

Relación de la expresión del oncogén HER2/neu con factores clínico-patológicos en pacientes con cáncer de colon.

Aldo Reigosa¹, Glenda García², Wilmer Ramos³

RESUMEN

En el cáncer de colon la sobreexpresión del HER2/neu parece tener significado adverso como indicador. Se busca que en los próximos años estos tumores que sobreexpresan el oncogén puedan ser tratados con modalidades anti HER2/neu como el Trastuzumab, combinado con otros agentes en pacientes con enfermedad avanzada, y posiblemente para individuos con alto riesgo de lesión. El objetivo del estudio fue relacionar la expresión del oncogén HER2/neu con factores clínico-patológicos en pacientes con cáncer de colon tratados en el Instituto de Oncología "Dr. Miguel Pérez Carreño" durante el período Enero 1995 hasta Diciembre 2002. Se realizó un estudio no experimental, transversal, de tipo descriptivo. La muestra fue intencional de acuerdo a los criterios de selección y estuvo constituida por 36 casos, a los que se les determinó la expresión del HER2/neu por técnica inmunohistoquímica sobre tejido tumoral incluido en parafina. El 70% de los casos pertenecieron al sexo femenino y de estos el 17% expresó el oncogén en forma moderada. El 22,2% se presentó clínicamente en forma aguda, y de estos el 5,6% inmunomarcó moderado. El 28% presentó un subtipo histológico mucinoso y de estos el 5,6% presentó inmunotinción moderada. En los casos con grado histológico III (11,1%) no hubo expresión del oncogén. En los pacientes en estadio patológico tumoral C (69,4%) el inmunomarcaje fue moderado en un 16,7% de los casos ($p=0,047$). La expresión del oncogén HER2/neu mediante técnica de inmunohistoquímica, se relacionó estadísticamente con el estadio patológico tumoral; sin guardar relación con otros parámetros clínico-patológicos en los pacientes portadores de cáncer de colon evaluados.

Palabras clave: Cáncer de colon, HER2/neu, inmunohistoquímica.

ABSTRACT

Relationship between HER2/neu oncogene expression and clinical-pathological factors in patients with colon cancer

In colon cancer overexpression of HER2/neu appears to have an adverse meaning as an indicator. It is intended that in the coming years these tumors that overexpress the oncogene forms can be treated with anti HER2/neu as Herceptin combined with other agents in patients with advanced disease, and possibly individuals at high risk of injury. The objective of this study was to establish the relationship between the expression of HER2/neu and clinical-pathological factors in patients with colon cancer treated at the Oncology Institute "Dr. Miguel Pérez Carreño" between January 1995 and December 2002. A non-experimental cross-sectional descriptive study was conducted. The sample was intentional according to the selection criteria and consisted of 36 cases. HER2/neu expression was determined by immunohistochemistry on paraffin-embedded tumor tissue. 70% of the cases were female, and of these 17% expressed the oncogene moderately. 22.2% were clinically acute, and 5.6% had moderate immunomarking. 28% showed a mucinous histologic subtype, and of these, 5.6% had moderate immunostaining. In cases with histological grade III (11.1%) no expression of the oncogene was present. In patients with pathological stage C tumors (69.4%) immunostaining was moderate in 16.7% of cases ($p = 0.047$). The expression of HER2/neu by immunohistochemistry is statistically associated with the pathological stage of a tumor; no association with other clinical-pathological parameters was found in the studied patients with colon cancer.

Key words: Colon cancer, HER2/neu, immunohistochemistry.

INTRODUCCIÓN

El cáncer es la segunda causa de muerte en Venezuela, registrándose en el año 2012 un total de 1.132 defunciones, sólo por cáncer de colon (1). El pronóstico de estos pacientes es malo, de manera que sólo el 55 por ciento de las personas que lo padecen permanecen libres de enfermedad a los 5 años, éste pronóstico se basa en criterios definidos por la clasificación Dukes y mejor expresados por el sistema de estadios TNM, el grado y tipo histológicos, presentación de la enfermedad como cuadro de obstrucción intestinal o perforación tumoral, la elevación preoperatoria del CEA, alteraciones genéticas específicas como mutaciones del p53, entre otras (2). Los tumores localmente avanzados (T4), perforados, obstructivos, mucinosos, pobremente diferenciados, con invasión linfática, perineural o vascular son considerados como una condición desfavorable (3,4).

