ARTEMISA	IMBIOMED	COCHRANE	EMBASE
Periodo: enero de 1990 a diciembre del 2005	Periodo: enero de 1990 a diciembre del 2005	Periodo: enero de 1990 a diciembre del 2005	Periodo: enero de 1990 a diciembre del 2005	Periodo: de 1990 al 2005	Periodo: de 1990 al 2005
1.- HER2	1.- HER2	1.- HER2	1.- HER2	1.- HER2	1.- HER2
2.- Neu	2.- Neu	2.- Neu	2.- Neu	2.- Neu	2.- Neu
3.- ErbB2	3.- ErbB2	3.- ErbB2	3.- ErbB2	3.- ErbB2	3.- ErbB2
4.-osteosarcoma	4.-osteosarcoma	4.-osteosarcoma	4.-osteosarcoma	4.-osteosarcoma	4.-osteosarcoma
5.-sarcomas de partes blandas	5.-sarcomas de partes blandas	5.-sarcomas de partes blandas	5.-sarcomas de partes blandas	5.-sarcomas de partes blandas	5.-sarcomas de partes blandas
6.-sarcoma de Ewing	6.-sarcoma de Ewing	6.-sarcoma de Ewing	6.-sarcoma de Ewing	6.-sarcoma de Ewing	6.-sarcoma de Ewing
7.- 1,4	7.- 1,4	7.- 1,4	7.- 1,4	7.- niños	7.- 1,4
8.- 1,3,4	8.- 1,3,4	8.-1,3,4	8.-1,3,4	8.- 1,4,7	8.-1,3,4
9.-2,3,4	9.-2,3,4	9.-2,3,4	9.-2,3,4	9.- 1,3,4,7	9.-2,3,4
10.-1,4,5,6	10.-1,4,5,6	10.-1,4,5,6	10.-1,4,5,6	10.-2,3,4,7	10.-1,4,5,6
11.- límite edades de 0 a 18 a	11.- límite edades de 0 a 18 a	11.- límite edades de 0 a 18 a	11.-límite edades de 0 a 18 a	11.-1,4,5,7	11.-límite edades de 0 a 18a
12.- sin límite	12.- sin límite	12.- sin límite	12.- sin límite	12.- sin límite	12.- sin límite

El proceso de búsqueda y selección de artículos se describe en la siguiente grafica.

GRAFICA 1



Se revisaron las listas de las referencias de todos los artículos identificados en busca de los estudios potencialmente relevantes. Los cuales se describen en la tabla 2.

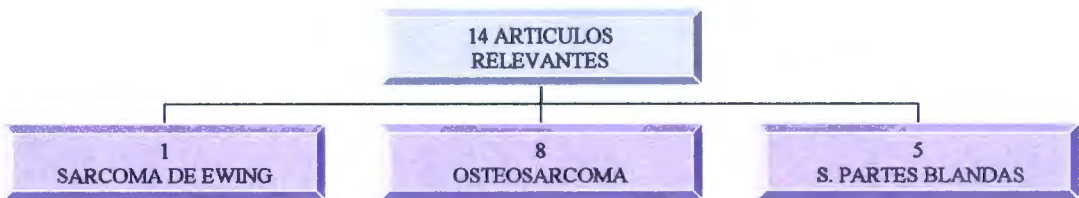
TABLA 2 ARTICULOS RELEVANTES

<i>AUTORES</i> <i>Año de</i> <i>Publicación</i>	<i>CASOS</i>	<i>EDAD</i>	<i>DIAGNOSTICO</i>	<i>SOBRE- EXPRESIÓN DE HER2</i>	<i>PRONOSTICO</i>
George-Niehman 1992	204	-	Sarcomas partes Blandas	NO	Ninguno
Onda-Yamamoto 1996	26	8 ^a - 75 ^a	Osteosarcoma	SI	Malo
Gorlick-Huvos 1999	53	Media: 16.9 ^a	Osteosarcoma	SI	Malo
Maitra-Wenzer 2001	21	Niños	Osteosarcoma	NO	Ninguno
Akatzuka-Wada 2002	81	Niños y adultos	Osteosarcoma	SI	Bueno
Thomas-Giordano 2002	44	6 ^a - 75 ^a 1.4 ^a - 18 ^a	Osteosarcoma S. Ewing	NO	Ninguno
Mermiski-Issakov 2002	230	1 mes - 87 ^a	Sarcomas partes blandas	NO	Ninguno
Gorlick-Huvos 2001	53	Media: 16.9 ^a	Osteosarcoma	SI	Malo
Foster-Knox 2003	273	1 ^a - 93 ^a	Sarcomas partes blandas	SI	Ninguno
Nuciforo- Pellegrini 2003	13	15 ^a - 71 ^a	Sarcoma Sinovial	SI	Bueno
Zhou-Lor 2003	25	5 ^a - 19 ^a	Osteosarcoma	SI	Malo
Ferrari-Bacci 2004	19	6 ^a - 34 ^a	Osteosarcoma	SI	Malo
Thomas-Giordano 2005	30	7 ^a - 70 ^a	Sarcoma Sinovial	SI	Ninguno
Akatzuka-Wada 2001	26	Niños	Osteosarcoma	NO	Ninguno

MÉTODOS DE LA REVISIÓN

Identificación de los estudios.-

Los investigadores seleccionaron los estudios potencialmente relevantes de las listas de títulos y resúmenes generados a partir de la búsqueda en las bases de datos. Todos los estudios potencialmente relevantes se recuperaron en forma completa y luego fueron revisados de manera independiente por los autores. Se incluyeron 14 artículos: 8 artículos sobre osteosarcoma, 5 artículos de sarcoma de partes blandas y un artículo de sarcoma de Ewing.



Calidad Metodológica.-

La evaluación de los artículos analizados se llevo a cabo mediante la escala de Jovell, donde encontramos que nuestros artículos son de un nivel VI de la escala de Jovell (Tabla 3).

TABLA 3

CLASIFICACIÓN DE LA EVIDENCIA CIENTÍFICA (MODIFICADO POR JOVELL*)

<i>NIVEL</i>	<i>TIPO DE DISEÑO</i>	<i>CONDICIONES DE RIGUROSIDAD CIENTÍFICA</i>
I	Meta-análisis de ensayos controlados y aleatorizados.	No heterogeneidad. Diferentes Técnicas de análisis. Metarregresión. Mekaanálisis. No heterogeneidad. Calidad de los estudios.
II	Ensayo controlado y aleatorizado de muestra grande.	Evaluación del poder estadístico. Multicéntrico. Calidad del estudio.
III	Ensayo controlado y aleatorizado de muestra pequeña.	Evaluación del poder estadístico. Calidad del estudio.
IV	Ensayo prospectivo controlado no aleatorizado	Controles coincidentes en el tiempo. Multicéntrico. Calidad del estudio
V	Ensayo prospectivo controlado no aleatorizado.	Controles históricos. Calidad del estudio.
VI	Estudios de cohorte.	Multicéntrico. Apareamiento. Calidad del estudio.
VII	Estudios de casos y controles.	Multicéntrico. Calidad del estudio.
VIII	Series clínicas no controladas. Estudios descriptivos: vigilancia epidemiológica, encuestas, registros, bases de datos, Comités de expertos.	Multicéntrico.
IX	Anécdotas o casos clínicos.	

Extracción de Datos.-

Se obtuvieron todos los datos mediante un formulario estructurado que recogió la siguiente información:

Nombre de los autores, solo se pusieron los 2 principales autores de cada artículo analizado y el resto de los autores se pusieron como colaboradores.

Fecha de publicación, los artículos se analizaron y fueron ordenados de acuerdo a su año de publicación en orden ascendente, los años de publicación fueron desde 1992 al 2005.

Fecha de realización, se analizaron los artículos y se determinó la fecha de realización de acuerdo a cada artículo en los años en que se realizó la investigación de cada artículo.

País donde se realizó, solo encontramos artículos que se realizaron en países desarrolladas como EUA, Japón e Italia y solo se halló un solo artículo de Israel.

Diseño del estudio: al analizar los artículos observamos que solo son cohortes únicas, ya que no hay ningún artículo sobre ensayos clínicos.

Dentro de las **características de la población,** analizamos que todos los artículos muestran que fueron pacientes hospitalizados, de ambos sexos, niños y adultos y que eran muestras obtenidas de biopsias.

Diagnóstico: se analizaron los artículos encontrando los siguientes diagnósticos que nos interesaban (osteosarcoma, sarcoma de Ewing, sarcoma de partes blandas); además de si era un paciente con enfermedad metastásica o enfermedad localizada al momento del diagnóstico, y si las muestras de las biopsias se realizaron al tiempo del diagnóstico o provenían de las metástasis, o si eran del momento de la recurrencia.

Tipos de estudio que se utilizaron para determinar la sobre-expresión de HER2 y/o amplificación del gen c-erbB-2 (IHK con el tipo de método y con el tipo de anticuerpo que utilizaron, biología molecular con FISH, CISH, RT-PCR).

Tratamiento: se analizaron para determinar si los pacientes habían recibido tratamiento previo o posterior a la determinación de HER2 y el tipo de tratamiento administrado.

Pronóstico: se determinó cuáles de los artículos señalaron si el pronóstico era positivo o negativo o si no lo determinaron.

Resultados: analizamos cada artículo para ver si los autores habían determinado la presencia o ausencia de sobre expresión de HER2/neu, y si dicha expresión tenía o no implicación pronóstica.

Las variables fueron definidas por los asesores, de acuerdo al tipo de artículos revisados, y de acuerdo a lo que se tenía como objetivo de nuestro estudio.

Se recogió la información sobre la implicación pronóstica relacionada con la sobre expresión de HER2/neu.

RESULTADOS.-

Se realizó la búsqueda de literatura sobre HER2/erbB2 y osteosarcoma pediátrico y se adoptó la estrategia general de búsqueda informática en las bases de datos de LILACS, PUBMED, ARTEMISA, IMBIOMED, COCHRANE, EMBASE en los años de 1990 al 2005. Se realiza la búsqueda desde 1990 debido a que anteriormente no se conocía sobre la proteína HER2/erbB2 en osteosarcoma. La búsqueda bibliográfica en las bases de datos de la literatura biomédica antes mencionada proporcionó un total 456 referencias bibliográficas. Después de la exclusión de los estudios que no cumplían los criterios de selección y la eliminación de los duplicados, se seleccionaron 36 artículos. La lectura a texto completo y la evaluación de todos los artículos seleccionados por los autores concluyó con la inclusión concienzuda de 18 estudios.

Se identificaron 18 estudios potencialmente relevantes. Se excluyeron 4 por que eran artículos que no eran cohortes; 2 de ellos eran sobre la literatura sobre HER2/neu y EGFR y los otros 2 eran sobre animales. Las estrategias de la búsqueda se describen en la tabla 1.

El rango de diferencia entre la fecha de publicación y la fecha de realización fue de 1 a 7 años. El promedio es 3.5 años. Se realizaron 9 estudios sobre cohorte que eran relevantes realizadas en EU, Japón e Italia, y estas fueron publicadas en inglés. Los 9 estudios evaluaron la sobreexpresión de HER2/neu y su implicación pronostica, la edad media vario desde 11.6 años hasta 21.7 años. El tamaño de la muestra vario entre los estudios con 26,21,47,77,81,33,22,25,19 pacientes respectivamente, de los cuales cada uno utilizo diferentes técnicas de estudio en las pruebas de IHQ.