En la búsqueda de desarrollar tratamientos más efectivos

¹Centro de Investigaciones Médicas y Biotecnológicas de la Universidad de Carabobo (CIMBUC). Valencia, Venezuela

²Departamento Clínico Integral del Sur. Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad de Carabobo. Valencia, Venezuela.

³Instituto de Oncología Dr Miguel Pérez Carreño. Valencia, Venezuela.

Autor de correspondencia: Glenda García.

E-mail: glen1gar@gmail.com

Recibido: 07/08/2014 **Aprobado:** 30/06/2015

y específicos contra el cáncer de colon, los investigadores se han centrado en el estudio de marcadores biológicos, que permitan predecir más acertadamente el beneficio terapéutico. Diversas sustancias tales como: oncogenes y sus productos, pueden ser reconocidos como marcadores tumorales (5).

El HER2/neu, también conocido como Cerb-B2, es un protooncogén, localizado en el cromosoma 17, el cual codifica una proteína de membrana que presenta una estructura similar al receptor del factor de crecimiento epidérmico que induce la proliferación y diferenciación celular. Las células normales tienen una baja expresión de este gen en la superficie de sus membranas plasmáticas. Existen algunos factores aún no bien conocidos que determinarían la alteración de este gen, ocasionando la sobreexpresión del mismo, produciendo mayor división y crecimiento celular y, en algunos casos, la transformación fenotípica cancerosa (6,7).

El estudio de esta alteración puede hacerse mediante análisis genético o el estudio de la proteína. El análisis del gen se realiza, en la mayoría de los casos, mediante técnicas de hibridación in situ (FISH) y el estudio de la proteína mediante técnicas cualitativas como la inmunohistoquímica (IHQ) (8).

La mayor acción carcinógena de la sobreexpresión del HER2/neu se ha demostrado en cánceres de mama, ovario y estómago donde constituye un factor pronóstico importante al estar asociado a una mayor agresividad tumoral, mayor tasa de recaídas y peor supervivencia (9,10). En el carcinoma colorrectal existen muchas dudas acerca del significado pronóstico de este oncogén, siendo muy variable el porcentaje de tumores colorrectales que lo sobreexpresan, con un rango que oscila entre 0% y 84% de los casos, lo cual refleja diferencias en el método y en la selección de los pacientes (6-8,11-18). Estudios han reportado asociación entre la sobre-expresión del HER2/neu y estadios patológicos tumorales (11-13,15-18). En algunas series está asociado con el grado de diferenciación histológica tumoral (11-14,18). En otras existen controversias en la relación con el tipo histológico (8,12,16). No se encontró asociación entre la sobreexpresión del oncogén y el sexo en las investigaciones revisadas (8,12,13,16,17). La mayoría de estos estudios no han sido consistentes en concluir la correlación entre la expresión del HER2/neu y los factores clínico-patológicos (18).

Los conocimientos adquiridos sobre la biología del cáncer están permitiendo obtener mecanismos más específicos de ataque con la consiguiente disminución de los efectos tóxicos, adicionándose al arsenal terapéutico oncológico el uso de anticuerpos monoclonales dirigidos contra receptores de superficie como el HER2/neu (11,19). Es así como en los últimos años el Trastuzumab, un anticuerpo monoclonal dirigido contra la oncoproteína HER2/neu ha sido desarrollado, siendo su uso aprobado por el organismo

regulador de la administración de drogas y medicamentos de los Estados Unidos (FDA) como tratamiento para pacientes con cáncer de mama en estadio final y tumores HER2/neu positivos. El resultado de este tratamiento es una reducción de las células tumorales que entran en fase S del ciclo celular, inhibición del crecimiento celular y reducción de la producción de factor de crecimiento endotelial (antiangiogénesis) (8,19).