De los 14 estudios revisados, 5 artículos son referentes a sarcomas de partes blandas, tanto en pacientes pediátricos como en adultos, de estos 5 artículos solo 3 muestran la sobre expresión de HER2/ErbB2, mostrando 10.6%, 31% y 52.6% respectivamente^{32, 33, 36}. Solo se identifico la sobre expresión de HER2/ErbB2 en cierto tipos de sarcomas como carcinosarcoma, fibrohistiocitoma maligno, en el dermatofibrosarcoma y en el sarcoma sinovial y en este último solo si tenia el gen de fusión SYT/SSX1. En 2 de los 3 artículos^{32,36} mostraron que la sobre expresión de HER2/ErbB2 tenia un impacto negativo en dichos pacientes, sin embargo en el otro menciona que los pacientes con sobre expresión de HER2 tienen un bajo riesgo de recurrencia que aquellos que no lo expresaron ($p = 0.02$)³³. Y en ninguno de los que sobre expresó HER2 desarrollo metástasis³³. En uno de los artículos se menciona que la sobre expresión solo se encontró en pacientes masculinos ($p = 0.03$)³³.

Siendo 8 los artículos referentes a osteosarcoma, todos los artículos fueron realizados tanto en pacientes pediátricos como en adultos, de estos 6 presentan sobre-expresión de HER2/ErbB2 mostrando 45.3%, 63%, 42%, 45%, 44%, 53%, respectivamente^{15, 17, 18, 37, 34, 35}. Uno de los artículos se basó en las curvas de supervivencia de Kaplan Meier, encontrando que el grado de supervivencia de los pacientes con sobre-expresión de HER2/ErbB2 fue significativamente peor que para aquellos pacientes sin expresión de HER2/ErbB2 ($p < 0.01$). Sin embargo los 6 artículos coinciden en cuanto a que los pacientes con sobre-expresión de HER2 tienen una SLE menor que aquellos pacientes sin sobre-expresión de HER2 (40% vs. 78% a 5 años) ($p = 0.01$) y además también la sobre-expresión de HER2/ErbB2 en la biopsia inicial se asocio con una pobre supervivencia global libre de metástasis ($p = 0.04$) aun en pacientes con enfermedad localizada ($p = 0.04$). Los pacientes con sobre-expresión de HER2 tuvieron más número de metástasis pulmonares y un intervalo corto de recurrencia. La sobre-expresión de HER2 también se relacionó significativamente con el grado de necrosis (respuesta

histológica) a la quimioterapia preoperatoria ($P = 0.02$). Pacientes con sobre-expresión de HER2 tenían peor respuesta a la quimioterapia preoperatoria en comparación con los que no (83.3% vs. 51.7%) ($P = 0.02$). Además se encontró en un 58% la sobre-expresión de HER2 en las metástasis pulmonares. La edad de los pacientes también se relaciono con la expresión de HER2 ($P = <0.05$), la relación entre las metástasis pulmonares y la expresión de HER2/ErbB2 fue significativa ($P = < 0.05$), así como la pobre respuesta a la quimioterapia preoperatoria fue relacionada con la expresión HER2/ErbB2 ($P = <0.01$).

Contrariamente a los 6 artículos anteriores, se encontró un artículo en donde la sobre-expresión de HER2/ErbB2 se encontró en el 63% de los casos.¹⁷ La sobre-expresión de HER2/neu fue mas frecuente en las pacientes mujeres que en hombres ($p = 0.035$). No hubo relación entre el nivel de expresión de ErbB2 encontrado en el 68% de los buenos respondedores y en el 58% de los pobres respondedores ($p = 0.34$). Los niveles elevados de ErbB2 fueron significativamente asociados con una alta probabilidad de que los pacientes no presenten recaída después del diagnóstico ($p = 0.01$). Los pacientes con sobre-expresión de HER2/neu tuvieron una SLE a 5 años del 72% y del 46% los que no sobre-expresaron HER2. Por lo tanto la sobre-expresión de HER2/neu fue significativamente asociado con una alta supervivencia global ($p = 0.028$).

De los 9 artículos revisados hubo 2 artículos en los cuales en ninguna de las muestras revisadas se encontró la sobre-expresión de HER2/neu por ninguno de los métodos tanto con inmunohistoquímica, ni con FISH.

George-Niehan y cols hicieron un estudio que se realizó en el Departamento de Patología de la Escuela de Medicina de la Universidad de Minnessota en los Estados Unidos de Norteamérica y fue publicado en 1992, es un estudio de cohorte única, de 204 pacientes, se obtuvieron 204 biopsias con los siguientes diagnósticos: angiosarcoma, condrosarcoma, sarcoma epitelioides, leiomiomas, liposarcoma, fibrohistiocitoma maligno, sarcoma de Ewing, neurofibrosarcoma, sarcoma sinovial, hepatoblastoma, linfoma maligno, neuroblastoma, tumor de Wilm's, y rhabdomyosarcoma. Los anticuerpos usados fueron anticuerpos monoclonales mAb1. El estudio fue realizado para determinar la frecuencia de sobre-expresión de HER2 en los sarcomas de partes blandas, sarcomas osteogénicos y en tumores de células pequeñas redondas y azules en niños y los resultados fueron negativos ninguno mostró inmunoreactividad, por lo que se concluyo que la sobre-expresión es rara y no parece tener implicación pronostica.

Onda-Yamamoto y cols realizaron un estudio que fue hecho de 1992 a 1995 en los Departamentos de Oncología, Patología y Cirugía Ortopédica del Instituto de Medicina Científica de la Universidad de Tokio, en Japón y publicado en 1996, fue un estudio de cohortes única retrospectiva, los pacientes se encontraban hospitalizados, se obtuvieron las biopsias del diagnóstico, las edades fueron desde 8 años hasta 75 años con una edad media de 19.9 años, ambos sexos, una relación hombre: mujer 16:10, con un total de 26 pacientes, con el diagnóstico de Osteosarcoma y sus variedades (condroblástico, fibroblástico, osteoblástico, mixto y telangiectásico), con enfermedad localizada: 7 pacientes, con enfermedad metastásica: 19, las pruebas diagnósticas que se utilizaron para buscar la sobre-expresión de HER2 fueron con inmunohistoquímica empleando anticuerpos monoclonales de ratón antiErbB2 CB11, PCR y biología molecular. El tratamiento que recibieron los pacientes fue a base de quimioterapia. Los resultados mostraron que la sobre-expresión de HER2 estaba asociada a peor pronostico que aquellos que no la sobre-expresaron. Encontraron la sobre-expresión de HER2 en un 42% de los casos, no encontraron la amplificación del gen c-erbB2 en esos

que fueron positivos, la sobrevida de los pacientes con sobre-expresión era significativamente peor que para aquellos que no sobre-expresaron HER2 ($P = 0.01$), así como tenían pobre respuesta a la quimioterapia preoperatoria ($P = 0.01$), y tenían más metástasis pulmonares ($P = 0.05$). Por lo que concluir que la sobre-expresión de HER2 tenía implicación pronóstica asociada a peor pronóstico, con una supervivencia baja, y un alto riesgo de desarrollar metástasis pulmonares dentro de los primeros 6 meses después del diagnóstico. Estos datos sugieren que el ErbB2 juega un papel importante en la agresividad del crecimiento del tumor, así como en la producción de metástasis pulmonares.

Gorlick-Huvos y cols realizaron un estudio que fue hecho de 1986 a 1993 en el Memorial Sloan-Kettering Cancer Center, en Nueva York, NY y fue publicado en 1999 en los Estados Unidos de Norteamérica, este es un estudio de cohorte única, que incluían a pacientes hospitalizados de diagnóstico reciente de osteosarcoma, ambos sexos, con una relación H:M 33:20, con una media de edad de 16.9 años, se obtuvieron las biopsias del diagnóstico inicial, de la recurrencia o de la cirugía definitiva, así como de las metástasis. Fue un total de 53 pacientes, con enfermedad localizada fueron 47 y con enfermedad metastasica fueron 7. Las pruebas que se utilizaron para ver la sobre-expresión fueron las siguientes: inmunohistoquímica con el uso de el anticuerpo monoclonal 5B5 y la prueba de DAKO (kit de Herceptest) que fue utilizada para confirmación. El tratamiento fue con quimioterapia y cirugía, ellos observaron que los pacientes con sobre-expresión tenían mal pronóstico. La sobre-expresión de la proteína HER2 se observo en un 45.3% de los casos, en las biopsias iniciales se observo en un 42.6%, el 50% de los pacientes con metástasis pulmonares tenían la sobre-expresión de HER2 y el 76.9% de las muestras de la recurrencia demostraron la sobre-expresión de HER2. La expresión de HER2 se relacionó significativamente con una pobre respuesta histológica a la quimioterapia preoperatoria ($P = 0.02$). Niveles elevados de HER2 se asociaron con una SLE muy pobre (78% vs. 40% a 5 años, $P = 0.01$). Por lo que concluyeron que la sobre-expresión de HER2 se relacionaba con una pobre respuesta a la quimioterapia preoperatoria así como la disminución de la SLE. La sobre-expresión de HER2 puede tener un papel directo en la patogénesis. Por lo que ellos sugieren como medidas preventivas el uso de quimioterapia mas intensa así como el uso de el anticuerpo monoclonal anti HER2.

Maitra-Wenzer y cols realizaron un estudio el cual fue hecho desde 1993 al 2000 en el Children's Medical Center en Dallas, Texas y publicado en el año 2001 en los Estados Unidos de Norteamérica, es un estudio retrospectivo de cohorte única y donde obtuvieron muestras de 21 pacientes con diagnóstico de osteosarcoma obtenidos del archivo de patología, las pruebas que emplearon para ver la sobre-expresión de HER2 fueron las siguientes: inmunohistoquímica con la prueba de DAKO (kit de herceptest) usando el anticuerpo policlonal de conejo A0485 y FISH con DNA de HER2. No documentaron la sobre-expresión en ninguno de las muestras obtenidas ni tampoco obtuvieron la amplificación del gen c-erbB2. Los resultados demostraron discrepancia con respecto a los estudios de Gorlick y Onda en donde si se observó la sobre-expresión de Her2 y en este estudio no se observa la expresión pero existen varias posibilidades como que en los 3 estudios se emplearon distintos anticuerpos para la determinación de HER2 y posiblemente con especificidad y sensibilidad variable, otro sería el criterio de interpretación.

Akatzuka y cols realizaron un estudio que se realizó desde 1984 a 1995 en el Hospital Nacional de Sapporo en Sapporo Japón, siendo publicado en 2002, este fue un estudio de cohortes en pacientes hospitalizados de ambos sexos con una relación H:M de 53:28, en niños y adultos con un total de 81 casos con el diagnóstico de osteosarcoma y sus variedades (osteoblástico, condroblástico,

fibroblástico, telangiectásico y mixto), se obtuvieron todas las muestras de las biopsias del diagnóstico. La sobre-expresión de HER2 fue determinada por inmunohistoquímica con un anticuerpo monoclonal CB11, los pacientes recibieron tratamiento con quimioterapia preoperatoria y postoperatoria y cirugía con amputación y salvamento de extremidad. Ellos encontraron que la sobre-expresión de HER2 tenía buen pronóstico. De los 81 casos, 30 (37%) fueron negativos, y 51 (63%) fueron positivos, también observaron que fueron más positivos en las mujeres que en los varones ($P = 0.035$). En un 68% se sobre-expresó HER2 en los pacientes que respondieron bien a la quimioterapia y en un 58% con los pobres respondedores. La SLE a 5 años fue del 72% para los que presentaron sobre-expresión de HER2 y la SLE para los que no la sobre-expresaron fue del 46%. Los niveles elevados de ErbB2 fueron significativamente asociados con un evento libre de recaída elevado después del diagnóstico ($P = 0.011$), y con una SG elevada ($P = 0.028$). Concluyeron que la ausencia de ErbB2 persistía como factor de riesgo independiente para una pobre supervivencia. Ellos asociaron la sobre-expresión con un resultado favorable para pacientes que no presentaran enfermedad metastásica al diagnóstico y que fueran tratados con cirugía y altas dosis de quimioterapia.

Thomas-Giordano y cols hicieron un estudio retrospectivo de cohorte única, realizado en el Sistema de Salud de la Universidad de Michigan, en Ann Arbor, Michigan, que fue publicado en 2002 en los Estados Unidos de Norteamérica, utilizando muestras de parafina de biopsias de 11 pacientes con diagnóstico de sarcoma de Ewing (SE) y 33 pacientes con osteosarcoma con un total de 44 muestras, las edades para el SE fueron de 16 años a 18 años y para el osteosarcoma oscilaron de 6 años hasta 75 años, ambos sexos. La sobre-expresión de HER2 fue determinada por IHQ con la prueba de DAKO usando el anticuerpo monoclonal de conejo A0485 y RT-PCR. Ellos no encontraron sobre-expresión de HER2 en ninguna de las muestras tanto para osteosarcoma como para el SE. Ellos concluyeron que HER2 no es un factor pronóstico.

Merimski y cols realizaron un estudio de cohorte única, retrospectivo en el Tel-Aviv Sourasky Medical Center, en Tel-Aviv, Israel y fue publicado en el 2002, utilizando material histológico de 230 casos de sarcoma de partes blandas, las edades fueron desde 1 mes hasta los 87 años, los diagnósticos fueron: fibrohistiocitoma maligno, liposarcoma, sarcoma sinovial, rhabdomyosarcoma, SE, tumor maligno de la vaina del nervio periférico, angiosarcoma, sarcoma epitelioides, fibrosarcoma, sarcoma de células claras, sarcoma de partes blandas alveolar, sarcoma pleomórfico. La prueba que utilizaron fue IHQ con anticuerpo monoclonal de ratón antiHER2. Ellos no encontraron la sobre-expresión de HER2 en ninguna muestra, no tiene valor pronóstico. Concluyeron que la expresión de ErbB2 en los sarcomas osteogénicos aun sigue siendo controversial, y como pueden ellos concluir algo de lo cual no han estudiado. Este es un estudio mal realizado, ya que no cuenta con una metodología para su realización que esta hecho al ay se va, que hacen mención sobre algo que ni siquiera fue analizado en su estudio, por lo que nosotros consideramos que es un estudio al cual no le podemos una confianza para nuestra investigación. Sus resultados muestran que la sobre-expresión de HER2 muestra ser un raro evento en los sarcomas de partes blandas.

Foster y cols. Realizaron un estudio en el Meritcare Medical Center y en el Roger Maris Cancer Center, Fargo, North Dakota de 1986 al 2000 y fue publicado en el 2003 en los EUA, este es un estudio de cohorte única observacional y retrospectivo incluyeron a pacientes hospitalizados, de ambos sexos con una relación H:M de 109:164, con edades que iban desde el año de edad hasta los 93 años, con una edad media de 56 años, con un total de 273 casos de sarcomas de partes blandas que incluía a los siguientes diagnósticos: fibrohistiocitoma maligno, dermatofibrosarcoma, leiomyosarcoma, liposarcoma, rhabdomyosarcoma, fibrosarcoma, carcinosarcoma y sarcoma estromal. La prueba que

utilizaron para determinar la sobre-expresión de HER2 fue IHQ con el test de Herceptest desarrollado por DAKO. Ellos encontraron que de los 273 casos solo el 10.6% de los casos mostró la sobre-expresión de HER2, el resto de las muestras fue negativa, los tipos histológicos que demostraron la sobre-expresión de HER2 fueron los carcinosarcomas, dermatofibrosarcoma y el fibrohistiocitoma maligno. La sobre-expresión tuvo un impacto negativo en la supervivencia de los pacientes con CS, FHM y DFS. El 13.8% de los pacientes con sobre-expresión de HER2 presentaron recurrencia de la enfermedad. No encontraron una correlación entre la sobre-expresión de HER2 y el grado de recurrencia del tumor o con el estadio de la enfermedad.

Nuciforo-Pellegrini y cols. Realizaron un estudio en el Instituto de Ortopedia Geatano Pini, Milan, Italia y fue publicado en el 2003, este es un estudio de cohorte, retrospectivo con muestras de biopsias del diagnóstico y de las metástasis de 13 pacientes, de ambos sexo con una relación H:M 5:8, con edades de entre 15 a 71 años con una edad media de 44.6 años, con un total de 13 casos con diagnóstico de sarcoma sinovial, los estudios que emplearon para determinar la sobre-expresión de HER2 y la amplificación del gen c-erbB2 fueron los siguientes: biología molecular con síntesis de DNA, reacción en cadena de la polimerasa inversa (RT-PC), reacción en cadena de polimerasa (PCR), e IHQ con el uso de anticuerpo monoclonal de conejo A0485 de DAKO. Ellos encontraron que todos los tejidos analizados mostraron niveles detectables de HER2 mRNA, el 69% mostró expresión baja y el 31% presento sobre-expresión de HER2 ($P = 0.0004$). El 23% de los casos mostró sobre-expresión de HER2/*neu*. Ninguna paciente femenina mostró sobre-expresión de HER2 ($P = 0.03$). Los pacientes con sobre-expresión de HER2 mRNA tuvieron un bajo riesgo de recurrencia, y de metástasis, por lo que esto sugiere que HER2 juega un papel en la biología de los sarcomas sinoviales y que la sobre-expresión esta asociada a un comportamiento menos agresivo.

Gorlick-Huvos y cols realizaron un estudio en el Memorial Sloan-Kettering Cancer Center, en Nueva York, NY en los años de 1989 a 1998 y fue publicado en el 2001, es un estudio de cohorte única, retrospectiva donde eran pacientes hospitalizados con el diagnóstico reciente de osteosarcoma con una edad media de 16.9 años de edad de ambos sexos, con una relación H:M de 32:21, se revisaron 47 biopsias del diagnóstico. Fueron 47 casos con enfermedad localizada y 6 casos con enfermedad metastasica para un total de 53 casos. La prueba que se utilizo para la determinación de la expresión de HER2 fue la IHQ con el anticuerpo monoclonal 3B5 y los resultados se confirmaron con el kit de Herceptest de DAKO. El tratamiento que recibieron fue quimioterapia y cirugía, ellos encontraron presente la sobre-expresión de HER2 en un 45% de todas las muestras, en las metástasis pulmonares al diagnóstico se encontró en un 50% y en las metástasis pulmonares al momento de la recurrencia se encontró en un 77%, en los que respondieron bien a la quimioterapia se encontró en un 22% y en los que respondieron mal a la quimioterapia se encontró en un 57%. La sobre-expresión de HER2/*erbB-2* se relacionó significativamente con la necrosis del tumor después de la quimioterapia preoperatoria. Pacientes con sobre-expresión tenían una respuesta a la quimioterapia preoperatoria mas pobre comparados con los que no presentaron la sobre-expresión de HER2 (83.3% versus 51.7%, $p 0.02$). La supervivencia libre de evento fue significativamente menor e los pacientes con sobre-expresión de HER2/*erbB-2* (78% versus 40% a 5 años, $p 0.01$).

Zhou-Lor y cols realizaron un estudio en los departamentos de Patología, Pediatría y Ortopedia de la Universidad de Utah, en Salt Lake City, Utah de 1981 a 1996 y fue publicado en el 2003, este es un estudio de cohorte, con pacientes hospitalizados, de ambos sexos con una relación H:M de 14:11, con edades entre los 5 y los 19 años con una edad media de 14^a, con un total de 25 casos con 25 muestras de tumor del diagnóstico y 12 muestras de las metástasis pulmonares siendo un total de 37

muestras con el diagnóstico de osteosarcoma. Las pruebas que se emplearon para determinar la sobre-expresión de HER2 fueron las siguientes: IHQ con un stainer automático de ventana con un anticuerpo monoclonal *c-neu* (Ab-3), y FISH. El tratamiento que recibieron los pacientes fue quimioterapia y cirugía con amputación y salvamento de extremidad. Encontraron que en 44% de los casos en el tumor primario se identificó la expresión de HER2 y en un 58% de las metástasis pulmonares. De los 19 pacientes con enfermedad localizada al diagnóstico 7 tuvieron la expresión de HER2, 5 de esos 7 casos desarrollaron recurrencia de la enfermedad. De los 19 casos con enfermedad localizada 9 se encuentran vivos sin enfermedad y 10 desarrollaron metástasis pulmonares. De los 6 casos con enfermedad metastásica al diagnóstico 4 mostraron expresión de HER2. 64% de los pacientes que presentaron metástasis pulmonares o que las desarrollaron después mostraron reactividad de HER2/*neu* en las biopsias iniciales. La expresión de HER2 en la biopsia inicial se asoció con una peor supervivencia libre de metástasis aun en pacientes con enfermedad localizada ($P = 0.04$). La presencia de metástasis pulmonares se relacionó con una pobre respuesta histológica a la quimioterapia preoperatoria ($P = 0.01$). Encontraron que la sobre-expresión se asociaba a mal pronóstico, y propusieron que se realizara un estudio prospectivo más grande, con métodos estandarizados lo cual sería esencial para determinar si la expresión y/o la amplificación pueden predecir riesgo y permitir una terapia basada en el riesgo.

Ferrari-Bacci y cols realizaron un estudio en el Instituto de Ortopedia Rizzoli, Bologna, Italia de 1995 a 1999 y publicado en el 2004, es un estudio de cohorte única, realizado con pacientes hospitalizados con revisión de 19 biopsias del diagnóstico y 55 biopsias de las metástasis pulmonares, con edades entre 6 y 34 años de edad con una edad media de 15 años de edad, de ambos sexos con una relación H:M 14:5, para un total de 19 casos con el diagnóstico de osteosarcoma osteoblástico, condroblástico, fibroblástico. La sobre-expresión de HER2 se determinó con IHQ con anticuerpo de conejo *c-erbB-2* anti-humano (DAKO) Los pacientes fueron tratados con quimioterapia. Los resultados mostraron que el 42% de los casos fue positivo para ErbB2 y un 27% fue positivo en los nódulos metastásicos. El análisis de la IHQ del tumor primario en relación con el número de las metástasis pulmonares y con el intervalo libre de recurrencia indicaron que los pacientes con sobre-expresión de ErbB2 presentan con mayor frecuencia múltiples metástasis y un corto intervalo libre de recurrencia comparados con aquellos que son negativos para ErbB2, por lo que ellos concluyeron que la expresión de HER2 juega un papel importante en el proceso de metástasis en osteosarcoma, lo que refleja un incremento biológico de agresividad del tumor.

Thomas-Giordano y cols realizaron un estudio en el Sistema de Salud de la Universidad de Michigan, en Ann Arbor, Michigan, y fue publicado en el 2005, es un estudio de cohortes, y fue realizado con 38 bloques de tejido en parafina de 30 pacientes, con edades entre 7 y 70^a, ambos sexos, con diagnóstico de sarcoma sinovial, las pruebas que se utilizaron para determinar la sobre-expresión de HER2 son las siguientes: IHQ con un anticuerpo policlonal de conejo de DAKO o con un anticuerpo monoclonal de ratón de DAKO, y Hibridación In situ Cromogénica (CISH). Encontrando en 55% se detectó el EGFR y en 52.6% se expresó HER2 y este solo se expresó para los pacientes que tenían el gen de fusión SYT.

Akatzuka y cols realizaron un estudio en el Hospital Nacional de Sapporo en Sapporo Japón, de 1984 a 1993 y fue publicado en el 2001. Es un estudio de cohorte única retrospectiva. Se obtuvieron las muestras de las biopsias de las metástasis pulmonares de pacientes niños y adultos de ambos sexos con un total de 75 casos con diagnóstico de osteosarcoma. El estudio que se utilizó para determinar la sobre-expresión de HER2 fue IHQ con el anticuerpo monoclonal CB11. El tratamiento fue con cirugía y quimioterapia. Ellos encontraron que ninguna muestra presentó sobre-expresión de HER2.