Se busca que en los próximos años los tumores que sobreexpresen el oncogén puedan ser tratados con modalidades anti HER2/neu tales como el Trastuzumab, en combinación con otros agentes en pacientes con enfermedad avanzada, y posiblemente para individuos con alto riesgo de lesión (8, 11,19).

El objetivo de la investigación fue relacionar la expresión del oncogén HER2/neu y factores clínico-patológicos en pacientes con cáncer de colon.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó un estudio basado en un diseño no experimental, transversal, de tipo descriptivo y retrospectivo. La población estudiada estuvo constituida por 120 pacientes, de ambos sexos que fueron tratados en el Instituto de Oncología "Dr. Miguel Pérez Carreño", con diagnóstico confirmado de adenocarcinoma de colon, durante el período 1995-2002. La muestra de 36 pacientes correspondió al 30% de la población estudiada; quedando seleccionada de manera intencional, de acuerdo a los siguientes criterios de inclusión:

1. Pacientes con diagnóstico anatomopatológico de carcinoma de colon, tratados en el Instituto de Oncología "Dr. Miguel Pérez Carreño"; durante el período estipulado.
2. Disponibilidad del tejido tumoral en bloque de parafina en buen estado para su procesamiento.

Criterios de exclusión: Se excluyeron aquellos pacientes que presentaban segundas neoplasias primarias.

Se realizó el análisis de la expresión del marcador HER2/neu por técnica inmunohistoquímica y se relacionó con una serie de factores clínico- patológicos conocidos (sexo, presentación clínica inicial en forma de cuadro agudo, subtipo histológico tumoral mucinoso, nivel de antígeno carcinoembrionario prequirúrgico, estadio patológico y grado histológico tumoral), obtenidos a través de la revisión de historias del archivo médico del centro, previa aprobación del comité de bioética de la institución. Al momento del estudio, con los datos de las historias, no fue posible ubicar pacientes vivos que dieran el consentimiento informado para el estudio de las muestras tisulares de la neoplasia, de acuerdo a las normas para la investigación en muestras biológicas humanas(20).

Para la determinación de la expresión del HER2/neu se utilizaron los bloques de parafina de las muestras

histológicas tumorales archivadas en el servicio de Anatomía Patológica de la Institución, siendo procesados por el método biotina-estreptavidina peroxidasa y como cromógeno, la diaminobencidina(21). El procesamiento del bloque de tejido y el marcaje inmunohistoquímico se realizó en la Unidad de Anatomía Patológica del Hospital Metropolitano del Norte en Valencia.

Para determinar la expresión de la proteína HER2/neu, se realizaron cortes de 3 micras de todos los tejidos, que fueron colocados en portaobjetos de vidrio pretratados con poly-L-lisina. Se desparafinaron, luego se colocó peróxido de hidrógeno para inhibir la peroxidasa endógena. Previa aplicación de bloqueador de proteínas inespecíficas, se determinó la expresión del HER2/neu utilizando el Kit-5206-con anticuerpo de conejo contra la proteína HER2 humana, diluido a 0,05 mol/L. Se evaluó la intensidad y patrón de coloración de la membrana citoplasmática, a través de un microscopio de luz y los resultados se expresaron en una escala semicuantitativa en cruces y porcentajes, según el manual de interpretación del HercepTest (21), donde corresponde:

Cero: cuando la membrana no se coloreó o la coloración fue en menos del treinta por ciento de las células tumorales.

Una cruz (+): una coloración leve en parte de la membrana, en más del treinta por ciento de las células tumorales.

Dos cruces (++) : cuando se observó una coloración débil a moderada en toda la membrana en más del treinta por ciento de las células tumorales.

Tres cruces (+++) : cuando la coloración fue fuerte en toda la membrana en más del treinta por ciento de las células tumorales.