De los 14 artículos revisados, encontramos a los siguientes autores: George-Niehman, Onda-Yamamoto, Gorlick-Huvos, Maitra-Wenzer, Akatzuka-Wada, Thomas-Giordano, Merimski-Issakov, Foster-Knox, Nuciforo-Pellegrini, Zhou-Lor, Ferrari-Bacci. De todos estos autores, encontramos que 3 de los autores (Gorlick-Huvos, Akatzuka-Wada, Thomas-Giordano) han realizado 2 artículos sobre la sobre-expresión de HER2 en osteosarcoma y en sarcomas de partes blandas en niños.

Del año de publicación encontramos artículos desde 1992 hasta el 2005, antes de 1992 no se encontró ningún artículo, a pesar de que desde 1984 se conoce acerca de HER2 y su sobre-expresión, pero los artículos que se encontraron y de lo que mas se conoce es sobre cáncer de mama y sobre-expresión de HER2 y esos artículos fueron tomados únicamente como antecedentes. Encontramos más información a partir del año 2000 a la fecha, ya que de los 14 artículos, encontramos 10 artículos a partir del 2001 al 2005 y solo 4 artículos desde 1992 a 1999.

De los 14 artículos revisados encontramos que los países en donde se realizaron los estudios son Estados Unidos de Norteamérica (EUA), Japón, Italia e Israel, siendo los 3 primeros, países desarrollados y solo un país en vías de desarrollo. Se encontraron 8 artículos que fueron realizados en EUA, 3 artículos se realizaron en Japón, 2 artículos se realizaron en Italia y solo 1 artículo fue realizado en Israel.

Todos los artículos revisados y analizados son cohortes únicas, retrospectivas, debido a que no se encontró ningún artículo de ensayos clínicos.

En los 14 artículos revisados, las características de la población se obtuvieron del archivo clínico donde se encontró que los pacientes se encontraban hospitalizados, con edades que oscilaban desde el año de edad hasta los 93 años, solo en 2 artículos mencionan la edad media de 16.9 años y no las edades, y en otros 2 artículos solo se mencionan pacientes menores de 18 años es decir solo esos 4 artículos fueron de pacientes pediátricos únicamente, el resto de los artículos (10 artículos) eran de niños y adultos, de ambos sexos y las muestras fueron recolectadas del archivo de patología, y que las muestras eran biopsias que se encontraban en parafina.

El rango del tamaño de la muestra va desde 13 a 273 casos en los 14 artículos revisados, se encontró que 6 artículos son tamaños de muestra grande y 8 artículos son tamaño de muestra pequeña. El rango del tamaño de la muestra en los 8 artículos de osteosarcoma va desde 19 a 81 casos, encontrándose que 4 artículos son tamaño de la muestra grande y 4 son tamaño de muestra pequeña. De los 5 artículos de sarcomas de partes blandas el rango del tamaño va desde 13 a 273 casos, siendo 4 muestras de tamaño grande y solo una de tamaño pequeño. En cuanto al Sarcoma de Ewing el tamaño de la muestra es pequeña.

De los 14 artículos revisados se encontró como diagnóstico principal el de osteosarcoma ya que se encontró en 8 artículos, de esos solo en 3 artículos se mencionan los subtipos del osteosarcoma, siendo el osteoblástico el más frecuentemente observado, le sigue en frecuencia la variedad condroblástico, después el fibroblástico y por último el telangiectásico, y es en solo 2 artículos que mencionan en cual de los subtipos mostró mayor sobre-expresión de HER2, en uno de ellos se menciona que el osteoblástico se encontró la sobre-expresión hasta en 36.7%, 16% se sobre-expreso en el fibroblástico, el 8.6% en el condroblástico y en el telangiectásico solo se sobre-expreso en 1.2% de los casos. En el otro estudio, nuevamente el subtipo mas frecuentemente encontrado fue el

osteoblástico, le sigue el condroblástico, luego el mixto, y finalmente el fibroblástico, en el osteoblástico se encontró la sobre-expresión en un 24% de los casos, en el condroblástico se encontró la sobre-expresión en un 16%, en el mixto se encontró en un 4% y en el fibroblástico no se expresó. El resto de los artículos solo mencionan como diagnóstico osteosarcoma y no mencionan los subtipos ni hacen mención sobre los subtipos y su relación con la sobre-expresión de HER2. Dentro de los 5 artículos de sarcomas de partes blandas destacan los siguientes variedades diagnósticas: sarcoma sinovial, fibrohistiocitoma maligno, liposarcoma, dermatofibrosarcoma, leiomiomasarcoma, fibrosarcoma, sarcoma de partes blandas alveolar, sarcoma de células claras, tumor maligno de la vaina del nervio periférico. De los 5 artículos referentes a sarcomas de partes blandas en 2 no hubo expresión de HER2/erbB2, sin embargo en los otros 3 si hubo sobre-expresión de HER2 y se encontró en los siguientes tipos histológicos de sarcomas de partes blandas que son sarcoma sinovial, fibrohistiocitoma maligno, carcinosarcoma, y dermatofibrosarcoma. En el resto de los tipos histológicos no se expresó HER2.

De los 14 artículos revisados analizamos las pruebas que se utilizaron para determinar la sobre-expresión de HER2, y encontramos IHQ, RT-PCR, FISH, PCR y con hibridación in situ cromogénica (CISH). Sin embargo en cuanto a la IHQ encontramos que los autores emplearon una diversidad de anticuerpos monoclonales dentro de los cuales destacan los siguientes: Anticuerpo policlonal de conejo A0485 (DAKO) (kit de herceptest), anticuerpo monoclonal mAb-1, anticuerpo monoclonal de ratón anti-ErbB2 CB11 (Novocastra laboratorios Ltd), anticuerpo monoclonal 5B5 Herceptest (Becton Dickinson, Franklin Lake, NJ), anticuerpo monoclonal *c-neu* (Ab-3) (Oncogene, Boston, MA, U.S.A), anticuerpo de conejo oncoproteína anti-humana c-ErbB-2 (DAKO, Glostrup, Dinamarca). De los 14 artículos solo 10 artículos mencionan el tipo de anticuerpo utilizado, el resto solo menciona que utilizaron la prueba de Herceptest de DAKO, o un anticuerpo de ratón. De los anticuerpos empleados y antes mencionados en 3 artículos mencionan que utilizaron el anticuerpo monoclonal CB11, en otros 4 artículos utilizaron el anticuerpo policlonal de conejo A04585 de DAKO, 1 utilizó el anticuerpo monoclonal 5B5, pero utilizó como prueba confirmatoria el Herceptest de DAKO, otro artículo utilizó el anticuerpo monoclonal *c-neu* (Ab-3), y por último otro menciona que utilizó mAb-1. El anticuerpo más utilizado fue el anticuerpo policlonal de conejo A0485 (herceptest, DAKO) ya que en 7 artículos lo mencionan de los cuales 4 artículos son referentes a osteosarcoma y 3 artículos referentes a sarcoma de partes blandas, otro de los anticuerpos también utilizado con frecuencia fue el anticuerpo monoclonal CB11, ya que se menciona en 3 artículos y todos referentes a osteosarcoma, el resto fueron empleados con osteosarcoma y sarcoma de partes blandas. Los cuales se describirán en la tabla 4 Y 5.

TABLA 4 ANTICUERPOS UTILIZADOS

<i>ANTICUERPO</i>	<i>NO. DE ARTICULOS</i>	<i>DIAGNOSTICO</i>
Ac. Policlonal A0485	7	3 Osteosarcoma 1 S. Ewing 3 Sarcoma Partes Blandas
Ac. Monoclonal CB11	3	Osteosarcoma
Ac. Monoclonal 5B5	1	Osteosarcoma
Ac. Monoclonal Ab-3	1	Osteosarcoma
Ac. Monoclonal mAb-1	1	Sarcoma de Partes Blandas
Ac. Monoclonal de ratón	1	Sarcoma de Partes Blandas
Total	14	

TABLA 5

ANTICUERPO	DIAGNOSTICO	SOBRE- EXPRESIÓN HER2	NUMERO DE PACIENTES	PRONOSTICO	AUTOR
Ac. <i>Policlonal</i> A0485	Osteosarcoma	Si	19	Malo	Ferrari y cols
Ac. <i>Policlonal</i> A0485	Osteosarcoma	Si	53	Malo	Gorlick y cols
Ac. <i>Policlonal</i> A0485	Osteosarcoma	No	21	Ninguno	Maitra y cols
Ac. <i>Policlonal</i> A0485	Osteosarcoma y S. Ewing	No	44	Ninguno	Thomas y cols
Ac. <i>Policlonal</i> A0485	Sarcoma Partes Blandas	Si	273	Ninguno	Foster y cols
Ac. <i>Policlonal</i> A0485	Sarcoma Partes Blandas	Si	13	Bueno	Nuciforo y cols
Ac. <i>Policlonal</i> A0485	Sarcoma Partes Blandas	Si	30	ninguno	Thomas y cols
Ac. <i>Monoclonal</i> CB11	Osteosarcoma	No	75	ninguno	Akatzua y cols
Ac. <i>Monoclonal</i> CB11	Osteosarcoma	Si	26	Malo	Onda y cols
Ac. <i>Monoclonal</i> CB11	Osteosarcoma	Si	81	Bueno	Akatzuka y cols
Ac. <i>Monoclonal</i> 5B5	Osteosarcoma	Si	53	Malo	Gorlick y cols
Ac. <i>Monoclonal</i> Ab-3	Osteosarcoma	Si	25	Malo	Zhou y cols
Ac. <i>Monoclonal</i> mAb-1	Sarcoma Partes Blandas	No	230	Ninguno	George y cols
Ac. <i>Monoclonal de ratón</i>	Sarcoma Partes Blandas	No	230	Ninguno	Merimsky y cols

De los 14 artículos analizados encontramos que solo 10 de ellos mencionan el tratamiento que recibieron los pacientes, y 4 de ellos no lo mencionan. De los tratamientos que recibieron los pacientes con el diagnóstico de osteosarcoma fue quimioterapia preoperatorio, cirugía y quimioterapia de adyuvancia de acuerdo a protocolos internacionalmente recomendados. En cuanto a los sarcomas de partes blandas solo en un artículo sobre sarcoma sinovial mencionan el tratamiento a base de quimioterapia y/o radioterapia y cirugía. Se recomienda el uso del trastuzumab (anticuerpo monoclonal antiHer2) como terapia alternativa si es que la sobre-expresión de HER2 es factor de mal pronóstico, para mejorar la SLE en esos pacientes pero en ningún artículo analizado se utilizó.

En cuanto al pronóstico nosotros analizamos los 14 artículos y encontramos que 7 artículos no mencionan el pronóstico de acuerdo a la presencia o ausencia de la expresión de HER2/ErbB2, sino que solo mencionan la presencia o la ausencia de la sobre-expresión de HER2 de esos, 2 fueron sobre osteosarcoma y 5 sobre sarcomas de partes blandas. En cuanto si la sobre-expresión de HER2 condicionó mal pronóstico encontramos solo 5 artículos y todos fueron referentes a osteosarcoma, en cuanto a que la sobre-expresión de HER2 dio buen pronóstico solo encontramos 2 artículos uno de osteosarcoma y otro de sarcoma sinovial (Sarcoma de partes blandas). Ver diagrama que se muestra a continuación.



CONCLUSIONES DE LOS AUTORES DE LOS ARTICULOS ANALIZADOS

Los primeros estudios donde se demostró la expresión de HER2 en osteosarcoma asociada a la presencia de metástasis pulmonares y disminución en la SLE y SG fueron los estudios de Onda en 1996 y Gorlick en 1999.

Primeramente Onda y cols concluyeron que la expresión de ErbB2 esta relacionada con un pobre pronostico, con supervivencias bajas; pacientes con la expresión de ErbB2 tienen un alto riesgo de desarrollar metástasis pulmonares dentro de los primeros 6 meses después del diagnóstico. La expresión de ErbB2 esta relacionada con pobre respuesta a la quimioterapia. Estos datos sugieren que el ErbB2 juega un papel en la agresividad en el crecimiento del tumor así como en la producción potencial de metástasis en osteosarcoma.

Posteriormente Gorlick y cols en su primer estudio afirman lo que Onda había concluido anteriormente que la expresión de HER2 esta significativamente relacionada con una pobre respuesta histológica a la quimioterapia preoperatoria y que la SLE disminuyo. En este estudio se demostró que la sobre-expresión de HER2 esta asociado con un pobre resultado aun en pacientes con enfermedad localizada. La sobre-expresión de HER2 puede tener un papel directo en la patogénesis y un pobre curso clínico de ciertos tumores humanos. Esto sugiere fuertemente que se debe de evaluar prospectivamente al HER2 como un factor pronostico. Por lo anterior, a los 2 años de haber realizado este estudio, Gorlick y cols realizan un nuevo estudio y ellos confirman los que anteriormente Onda y que ellos mismos habían concluido que la sobre-expresión de HER2 se relacionó con una SLE y una muy pobre respuesta histológica a la quimioterapia preoperatorio. Sugiriendo nuevamente que la sobre-expresión de HER2 juega un papel muy importante en la biología del tumor y la agresividad del crecimiento tumoral. La expresión de HER2 puede ser un marcador muy útil en la determinación de pronóstico del paciente antes de iniciar el tratamiento.

A diferencia de los estudios de Onda y Gorlick, Akatzuka y cols concluyeron que los niveles altos de ErbB2 en las células tumorales se relacionaron significativamente con una SLE y una SG elevada en los 81 pacientes con osteosarcoma que no tuvieron enfermedad metastasica al diagnóstico. No encontramos relación entre el nivel de expresión de ErbB2 y la extensión de la necrosis tumoral después de la quimioterapia preoperatorio. En este mismo estudio el análisis multivariado reveló que la ausencia de ErbB2 persistía como factor de riesgo independiente para una pobre supervivencia, esto sugiere que los niveles bajos de ErbB2 pueden ser usados para identificar tumores con una tendencia a progresar a pesar de la quimioterapia. Además Akatzuka menciona las discordancias encontradas en dos estudios previos^{15,18} donde mostraron que la sobre-expresión de ErbB2 puede estar asociada con metástasis pulmonares y con un pobre pronóstico para los pacientes con osteosarcoma, esto explica las diferencias entre los resultados de esos estudios y los resultados actuales de su estudio: Primeramente en los estudios antes mencionados (Onda y Gorlick), no excluyeron a los pacientes con enfermedad metastasica. Y como se conoce el más importante predictor de resultados al diagnóstico es la presencia o ausencia de metástasis. Además los protocolos de la quimioterapia utilizada no fueron descritos.

El riesgo de factores adversos se incrementaron 2 veces mas en aquellos pacientes que tuvieron niveles disminuidos de de ErbB2. Por lo tanto Akatzuka y cols asociaron la sobre-expresión de ErbB2 con un resultado favorable para pacientes con OSM que no tuvieron enfermedad metastasica al diagnostico y que fueran tratados con cirugía y altas dosis de QT neoadyuvante. Un hallazgo interesante fue que los pacientes que tuvieron una mayor sobre-expresión de ErbB2 fueron con mayor frecuencia mujeres, una explicación para lo anterior resulta de un estudio que demostró que el estradiol

puede unirse y activar al receptor de ErbB2. Contrariamente, este mismo investigador realizó un nuevo estudio donde demostraron que la expresión de ErbB2 disminuye en los individuos con osteosarcoma tanto ellos llegan a ser metastásicos, sugiriendo que ErbB2 no juega un papel importante en el desarrollo de las metástasis pulmonares, por lo que concluyeron que existen diversas causas por las que puede haber ausencia de la sobre-expresión entre ellas esta el empleo de una quimioterapia muy intensa. Y otra que no haya sobre-expresión de HER 2 desde el inicio de la enfermedad.

En otros estudios realizados por Maitra y Thomas concluyeron que en contraste con los estudios previos^{15,18}, los estudios demostraron la ausencia de la expresión de Her2/neu en tanto en OS como en SE y que la expresión de la proteína HER2/neu es un raro evento no solo en el osteosarcoma primario sino también en la enfermedad metastásica. Las posibles razones para la discrepancia de este estudio con los estudios de Gorlick¹⁵ y Onda¹⁸ son desconocidas pero existen varias posibilidades como que los estudios emplearon distintos anticuerpos para la determinación de HER2 y presumiblemente con sensibilidad y especificidad variable. Otra posibilidad es que todos los estudios usaron material archivado de parafina, y su descalcificación se realizó durante la noche en algunos casos, esto puede influir en los resultados. Otro es el criterio para determinar su interpretación, y la interpretación que se les dio. Así mismo ellos concluyeron que HER2/neu no es un factor pronóstico importante y sugerimos que no es un evento molecular importante en la oncogénesis del OS y del SE.

En la actualidad, Zhou y Ferrari concluyeron que el hallazgo de la expresión de HER2 tiene una alta tendencia de metástasis sugiriendo que la expresión de HER2 puede caracterizar a tipo de tumor más agresivo asociado con metástasis tempranas, los pacientes tienden a tener un intervalo de recurrencia corto y múltiples metástasis pulmonares, este patrón de recurrencia refleja el incremento biológico de agresividad del tumor. Confirmando lo que ya antes se había mencionado por Onda y Gorlick.

Por lo tanto la presencia de HER2 puede servir como marcador pronóstico para un alto riesgo de metástasis pulmonares y un pobre pronóstico en pacientes con osteosarcoma localizado al diagnóstico. La expresión de HER2/ErbB2 juega un papel importante en el proceso de metástasis en osteosarcoma. También se encontró que el OSM puede mostrar la amplificación del gen como posible mecanismo de la sobre-expresión de HER2/neu. La importancia de la expresión de HER2 en OSM aun es controversial, debido a que en ciertos estudios no se demostró la presencia de la expresión de HER2 y en otros estudios si se encontró esta expresión.

En otros estudios, sobre sarcomas de partes blandas se encontraron conclusiones similares a las conclusiones de osteosarcoma.

Merimski y George y cols concluyeron que la expresión de ErbB2 en sarcomas osteogénicos aun sigue siendo controversial, y no solo para los sarcomas osteogénicos sino también para los sarcomas de partes blandas, ya que sus resultados indican que la sobre expresión de HER2/neu muestra ser un raro evento en los sarcomas de partes blandas, o se encuentra ausente en los sarcomas y tumores de células pequeñas redondas y azules en niños, y su detección no parece tener implicación pronóstica.

Sin embargo, Foster y cols concluyeron que en este estudio solo se sobre-expresó HER2 en un 10.6% de los casos, y que los tipos histológicos que mostraron una alta incidencia de la sobre-expresión de HER2/neu son carcinosarcoma, fibrohistiocitoma maligno, y dermatofibrosarcoma. Foster no encontró una correlación entre la sobre-expresión de HER2/neu y el grado de recurrencia del tumor o con el estadio de la enfermedad. La sobre-expresión de HER2 no se expresa uniformemente en todos los sarcomas de partes blandas. En otro estudio de Thomas y cols contrariamente a lo que habían

demostrado en OS y SE, concluyen que aunque nuestros resultados, representan una pequeña parte de la población, demostraron la presencia de EGFR y la expresión de HER2 y que estos pueden representar un importante evento molecular en la oncogénesis del sarcoma sinovial. Un estudio de un grupo mas grande de pacientes seria necesario para observar la importancia pronostica de la expresión de HER2 y EFGR.

Contrariamente, Nuciforo y cols concluyeron que los pacientes con una sobre-expresión de HER2/neu mRNA tienen un riesgo de recurrencia muy bajo. Similarmente todos los casos con sobre expresión de HER2/neu no presentaron metástasis. Estos datos sugieren que HER2/neu juega un papel en la biología de los sarcomas sinoviales y que la sobre-expresión de HER2/neu estaba asociada a un comportamiento clínico menos agresivo. Aunque, a diferencia de otros canceres donde la sobre-expresión de HER2/neu se ha correlacionado con un pobre pronóstico, pero en el cáncer de tiroides y en osteosarcoma se ha observado con un curso clínico más favorable. Diferencias en las técnicas utilizadas para la determinación de HER2/*neu* juegan un papel importante y explican las discrepancias que hay en los estudios. Estas discrepancias en resumen pueden nacer del uso de diferentes anticuerpos, así como la ausencia de una evaluación estandarizada.

DISCUSIÓN DE LOS ESTUDIOS ANÁLIZADOS

Solo se obtuvieron 14 artículos sobre cohortes acerca de la sobre-expresión de HER2/*neu* y su implicación pronostica en osteosarcoma, sarcoma de partes blandas y sarcoma de Ewing que incluían una variedad de entornos, participantes y medidas de resultado. Al revisarlos y analizarlos decidimos fusionar los datos para dar respuesta a nuestros objetivos.

Pero ¿Por qué incluir artículos sobre sarcomas de partes blandas? si lo que a nosotros nos importa es la sobre-expresión de HER2 y la implicación pronostica en osteosarcoma, buena pregunta a la cual respondimos de la siguiente manera, en los estudios sobre sarcomas de partes blandas nos encontramos con el mismo problema que en los de osteosarcoma, que existía una diversidad de resultados por ejemplo en unos estudios no se encontró la sobre-expresión, en otros mencionaban que la sobre-expresión tenía buen pronóstico y en otros que los pacientes que presentaban dicha sobre-expresión tenían mal pronóstico. Y en otros estudios ni siquiera mencionan la implicación pronostica. Y nos volvimos hacer otra pregunta ¿Por qué existe discordancia entre los estudios analizados tanto de osteosarcoma como de sarcomas de partes blandas? Muchos factores pueden estar implicados en este problema: la diversidad de las edades de los pacientes ya que solo se encontraron 4 artículos correspondientes a solo pacientes pediátricos y la gran mayoría es decir 10 artículos son de niños y adultos, la diversidad de pacientes, ya que como se mencionó previamente algunos pacientes tenían enfermedad localizada al diagnóstico y otros tenían enfermedad metastásica al diagnóstico; las pruebas utilizadas para demostrar la sobre-expresión de HER2 y los diferentes anticuerpo monoclonales empleados, su forma de interpretación; los tratamientos utilizados ya que unos recibieron diversos tipos de protocolos de quimioterapia, otros solo lo mencionan y no mencionan los tipos de medicamentos utilizados, la diversidad de muestras analizadas ya que la mayoría de las muestras analizadas fueron de las biopsias del diagnóstico, pero otros estudios incluían a las biopsia de la recurrencia y de las metástasis pulmonares, otros solo incluían a las metástasis.

Lo que bien es cierto es que a partir del descubrimiento del HER2, se han estado investigado mas acerca de su expresión y su implicación pronostica, donde más se ha investigado y se conoce mas sobre HER2 es en el cáncer de Mama donde es bien sabido que la sobre-expresión de HER2 tiene mal pronóstico ya que al conocer su sobre expresión desde el diagnóstico, se dan tratamientos mas agresivos y el empleo del anticuerpo monoclonal antiher2 para mejorar la supervivencia de las pacientes. Es por eso nuestro interés acerca de conocer la implicación pronostica de la sobre-expresión de HER2 para poder así formar grupos de riesgo y dar un tratamiento mas agresivo.