A efecto de interés clínico, cero y una cruz fueron considerados negativos mientras que dos y tres cruces fueron considerados como positivos.

Para el análisis e interpretación de los resultados, los datos fueron procesados mediante el paquete informático SPSS-V10. Distribuyéndose los resultados en tablas de contingencias bidimensionales tipo 2X2, presentándose con sus respectivos gráficos. La asociación de las variables se analizó con la prueba de Chi², corregida mediante la razón de verosimilitud al encontrar frecuencias esperadas menores a 5. Se consideró significativo cuando el valor de p fue menor de 0,05.

RESULTADOS

Se evidenció que la edad mínima de los pacientes estudiados fue 29 años y la edad máxima 93 años con una media de edad de 57,17 años. Predominó el género femenino con 25 casos (69,4%) sobre el masculino con 11 casos (30,6%). Las características clínico-patológicas de los pacientes se observa en la Tabla 1.

Tabla 1. Características clínico-patológicas de los pacientes con cáncer de colon.

Características clínico-patológicas		n	%
Presentación clínica inicial aguda	Si	8	22,2
	No	28	77,8
Subtipo histológico mucinoso	Si	10	27,8
	No	26	72,2
Grado histológico	I	16	44,4
	II	16	44,4
	III	4	11,1
*CEA prequirúrgico	No realizado	6	16,7
	Normal	15	41,7
	Elevado	15	41,7
Estadio patológico tumoral	Dukes A	0	0
	Dukes B	3	8,3
	Dukes C	25	69,4
	Dukes D	8	22,2

*CEA: Antígeno carcinoembrionario

El marcaje inmunohistoquímico para Her2/neu fue positivo en el 22,2% de los casos estudiados, los cuales presentaron una inmunotinción en forma moderada (Tabla 2).

Tabla 2. Expresión del HER2/neu en pacientes con cáncer de colon.

Expresión de HER2-neu	n	%
Leve	20	55,6
Moderado	8	22,2
Negativo	8	22,2
Total	36	100

Al relacionar la expresión del HER2/neu con el sexo de los pacientes estudiados se evidenció que un 69,4% corresponden al sexo femenino, de los cuales el 16,7% presentó un inmunomarcaje moderado, mientras que el restante 52,8% no expresó el oncogén. El 30,6% correspondió al sexo masculino, presentando el 5,6% inmunomarcaje moderado, y el restante 25% no expresó el oncogén. Sin embargo esta relación no fue estadísticamente significativa ($p = 0,809$). En cuanto a la relación entre la forma de presentación clínica inicial del paciente, tomando en cuenta si el cuadro fue agudo por obstrucción o perforación, encontramos que el 5,6% de los pacientes que presentaron un cuadro clínico inicial agudo y el 16,7% de los que presentaron un cuadro clínico crónico expresaron un inmunomarcaje moderado. ($p = 0,128$) (Figura 1).

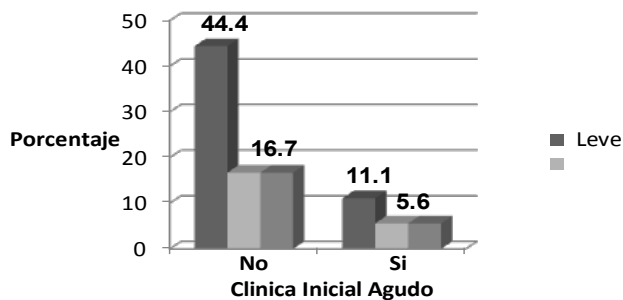


Figura 1. Relación de la expresión del HER2/neu y la presentación clínica inicial agudo.

Los pacientes con estadio patológico tumoral C presentaron un inmunomarcaje moderado en un 16,7% de los casos. El 22,2 % se encontró en estadio D y de ellos ninguno expresó positivamente la proteína. El restante 8,3% presentó un estadio B, de los cuales el 5,5% presentó inmunomarcaje moderado, lo cual no presentó significación estadística ($p=0,047$) (Tabla3).