Respecto a la sobre-expresión de HER2 (Tabla 2 y 5), nosotros encontramos una discrepancia entre los 14 artículos analizados ya que encontramos que solo en 9 artículos si se presento la sobre-expresión y de estos solo 2 presentan buen pronóstico y los otros 7 es de mal pronóstico, al igual que los demás autores concluyen que ellos también encontraron las mismas discrepancias y que esto podía ser debido a diversas razones las mismas que nosotros encontramos al analizar los estudios primeramente encontramos una diversidad de estudios de IHQ con el uso de diversos anticuerpos monoclonales o policlonales anti-HER2, esto es una limitante para el estudio por lo que se debe de realizar un estudio con una prueba estandarizada para todas las muestras de todo; los estudios que se realicen. Otra de las cosas que nosotros encontramos y que los mismos autores concluyen es que aparte del uso de diversos anticuerpos es la forma en que prepararon las muestras, además de que la forma de interpretación fue diferente ya que algunos autores utilizaban una escala de expresión de HER2, otros simplemente mencionaban que se sobre-expresó HER2.

Nosotros observamos que la gran mayoría de los estudios concluyó que la sobre-expresión de HER2 si tiene una implicación pronostica negativa, es decir que la sobre-expresión de HER2 tiene un mal pronóstico.

Al realizar esta revisión de la literatura nos encontramos que los estudios analizados tenían una limitante la cual mencionaremos a continuación y que se describe en el cuadro 2.

Encontramos que en el estudio de Niehans y cols fueron demasiados tipos histológicos, no se menciona el tratamiento que se le dio a los pacientes o si estos ya habian sido tratados, ni la edad de los pacientes, es un estudio incompleto.

En este estudio el de Onda y cols. Encontramos que el número de pacientes fue muy pequeño. Utilizaron una escala para la interpretación de la expresión de HER2 y esta escala de interpretación no dice por quien fue establecida.

Encontramos que en el estudio de Gorlick y cols ellos usaron 2 protocolos distintos de tratamiento de quimioterapia, y no mencionan a que grupo le fue mejor o si en uno no se presento la sobre-expresión de HER2 o si en ambos se presento, si la SLE fue igual para los 2 tipos de tratamiento utilizado. No se encontraron todas las muestras de las biopsias iniciales por lo que redujeron el número de casos.

En el estudio de Akatzuka encontramos que los pacientes recibieron 4 diferentes regimenes de quimioterapia, y no se hicieron grupos con los diferentes tipos de tratamiento, para así establecer si el tratamiento afectaba la respuesta en cuanto a la sobre-expresión de HER2 o si esto influía en el pronóstico.

Y los siguientes autores Maitra, Thomas, Nuciforo Zhou y Ferrari encontraron como limitante que el tamaño de la muestra de sus estudios fue muy pequeño y que por eso se requerían de estudios con tamaño de muestras más grande.

Al realizar esta revisión de la literatura como una revisión sistematizada encontramos limitantes primeramente que no se encontró ningún ensayo clínico, para poder realizar metanálisis con dichos estudios, además de que encontramos muy poca cantidad de estudios referentes con osteosarcoma y sobre-expresión de HER2 y su implicación pronostica solo en pacientes pediátricos ya que los que encontramos son tanto de adultos como de niños, así que este estudio nos mostró que se requiere conocer mas acerca de la sobre-expresión de HER2 solo en osteosarcoma en pacientes pediátricos y que este estudio servirá como base para poder realizar estudios de investigación con los pacientes de osteosarcoma en nuestra institución así como conocer las características de nuestra población ya que todos los estudios realizados fueron en países desarrollados y nosotros sabemos que los pacientes no son iguales en ninguna parte del mundo así podríamos establecer grupos de riesgo y ofrecer un tratamiento mas agresivo a nuestros pacientes y mejorar la SLE y SG y no solo ese estudio sino una serie mas de estudios ya que de encontrarse positivo la sobre-expresión de HER2 en nuestra población y encontrar que tiene una implicación pronostica negativa se realizaría otro estudio con el uso de el Herceptin para valorar su eficacia. Y también podríamos realizar un estudio multicentrico a nivel internacional con otros países incluyendo países desarrollados como EUA, Japón e Italia y países en vías de desarrollo como México, El salvador, Honduras entre otros donde analizaríamos si esta presenta o no la sobre-

expresión de HER2 y estandarizar la prueba para la determinación de HER2 es decir utilizar el mismo anticuerpo monoclonal o policlonal anti-HER2 y establecer un mismo método de interpretación y poder determinar si la sobre-expresión de HER2 tiene una implicación pronóstica positiva o negativa ya bien establecida.

CONCLUSIONES.-

Nosotros concluimos lo siguiente:

La sobre-expresión de HER2 tiene una implicación pronostica negativa, con una SG y un SLE muy pobre a pesar de tratamientos agresivos, pero se requiere de los siguientes elementos para poder determinar con certeza si es factor pronostico.

Por las razones anteriormente expuestas consideramos prematuro concluir con precisión acerca de la implicación pronostica en la sobre-expresión de HER2.

Por las siguientes razones nosotros proponemos lo siguiente:

- Realizar un estudio solo en pacientes pediátricos con osteosarcoma.
- Estandarizar las pruebas para la determinación de HER2.
- Separar a los pacientes y analizarlos por separados es decir analizar solo a los pacientes con enfermedad localizada y llevar un seguimiento de ellos para poder analizar si la sobre-expresión de HER2 tiene una implicación pronostica positiva o negativa. Y así mismo realizarlo con los pacientes con enfermedad metastasica al diagnóstico.
- Determinar si los pacientes que ya fueron tratados y que presentaban sobre-expresión de HER2 esta puede ser eliminada con el uso de quimioterapia o si esta sobre-expresión de HER2 persiste a pesar del tratamiento.
- Realizar estudios donde se identifiquen nuevos factores de riesgo para el osteosarcoma y así incorporar nuevas estrategias de tratamiento.
- El impacto que tiene la sobre-expresión de HER2 debe de ser analizado en un estudio prospectivo en pacientes tratados de manera uniforme para evitar confusión de variables.
- Realizar un estudio multicéntrico que pueda examinar el papel que juega el oncogen *HER2/neu* en la patogénesis y progresión del osteosarcoma.
- Realizar estudios sobre la seguridad y la eficacia de trastuzumab en pacientes con osteosarcoma que sobre-expresaron HER2.

Cuadro I. RESUMEN DE LOS ARTICULOS ANALIZADOS

Autores	Diseño del estudio	Características De la población	Numero de casos	Diagnostico	Pruebas Diagnosticas	Tratamiento	Pronostico	Medicina preventiva	Resultados	Conclusiones
George-Nichans y cols 1992 EUA	Cohorte única Retrospectiva VI	biopsias	204	Sarcomas de partes blandas y tumores de células pequeñas	Anticuerpo monoclonal mAb1	-	No tiene implicación pronóstica	-	Los resultados son negativos, ninguno mostró inmunoreactividad.	La sobre-expresión de HER2 es rara o esta ausente en los sarcomas y tumores de células pequeñas, redondas y azules en niños. No parece tener implicación pronóstica.
Onda-Yamamoto y cols 1996 1992-1995 JAPON	Cohorte única Retrospectiva VI	pacientes hospitalizados biopsia del tumor primario edades de 8* 75 años con media 19.9 a ambos sexos rel: H:M: 16:10 Enf. Localizada:7 Enf. Metastásica: 19	26	Osteosarcoma: Condrolástico osteoblástico, fibroblástico, mixto, telangiectásico	IHQ con el Anticuerpo monoclonal anti-ErbB2 de ratón CB11, PCR, biología molecular.	Quimioterapia	La sobre-expresión de ErbB2 tiene peor pronóstico		11 de 26 (42%) presentaron sobre expresión de ErbB2, Sin rearrreglo o amplificación del gen o-erbB2. El rango de supervivencia en los pacientes con sobre-expresión de HER2 fue significativamente peor que para los que no expresaron.	La expresión de ErbB2 esta relacionada con un pobre pronóstico, un alto riesgo de desarrollar metástasis pulmonares tempranas, pobre respuesta a la Quimioterapia..
Orliok-Huvos y cols 1999 1986-1993 EUA	Cohorte única Retrospectiva VI	Hospitalizados, Dx Reciente Biopsia inicial, de la recurrencia o de la cirugía definitiva. Y de las metástasis. Ambos sexos: H:M 33:20 Edad media 16.9 a Enf. Localizada:	53	Osteosarcoma	IHQ con el anticuerpo monoclonal 5B5, y con la prueba de DAKO (kit de Herceptest) para confirmación.	Quimioterapia Cirugía	Mal pronóstico	El uso de QT mas el anticuerpo monoclonal anti her2.	En 24 (45.3%) la proteína HER2/ErbB2 se sobre-expreso. Al momento de la biopsia inicial el 42.6% el 76.9% de las muestras obtenidas al momento de la recurrencia demostraron la sobre-expresión de HER2. La expresión de de HER2 se relaciono con una	La sobre expresión de HER2 puede tener un papel directo en la patogénesis y un pobre curso clínico de ciertos tumores humanos. La sobre-expresión de HER2 esta asociado con un pobre resultado

		46 Enf. Metastásica: 7							pobre respuesta histológica Niveles elevados de HER2 se asociaron con una SLE .muy pobre (78% v 40% a 5 años, p = 0.01).	
Maitra-Wenzer y cols. 2001 1993-2000 EUA	Cohorte única Retrospectiva VI	Muestras de 21 pacientes con osteosarcoma obtenidas del archivo de patología del Children's Medical Center. Edad media: 11.6° Enf. Localizada: 13 Enf. Metastásica: 8	21	osteosarcoma	IHQ con la prueba de DAKO (kit de Herceptest) usando el anticuerpo polioclonal de conejo A0485, FISH con DNA de HER2		Ninguno		Ninguno de los 21 casos tenía la amplificación del oncogen HER2/ <i>neu</i> por el método de FISH, ni tampoco por la prueba de DAKO de la IHQ con el anticuerpo A0485.	La expresión de la proteína HER2/ <i>neu</i> es un raro evento no solo en el osteosarcoma primario si no que también en la enfermedad metastásica. Las posibles razones para la discrepancia de este estudio con los estudios de Gorlick ¹⁵ y Onda ¹⁶ son desconocidas pero existen varias posibilidades como que los 3 estudios emplearon distintos anticuerpos para la determinación de HER2 y presumiblemente con sensibilidad y especificidad variable. Otra posibilidad es que todos los estudios usaron material archivado de parafina, y su descalcificación se realizó durante la noche en algunos casos, esto puede influir en los resultados. Otro es el criterio para determinar su interpretación.
Akatsuka-Wada y cols. 2002 1984-1995	Cohorte única retrospectiva multicéntrica VI	Hospitalizados Biopsias del diagnóstico Niños y adultos	81	Osteosarcoma: Condrolástico osteoblástico, fibroblástico, telangiectásico	IHQ con el anticuerpo monoclonal CB11	Quimioterapia prequirúrgica, y posquirúrgica, amputación, salvamento de extremidad	Buen pronóstico	Este estudio debe ser realizado con un número mayor de pacientes. La aplicación	De los 81 casos 30 fueron negativos (37%) y 51 positivos (63%). En un 68% se sobre expresó HER2 en los	Nosotros encontramos que los niveles altos de ErbB2 en las células tumoriales se relacionaron