Expresión de HER2-neu	Estadio Patológico Tumoral							
	B		C		D		Total	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Leve	1	2,8	15	41,7	4	11,1	20	55,6
Moderado	2	5,5	6	16,7	0	0	8	22,2
Negativo	0	0	4	11,1	4	11,1	8	22,2
Total	3	8,3	25	69,4	8	22,2	36	100

Los resultados del antígeno carcinoembrionario (CEA) preoperatorio se encontraron distribuidos uniformemente entre elevados y normales (41,7% respectivamente). Al relacionar la expresión inmunohistoquímica del HER2/neu con éste marcador tumoral encontramos que de los 15 casos con niveles de CEA elevados solo el 2,8% presentó un inmunomarcaje moderado, el 38,9% se consideró negativo para la expresión del Her2/neu. De los 15 pacientes con CEA normal el 16,7% presentó inmunomarcaje moderado. ($p =0,061 >0,05$)

En cuanto al tipo histológico tumoral, el 5,6% de los casos con un subtipo histológico mucinoso y el 16,7% de los adenocarcinomas convencionales fueron positivos al inmunomarcaje moderado. ($p =0,793$) (Figura 2).

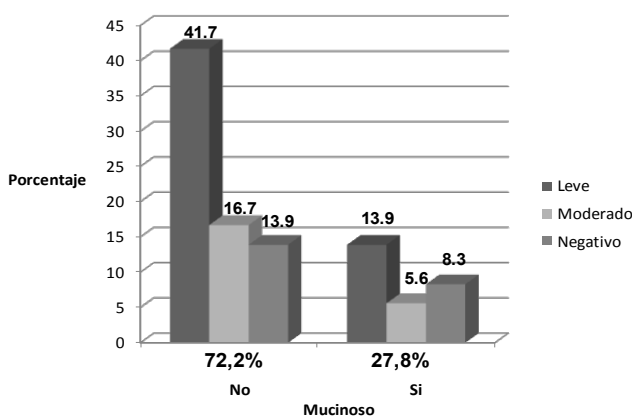


Figura 2. Relación de la expresión del HER2/neu y el subtipo histológico mucinoso.

En la tabla 4 se evidenció que tanto los tumores con grado histológico bien diferenciado (I) como los moderadamente diferenciados (II) presentaron un inmunomarcaje moderado en el 11% de los casos, respectivamente, mientras que en los tumores con grado histológico poco diferenciado (III) no se observó expresión del oncogén (2,8% marcaje leve y 8,3% marcaje cero), ($p =0,144$).

Tabla 4. Relación entre la expresión de HER2/neu y el grado histológico tumoral.

Expresión de HER2-neu	Estadio Patológico Tumoral							
	I		II		III		Total	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Leve	9	25	10	27,8	1	2,8	20	55,6
Moderado	4	11,1	4	11,1	0	0	8	22,2
Negativo	3	8,3	2	5,6	3	8,3	8	22,2
Total	16	44,4	16	44,5	4	11,1	36	100

DISCUSIÓN

El HER2/neu codifica un receptor tirosin-kinasa con una mutación en su región transmembrana lo que permite la asociación de múltiples receptores protéicos en la ausencia de un ligando, generando de ese modo una activación continua y una señalización inapropiada. La sobreexpresión del HER 2/neu en pacientes con cáncer de colon puede significar eventos moleculares importantes en su carcinogénesis y altos niveles de HER 2/neu podría hacerla un buen objetivo para inmunoterapia basada con anticuerpos monoclonales. Se han desarrollado diversos anticuerpos monoclonales contra este receptor de superficie, siendo el más activo al Ac 4D5, cuya versión humanizada es el Trastuzumab (4,5,13).