JAPON		Ambos sexos Rel: H:M 33:28 81						como estrategia del uso del anticuerpo monoclonal antiher2 en osteosarcoma debe de ser analizado con mas detalle.	pacientes que respondieron bien a la quimioterapia y en un 58% con los pobres respondedores. La SLE a 5 años fue de 72% para los que sobre expresaron HER2 y un 46% en los pacientes que no sobre expresaron.	significativamente con una SLE y una SG elevada en los 81 pacientes con osteosarcoma que no tuvieron enfermedad metastasica al diagnóstico. No se encontró relación entre el nivel de expresión de ErbB2 y la extensión de la necrosis tumoral después de la quimioterapia preoperatorio. Análisis multivariados revelaron que la ausencia de ErbB2 persistia como factor de riesgo independiente para una pobre supervivencia. La sobre-expresión de ErbB2 fue asociada con un resultado favorable para pacientes con OSM que no tuvieron enfermedad metastasica al diagnóstico y que fueran tratados con cirugía y altas dosis de QT neoadyuvante..
Thomas-Giordano y cols 2002 EUA	Cohorte única Retrospectiva VI	Muestras de parafina 33 osteosarcoma y 11 de sarcoma de ewing. Edades en osm de 6 a 75ª Edad ewing de 16 m a 18 a Ambos sexos	44 33 osm 11 ewing	Osteosarcoma Sarcoma de ewing	Inmunohistoquímica para her2 prueba de DAKO anticuerpo onoclonal de conejo A0485. Expresión de HER2 x RT-PCR	quimioterapia	No tiene valor pronostico		Ninguno de los especimenes resultaron positivos para la expresión de HER2	En contraste con los estudios previos, el estudio demostró la ausencia de la expresión de Her2/neu en OS y SE. HER2/neu no es un factor pronóstico

Merimski-Issakov y cols. 2002 ISRAEL	Descriptivo	Material histológico de 230 casos de sarcomas de partes blandas 1 mes a 87 años	230 casos	Fibrohistiocitoma maligno, liposarcoma, Sarcoma sinovial, rhabdomioma, Sarcoma de Ewing, Tumor de la vaina del nervio periférico maligno, angiosarcoma, sarcoma epiteloide, fibrosarcoma, sarcoma de células claras, sarcoma de partes blandas alveolar, fibrosarcoma congénito, sarcoma pleomorfo.	IHQ con anticuerpo monoclonal de ratón anti-HER2	-	No tiene valor pronóstico	-	Ninguno de los 230 casos resultó positivo, todos fueron negativos.	La expresión de ErbB2 en sarcomas osteogénicos aun sigue siendo controversial. Los resultados indican que la sobreexpresión de HER2/neu es un raro evento en los sarcomas de partes blandas.
Foster-Knox y cols. 2003 1986-2000 EUA	Cohorte única retrospectiva observacional VI	Hospitalizados Biopsias al diagnóstico 1-93ª edad media: 56a ambos sexos rel. H:M 109:164	273 casos	Fibrohistiocitoma maligno, dermatofibrosarcoma, Leiomioma, carcinosarcoma, nefroblastoma, rhabdomioma, liposarcoma, fibrosarcoma, sarcoma estromal.	IHQ con el test de Hercep desarrollado por DAKO.	-	-	-	De los 273 casos, solo 29 casos (10.6%) mostraron sobreexpresión de HER2/neu. La sobreexpresión fue restringida solo a los carcinosarcomas (CS), fibrohistiocitoma maligno (FHM) y a los dermatofibrosarcomas (DFS).	En este estudio solo se sobreexpresó HER2 en un 10.6% de los casos. Los tipos histológicos que mostraron una alta incidencia de la sobreexpresión de HER2/neu son los carcinosarcomas, fibrohistiocitoma maligno, y dermatofibrosarcoma. no hubo una correlación entre la sobreexpresión de HER2/neu y el grado de recurrencia del tumor o con el estadio de la enfermedad. La sobreexpresión de HER2 no se expresa uniformemente en

										todos los sarcomas de partes blandas.
Nuolforo-Pellegrini y cols 2003 ITALIA	Cohorte única Retrospectiva VI	Hospitalizados Biopsias del diagnóstico Y de las metástasis 15 a 71ª edad media: 44.6a ambos sexos rel H:M 5:8	13 casos	Sarcoma sinovial	Biología molecular con síntesis de DNA, amplificación de PCR, RT-PCR en tiempo real, IHQ con anticuerpo monoclonal de conejo A0485 de DAKO	Quimioterapia postoperatoria, Radioterapia, Cirugía: radical, amputación amplia, resección en bloque marginal, resección en bloque amplia	Buen pronóstico	-	Todos los tejidos analizados mostraron niveles detectables de HER2/neu mRNA el 69% mostró expresión baja y el 31% tenía sobre-expresión de HER2.	Pacientes con una sobre expresión de HER2/neu mRNA tienen un bajo riesgo de recurrencia. HER2/neu juega un papel en la biología de los sarcomas sinoviales y esta asociado a un comportamiento clínico menos agresivo.
Gorliok-Huvos y cols 1989-1998 2001 EUA	Cohorte única Retrospectiva VI	Hospitalizados edad media al dx: 16.9a ambos sexos relación H:M: 32:21 biopsia inicial: 47 Enf. Localizada: 47 Enf. Metastásica: 6	53 casos	Osteosarcoma	IHQ con el anticuerpo monoclonal 3B5 y los resultados se confirmaron con el Herceptest de DAKO.	Quimioterapia, cirugía	-	Pobre pronóstico	El 45% de los casos de HER2 se relacionó con una SLE y una respuesta histológica a la quimioterapia preoperatoria muy pobre. La expresión de HER2 puede ser un marcador muy útil en la determinación de pronóstico del paciente antes de iniciar el tratamiento.	
Zhou-Lor y cols 2003 1981-1996	Cohorte única Retrospectiva VI	Hospitalizados Biopsia inicial: 25, biopsia de las metástasis de	25 casos	osteosarcoma	IHQ con un stainier automático de Ventana con un anticuerpo monoclonal c-	Quimioterapia, Cirugía: amputación, salvamento de extremidad.	Peor pronóstico	Un estudio prospectivo, grande con métodos estandarizado sería esencial	En un 44% de los casos del tumor primario se identificó la expresión de Her2/neu y en un	La expresión de HER2 tiene una alta tendencia de metástasis sugiriendo que la expresión de HER2

EUA		<p>pulmón: 12</p> <p>5-19ª</p> <p>edad media: 14ª</p> <p>ambos sexos</p> <p>rel H:M</p> <p>14:11</p> <p>Enf. Localizada:</p> <p>19</p> <p>Enf.</p> <p>Metastásica: 6</p>			neu (Ab-3). FISH			<p>para determinar si la expresión y/o la amplificación pueden predecir un riesgo y permitir una terapia basada en el riesgo.</p>	<p>58% de las metástasis pulmonares. La expresión de HER2/neu en la biopsia inicial se asocio con una pobre supervivida libre de metástasis aun con pacientes con enfermedad localizada (P = 0.04). La presencia de metástasis pulmonares se relaciono con una pobre respuesta histológica a la quimioterapia preoperatoria (P =0.01).</p>	<p>puede caracterizar a un tipo de tumor más agresivo asociado con metástasis tempranas. Por lo tanto la presencia de HER2 puede servir como marcador pronostico. La expresión de HER2 citoplasmática esta asociada con una mala supervivencia libre de metástasis en pacientes con o sin metástasis al DX.</p>
Ferrari-Bacchi y cols 2004 1995-1999 ITALIA	<p>Cohorte única Retrospectiva</p> <p>VI</p>	<p>Hospitalizados</p> <p>Biopsia inicial: 19</p> <p>biopsia de las metástasis pulmonares: 55</p> <p>6ª- 34ª</p> <p>edad media: 15a</p> <p>ambos sexos</p> <p>rel. H:M</p> <p>14:5</p>	19 casos	Osteosarcoma osteoblástico, condroblástico, fibroblástico	IHQ con anticuerpo de conejo o-erbB-2 anti-humano (DAKO)	Quimioterapia preoperatoria, cirugía: salvamento y amputación	Peor pronóstico	-	<p>El 42% fue positivo para ErbB2 y un 27% positivo en los nódulos metastásicos. El análisis de la IHQ del tumor primario en relación con el número de las metástasis pulmonares y oon el intervalo libre de recurrencia indicó que los pacientes con ErbB2 son más comunes de que presentan múltiples metástasis y un corto intervalo libre de recurrencia comparados con aquellos que son negativos para ErbB2.</p>	<p>La expresión de HER2/ErbB2 juega un papel importante en el proceso de las metástasis en osteosarcoma. Los pacientes tienden a tener un intervalo de recurrencia corto y múltiples metástasis pulmonares, este patrón de recurrencia refleja el incremento biológico de agresividad del tumor.</p>
Thomas-Giordano y cols 2005	<p>Cohorte única Retrospectiva</p> <p>VI</p>	<p>38 bloques de tejido en parafina, 22 tumor primario, 7 de recurrencia y 9 de metástasis</p>	30 pacientes	Sarcoma sinovial	IHQ con un anticuerpo policlonal de conejo de DAKO, Total RNA	-		<p>Un estudio de un grupo mas grande de pacientes seria necesario para observar la</p>	<p>En un 55.3% se detecto el EGFR y en un 32.6% se expreso HER2 y este solo fue para los pacientes que tenían</p>	<p>Los resultados, aunque representen una pequeña parte de la población, demostraron que el EGFR y la</p>

EUA		pulmonares 7- 70 a edad media: 33a ambos sexos rel. H:M 13:17			isolacion y 5' nuocleasa. Hibridación in situ oromogénica (CISH)			importancia pronostica de la expresión de HER2 y EFGR Realizar estudios con el uso de terapia target, como inhibidores de moléculas pequeñas, los cuales estan en desarrollo, en contra de ambos receptores y pueden representar una terapia alternativa viable.	el gen de fusión SYT/SSX1	expresión de HER2 puede representar un importante evento molecular en la oncogénesis del sarcoma sinovial.
Akatsuka-Wada y cols 2001 1984-1993 JAPON	Cohorte única Retrospectiva VI	Hospitalizados Biopsias de las metástasis pulmonares Niños y adultos ambos sexos	75 casos	osteosarcoma	IHQ con el anticuerpo monoclonal CB11	Quimioterapia	-	-	Ausencia de la sobre-expresión de HER2 en todos los casos de las metástasis pulmonares.	Existen diversas causas por las que puede haber ausencia de la sobre- expresión entre ellas esta el empleo de una quimioterapia muy intensa.

Cuadro 2

Autores Año de publicación / Realización País	Limitaciones del Estudio	Direcciones Futuras de Investigación
George-Niehans y cols 1992 EUA	Fueron demasiados tipos histológicos, no se menciona el tratamiento que se le dio, ni la edad de los pacientes, es un estudio incompleto.	Realizar un estudio solo con algunos tipos de sarcomas de partes blandas.
Onda-Yamamoto y cols 1996 1992-1995 JAPON	En este estudio, el número de pacientes fue muy pequeño. La escala de interpretación no dice por quien fue establecida.	Este estudio debe de ser confirmado con un mayor número de casos. La interacción entre el estradiol y ErbB-2 puede contribuir a la proliferación de células de osteosarcoma y puede ser de gran utilidad para establecer un protocolo adicional para el tratamiento del osteosarcoma.
Gorlick-Huvos y cols 1999 1986-1993 EUA	Usaron 2 protocolos distintos de tratamiento de quimioterapia. No se encontraron todas las muestras de las biopsias iniciales por lo que redujeron el numero de casos	Desarrollar estudios de fase II con rhuMAB (anticuerpo monoclonal antiher2) en osteosarcoma. Realizar estudios de fase II con rhuMAB en pacientes con Osteosarcoma refractario o con recaída y que sea multicéntrico. Un estudio de ventana de fase II de rhuMAB en combinación con quimioterapia para pacientes de

		osteosarcoma de reciente diagnóstico que sea metastático al diagnóstico.
Maitra-Wenzer y cols. 2001 1999-2000 EUA	El tamaño de la muestra fue muy reducido.	Realizar un estudio multicéntrico que pueda examinar el papel que juega el oncogen HER2/neu en la patogénesis y progresión del osteosarcoma.
Akatsuka-Wada y cols 2002 1984-1995 JAPON	Los pacientes recibieron 4 diferentes regimenes de quimioterapia.	Realizar estudios multicéntricos y estandarizar las pruebas utilizadas para la determinación de HER2. Realizar estudios sobre la seguridad y la eficacia de trastuzumab en pacientes con osteosarcoma que sobre-expresaron HER2.
Thomas-Giordano y cols 2002 EUA	El tamaño de la muestra fue pequeño.	Realizar un estudio con un mayor numero de casos.
Merimski-Issakov y cols. 2002 ISRAEL	-	-
Foster-Knox y cols. 2003	Son sarcomas tanto de adultos como pediátricos sin mencionar su diferenciación.	El papel que juega el uso de trastuzumab solo o en conjunto con el tratamiento tradicional debe de ser evaluado y examinado.