Diversos estudios del oncogén HER2/neu se han realizado en tumores de colon, determinando la sobreexpresión protéica mediante técnicas de inmunohistoquímica, pero parece que no existe un criterio unificado entre los autores al considerar la positividad de la sobreexpresión del oncogén lo cual hace que su porcentaje sea variable.(12-16). En este estudio, la sobreexpresión fue positiva en el 22,2% de la muestra, lo cual se corresponde a un estudio nacional realizado en el Hospital Oncológico Padre Machado y el Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Vargas de Caracas (18) donde se evaluaron 28 pacientes con cáncer de colon, y la sobreexpresión fue de 28,57%; siendo también comparable a resultados obtenidos en la literatura internacional con rangos que oscilan entre 15 y 80% (7,11-16,18), sin embargo otros investigadores han descrito baja frecuencia de sobreexpresión, entre 0 y 8% (6,8,17). Muchos factores pueden afectar las tasas positivas de IHC, tales como la diferentes técnicas de fijación de los tejidos tumorales, el almacenamiento de los bloques de parafina, la recuperación de antígenos, y uno de los principales factores es la variedad de los anticuerpos (8,14). El kit HercepTest™ (Dako) es el único anticuerpo recomendado por la FDA para HER-2 examen/neu. Diferentes anticuerpos pueden dar lugar a resultados diferentes. Por otra parte, la inmunohistoquímica es un método semicuantitativo y puede ser fácilmente influenciado por la percepción subjetiva de los investigadores, siendo además los patrones de tinción para definir la sobreexpresión variables (citoplasmática/membranosa /ambos) (14).

Al relacionar la expresión del HER2/neu con el sexo de los pacientes estudiados se evidenció que un 69,4% correspondieron al sexo femenino, de los cuales el 52,8% no expresó el oncogén, siendo esta relación estadísticamente no significativa. En concordancia con nuestros resultados un estudio de la Universidad de Atenas evidenció en 51 pacientes portadores de cáncer de colon, una frecuencia de 65% en el sexo femenino, de los cuales el 65,3% no sobreexpresó el oncogén (17). Concuere además, en la independencia de variables, con otras investigaciones internacionales (8,12,13,16,17).

La presentación clínica del cáncer de colon es considerado un factor pronóstico, así los pacientes que debutan con obstrucción y perforación evolucionan desfavorablemente (2,3). De los pacientes evaluados, el 22% se presentó con un cuadro clínico inicial agudo (obstrucción o perforación) y de estos encontramos que el 5,6% de los pacientes expresaron un inmunomarcaje moderado. Al relacionarse esta condición con la expresión del oncogén no fue estadísticamente significativo. No se encontró antecedentes referentes a ésta relación.

El estadio clínico de la enfermedad es factor fundamental para pronosticar la evolución del cáncer de colon (2). El grupo de pacientes evaluados, en este estudio, se presentaron en estadios avanzados al momento del diagnóstico. El 16,7% de los estadios C expresaron el oncogén en forma moderada. De los estadios B la mayoría expresó el oncogén. No hubo casos en estadio A. Los estadios D ninguno expresó el oncogén, lo cual puede deberse al tamaño de la muestra, factores inherentes al almacenaje de los bloques o variables técnicas de la Inmunohistoquímica (13). Resultando la relación entre estas variables estadísticamente significativa, lo cual es controversial al relacionarlo con la literatura, estudios nacionales e internacionales concuerdan con esta relación (11- 13,16,18). En un estudio realizado en el hospital Universitario Wuhan, se reportó que de 192 pacientes chinos evaluados, se encontró en forma estadísticamente significativa relación entre sobreexpresión y estadios tumorales, siendo positivo el 13% de los tumores estadios Dukes A, 26% de los B, 37% de los C y 44% de los estadios D (13). Mientras que otras series reportan independencia entre ambas variables, como estudios reportados en Atenas, China e Irak (7,8,15,17).

El antígeno carcinoembrionario (CEA) sigue siendo el prototipo del marcador de tumores sólidos. Su determinación pre-operatoria constituye un estudio no invasivo clínicamente útil en el manejo del cáncer colo-rectal.(4) De tal forma que altas tasas de este marcador antes de la cirugía (CEA) en suero ($> 5,0$ ng / ml) constituyen un factor de mal pronóstico, independiente de la etapa TNM (5). En este trabajo se evidenció que casi la mitad de los pacientes reportaron niveles elevados preoperatorios de CEA y al relacionar estos casos con la expresión del oncogén se evidenció que sólo pocos casos presentaron un inmunomarcaje moderado (2,8%). No siendo este resultado estadísticamente significativo.

El adenocarcinoma mucinoso representa el 17% de los carcinomas colorrectales y se caracteriza por la acumulación de mucina en el espacio extracelular, presenta un peor pronóstico que los no mucinosos. Un subtipo de este tumor especialmente agresivo es el adenocarcinoma de células en "anillo de sello", con la típica acumulación de mucina intracitoplasmática que desplaza el núcleo a un extremo de la célula (4). En este estudio, el 28% de los pacientes presentó un subtipo histológico mucinoso, de los cuales sólo un pequeño porcentaje (6%) expresó el oncogén y de forma moderada. Difiere de estudios del Hospital Universitario Dalian, en China donde encontraron que de 91 casos, el 18% eran portadores de cáncer de colon subtipo mucinoso, y de ellos el 78% expresó el oncogén (16). Mientras que investigaciones del Hospital Universitario de Wenzhou, en China, evidenció que de 91 pacientes evaluados, 7 presentaron cáncer de colon mucinoso, de los cuales 3 eran en anillo de sello, los cuales ninguno sobreexpresó el oncogén (8). La correlación de estas variables en el presente estudio no tuvo significancia estadística lo cual se correspondió con otras investigaciones internacionales (12,14).

El grado histológico del tumor influye significativamente en la supervivencia del paciente con cáncer de colon independientemente del estadio (3,4). Algunos estudios lo relacionan en forma estadísticamente significativa con la sobreexpresión del Her2neu (11-14,18).Describiendo un Centro de Investigación de la India, positividad en el 68,75% de los tumores con grado histológico bien diferenciado (GI), 53,84% de moderadamente diferenciados (GII) y en el 100% de los tumores con grado histológico poco diferenciado (GIII) (14). Difiendo del presente estudio donde se evidenció que de los tumores que presentaron un inmunomarcaje moderado, estos se distribuyeron uniformemente entre los tumores bien y moderadamente diferenciados, mientras que en los indiferenciados no se observó expresión del oncogén. No siendo la relación entre estas variables estadísticamente significativa, lo cual se correlaciona con 4 investigaciones internacionales (7,8,16,7).

En conclusión en el presente estudio la expresión del oncogén HER2/neu, mediante técnicas de inmunohistoquímica, se relaciona desde el punto de vista estadístico en forma significativa con el estadio patológico tumoral, sin embargo, no se demostró relación entre este oncogén y otros parámetros clínico-patológicos, como el sexo, la forma de presentación clínica inicial, la elevación del CEA preoperatorio, el subtipo histológico y el grado histológico tumoral.

REFERENCIAS

1. Ministerio del Poder Popular para la Salud. Anuario de Mortalidad 2012. Rep. Bolivariana de Venezuela: MPPPS; 2014.
2. Aquino-Pérez S, Sobrino-Cossio S, Hernández-Guerrero A, De La Mora-Levy J, Alonso-Lárraga J. La obstrucción como factor pronóstico en el cáncer colorrectal. Rev. Med Hosp Gen Mex 2010; 73: 16 – 22.