1986-2000 EUA		
Nuciforo-Pellegrini y cols 2003 ITALIA	Las edades y el tamaño de la muestra que fue muy pequeño.	Considerando que el tamaño de la muestra fue muy pequeño se requieren de otros estudios con un tamaño de la muestra mayor, para así confirmar estos hallazgos preliminares.
Gorlick-Huvos y cols 1989-1998 2001 EUA	Usaron 2 diferentes protocolos de quimioterapia	Realizar estudios donde se identifiquen nuevos factores de riesgo para el osteosarcoma y así incorporar nuevas estrategias de tratamiento. Desarrollar estudios de fase II con rhuMAB (anticuerpo monoclonal antiher2) en osteosarcoma. Realizar estudios de fase II con rhuMAB en pacientes con Osteosarcoma refractario o con recaída y que sea multicéntrico. Un estudio de ventana de fase II de rhuMAB en combinación con quimioterapia para pacientes de osteosarcoma de reciente diagnóstico que sea metastático al diagnóstico.
Zhou-Lor y cols 2003 1981-1996 EUA	El tamaño de la muestra es pequeño.	El impacto que tiene la sobre-expresión de HER2 debe de ser analizado en un estudio prospectivo en pacientes tratados de manera uniforme para evitar confusión de variables.

<p>Ferrari-Bacci y cols</p> <p>2004</p> <p>1995-1999</p> <p>ITALIA</p>	<p>Selección de pacientes fue solo aquellos pacientes con pronóstico favorable y no toda la población en general.</p> <p>Tamaño de la muestra pequeña.</p>	<p>Realizar un estudio con un tamaño de la muestra más grande e incluir a toda la población general de pacientes con osteosarcoma.</p> <p>Estandarizar las pruebas diagnósticas.</p>
<p>Thomas-Giordano y cols</p> <p>2005</p> <p>EUA</p>	<p>Tamaño de la muestra pequeña.</p>	<p>Un estudio de un grupo mas grande de pacientes seria necesario para observar la importancia pronostica de la expresión de HER2 y EGFR estandarizar las pruebas diagnósticas.</p> <p>Realizar estudios con el uso de terapia target, como inhibidores de moléculas pequeñas, los cuales estan en desarrollo, en contra de ambos receptores y pueden representar una terapia alternativa viable.</p>
<p>Akatsuka-Wada y cols</p> <p>2001</p> <p>1983-1994</p> <p>JAPON</p>		<p>Realizar estudios multicéntricos y estandarizar las pruebas diagnósticas</p>

Referencias Bibliográficas

- 1.- Bookman MA, Darcy KM, et al : Evaluation of monoclonal Humanized antiher2 antibody, trastuzumab, in patients with recurrent or refractory ovarian o primary peritoneal carcinoma with overexpression of HER2: A phase II trial of the gynecologic oncology group. *J Clin Oncol* 21:283-290, 2003.
- 2.- Capuzzo F, Gregorc V, Rossi E, et al: Gefitinib in pretreated non small cell lung cancer (NSCLC): analysis of efficacy and correlation with HER2 and epidermal growth factor receptor expression in locally advanced or metastatic (NSCLC). *J Clin Oncol* 21:2658-2663 2003.
- 3.- Mendelsohn J, Baselga J: Status of epidermal growth factor receptor antagonist in the biology and treatment of cancer. *J clin Oncol* 21:2787-2799 2003.
- 4.- Cobleigh M.A, Vogel C.L, Tripathy D, et al: Multinational study of efficacy and safety of humanized anti-her2 monoclonal antibody in women who have her2-overexpressing metastatic breast cancer that has progressed after chemotherapy for metastatic disease. *J Clin Oncol* 17:2639-2648 1999.
- 5.- Witig JC, Cruz L, Wodajo F, et al: Expression of HER2/neu and EGFR in Osteosarcoma. *Proc Am Soc Clin Oncol* 2001 (abstr 790).
- 6.- Slomovitz BM, Russell RB, Burke TW, et al: HER2/neu overexpression and amplification in uterine papillary serous carcinoma. *Jclin Oncol* 22:3126-3132, 2004.
- 7.- Lebeau A, Deimling D, Kaltz C, et al: HER2/neu analysis in archival tissue samples of human breast cancer: comparison of immunohistochemistry and fluorescence in situ hybridization. *J Clin Oncol* 19:354-363 2001.
- 8.- Hainsworth J. D, Lennington W. J, Greco F.A: overexpression of her2 in patients with poorly differentiated carcinoma of poorly differentiated adenocarcinoma of unknown primary site *J Clin oncol* 18:632-635 2000.
- 9.- Allgayer H., Babic R., gruetzner K. U, et al: c-erbB-2 is of independent prognostic relevance in gastric cancer and is associated with he expression of tumor associated protease system. *J. Clin Oncol* 18:2201-2209 2000.
- 10.- Yu D, Hung MC: Expression of ras neu oncogene is sufficient to induce experimental metastasis in 3T3 cells. *Oncogene* 6: 1991-96, 1991.
- 11.- Tan M, Yao J, Yu D. Overexpression of the c-erbB-2 gene enhanced intrinsic metastasis potential in human breast cancer cells without increasing their transformation abilities. *Cancer Res* 57: 1199-1205, 1997.
- 12.- Thor A D, Liu S, Edgerton et al: Activation (tyrosine phosphorylation) of erbB-2 (her/neu): A study of incidence and correlation with outcome in breast cancer. *J Clin Oncol* 18:3230-3239 2000.

- 13.- Knoop A.S, Bentzen S.M, Metta M, et al: Value of epidermal growth factor receptor, HR2, P53 and steroid receptor in predicting the efficacy of tamoxifen in high risk postmenopausal breast cancer patients. *J Clin Oncol* 19:3376-3384 2001.
- 14.- Press MF, Slamon DJ, Flom KJ et al: Evaluation of HER2/neu gene amplification and overexpression: comparison of frequently used assay methods in a molecularly characterized cohort of breast cancer specimens. *J Clin Oncol* 20:3095-3105 2002.
- 15.- Gorlick R, Huvos A. G, Heller G. et al: Expression of HER2/erbB-2 correlates with survival in Osteosarcoma. *J. Clin Oncol* 17: 2781-2788, 1999
- 16.- Zhou Z, Jia SJ, Hung MC, et al: E1A sensitizes HR2/neu overexpressing Ewing's Sarcoma cell's to topoisomerase II-targeting anticancer drugs. *Cancer Res* 61, 3394-3398, 2001.
- 17.- Akatsuka T, Wada T, Kokai Y, Kawaguchi S, et al. ErbB2 expression is correlated with increased survival of patients with osteosarcoma. *Cancer*, 94: 1397-404, 2002.
- 18.- Onda M, Matsuda S, Higaki S, et al. ErbB-2 expression is correlated with poor prognosis for patients with osteosarcoma. *Cancer* 77: 71-78, 1996.
- 19.- Meyers PA, Gorlick R. Osteosarcoma. *Pediatr Clin North Am* 44: 973-990, 1997.
- 20.- Provisor AJ, Ettinger LJ, Nachman JB, et al. Treatment of nonmetastatic osteosarcoma of the extremity with preoperative and postoperative chemotherapy: A report from the Children's Cancer Group. *J Clin Oncol* 15: 76-84, 1997.
- 21.- Meyers PA, Gorlick R, Heller G, et al: Intensification of preoperative chemotherapy for osteogenic sarcoma: The results of the Memorial Sloan-Kettering (T12) protocol. *J Clin Oncol* 16: 2452-58, 1998.
- 22.- Baldini N, Scotlandi K, Barbanti-Brodano G, et al. Expression of p-glycoprotein in high-grade osteosarcomas in relation to clinical outcome. *N Engl J Med* 333: 1380-85, 1995.
- 23.- Akatsuka T, Wada T, Kokai Y, Sawada N, Yamawaki S, Ishii S. Loss of ErbB2 expression in pulmonary metastatic lesions in osteosarcoma. *Oncology* 60: 361-66, 2001.
- 24.- Thomas DG, Giordano TG, Sanders D, et al: Absence of HER2/neu gene expression in Osteosarcoma and Skeletal Ewing's Sarcoma. *Clin Cancer Res* 8:788-793, 2002.
- 25.- Press MF, Hung G, Godolphin W, and Slamon DJ. Sensitivity of HER-2/neu antibodies in archival tissue samples: potential source of error in immunohistochemical studies of oncogene expression. *Cancer Res*, 54: 2771-77, 1994.
- 26.- Mass R, Sanders C, Kasian C, et al. The concordance between the clinical trials assay (CTA) and fluorescence in situ hybridization in the Herceptin pivotal trials. *Proc Am Soc Clin Oncol* 19: 75^a, 2000 (abstr 291).

- 27.- Wunder JS, Paulian G, Huvos AG, et al. The histological response to chemotherapy as a predictor of the oncological outcome of operative treatment of Ewing sarcoma. *J Bone Joint Surg Am* 1998; 80: 1026-33.
- 28.- George E, Niehans GA, Swanson PE, et al. Overexpression of the c-erbB-2 oncogene in sarcomas and small round-cell tumors of childhood. *Arch Pathol Lab Med* 116: 1033-1035, 1992.
- 29.- Maitra A, Wanzer D, Weinberg, et al. Amplification of the HER-2/*neu* oncogene is uncommon in pediatric osteosaroma. *Am Cancer Soc* 92: 677-683, 2001.
- 30.- Merimsky O, Issakov J, Schwartz I, et al. Lack of ErbB-2 oncogene product overexpression in soft tissue sarcomas. *Acta oncológica* 41: 366-368, 2002.
- 31.- Morris CD, Gorlick R, Huvos AG, et al. Human epidermal growth factor receptor 2 as a prognostic indicator in osteogenic sarcoma. *Clin Orth and Rel Res* 382: 59-65, 2001.
- 32.- Foster H, Kox S, Ganti AK, et al. HER-2/*neu* overexpression detected by immunohistochemistry in soft tissue sarcomas. *Am J Clin Oncol* 26 (2): 188-191, 2003.
- 33.- Nuciforo PG, Pellegrini C, Fasani R, et al. Molecular and Immunohistochemical analysis of HER2/*neu* oncogene in synovial sarcoma. *Human Pathol* 34(7): 639-645, 2003.
- 34.- Zhou H, Randall RL, Brothman AR, et al. HER-2/*neu* expression in osteosarcoma increases risk of lung metastasis and can be associated with gene amplification. *J of Ped Hem/Oncol* 25: 27-32, 2003.
- 35.- Ferrari S, Bacci G, Bertoni F, et al. Evaluation of P-glicoprotein, HER-2/ErbB-2, p53, and Bcl-2 in primary tumor and metachronous lung metastases in patient with high-grade osteosarcoma. *Am Can Soc* 100: 1936-1942, 2004.
- 36.- Thomas DG, Giordano TJ, Sanders D, et al. Expression of receptor tyrosine kinases epidermal growth factor receptor and HER-2/*neu* in synovial sarcoma. *Am Can Soc* 103: 830-838, 2005.