3. Zúñiga A, López-K F, Boza C, Zúñiga A, Rahmer A, Oyarzún C, et al. Análisis uni y multivariado de los factores pronósticos en cáncer de colon .Rev. Chil Cir 2005; 57: 143-8.
4. Vasile L, Olaru A, Munteanu M, Pleşea I, Şurlin V., Tudoraşcu C. Prognosis of colorectal cancer: clinical, pathological and therapeutic correlation. Rom J Morphol Embryol 2012; 53:383–91.
5. Cogeta J, Borrinib F, Susmanc S, Sabourina J. Colorectal carcinomas in 2014: The search for powerful prognostic markers is still on the go!. Cancer Biomarkers 2014; 14: 145–50.
6. Heppner I, Behrens H, Balschun K, Haag j, Krüger S, Becker T, Röcken C. HER2/neu testing in primary colorectal carcinoma. British Journal of Cancer 2014; 11: 1977-84.
7. Abas Al-Temimi Sh, HER-2/neu Expression in Colorectal Carcinoma and its Correlation with Pathological Parameters by Immunohistochemistry. M.J.B. Journal 2014; 8: 12-8.
8. Song Zh, Deng Y, Zhuang K, Li A, Liu S. Immunohistochemical results of HER2/neu protein expression assessed by rabbit monoclonal antibodies SP3 and 4B5 in colorectal carcinomas. Int J Clin Exp Pathol 2014;7 :4454-60.
9. MC Neil C. Using HER2 to Choose Chemotherapy in Breast Cancer: Is it ready for the Clinic? JNCI J Natl Cancer Inst. 1999; 2: 110-12.
10. Shan L, Ying J, Lu N .HER2 expression and relevant clinicopathological features in gastric and gastroesophageal junction adenocarcinoma in a Chinese population. Diagnostic Pathology 2013, 8:76-83.
11. Farzand S, Siddique T, Saba K, Hussain M. Frequency of HER2/ neu overexpression in adenocarcinoma of the gastrointestinal system. World J Gastroenterol 2014; 20: 5889-96.
12. Ghaffar zadegan K, Sharifi N, Vosooghynia H, Shakeri T, Ghiasi, Ghanad Sh, et al. HER-2/neu expression in colon adenocarcinoma and its correlation with clinicopathologic variables. IJBMS 2006; 9: 64-9.
13. Deng W, Dong W, Zhan N, Liao F, Wu H. Human epidermal growth factor receptor (HER-2/neu) expression and gene amplification in colorectal cancer. African J Biotech 2011; 74:16732-39.
14. Manmeet K, Kalpana J, Mridu M, Tanveer K. Expression of HER-2/neu in colon carcinoma and its correlation with the Histological Grades and the Lymph Nodes Status. J Clin Diag Res.2011; 5:1564-68.
15. Qingguo LI, Daorong W, Jing LI , Ping CH. Clinicopathological and prognostic significance of HER-2/neu and VEGF expression in colon carcinomas. Cancer 2011; 11:277-80.
16. Jin J, Che Y, Wang Q, Liu F, Li M, Wang L, et al. The expression of HER-2/neu gene in colon cancer tissues and its clinical significance. The Chinese-German Journal of Clinical Oncology 2013; 12: 492-97.
17. Pappa,A., Lagoudianakis E, Seretis C, Tsiambas E., Koronakis N., Toutouzas K, et al. Clinical role of HER-2/neu expression in colorectal cancer J BUON 2013; 18: 98-104.
18. Peña J, Briceño J, Parada D, Medina S, Pezzetti L, Rodríguez A. C-erbB-2 correlación con pronóstico y sobrevida en el adenocarcinoma de colon. Rev. venez. oncol. 2007; 19: 20-9.
19. Li Ch, Liu D, Ye L, Huang L, Jaiswal S, Li X, et al. HER-2 overexpression and survival in Colorrectal cancer: a meta-analysis. Biomed & Biotechnol 2014; 15:582-89
20. Ministerio del Poder Popular para Ciencia, Tecnología e Industrias Intermedias. Código de Ética para la vida. Rep. Bolivariana de Venezuela: MPPCTII; 2011.
21. Montero C. Manual teórico práctico de técnicas inmunohistoquímicas. México: Editorial Universitaria Potosina; 1998.
22. Espinoza F, Thompson J. HercepTest: Manual de interpretación. USA: DakoCytomation; 2005.