

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE NICARAGUA  
UNAN LEÓN  
FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS**



**Receptores hormonales Estrógeno y Progesterona, expresión de p53 y Ki67  
en pacientes diagnosticadas con cáncer de mama, en el  
Hospital Escuela Oscar Danilo Rosales Argüello (HEODRA) de León.**

**TESIS PARA OPTAR AL TITULO DE  
MASTER EN BIOQUÍMICA CLÍNICA**

**Autor:  
Dra. Emérita Mercedes Berríos Bárcenas MD.  
Patóloga**

**Tutor:  
Dr. Edgard Orozco Vallecillo MD.  
Patólogo**

**Lic. Edel María Paredes MSc.  
Bióloga**

León, Nicaragua. Enero 2003.

## DEDICATORIA

A Dios. Por la creación, por los dones y gracias concedidas.

A mis Padres: Edilberto Berríos Roque y Alicia Bárcenas Moraga (qepd) quienes fueron mis mejores maestros, formándome los valores e inculcando principios que me ayudarían a salir adelante y a ser persona integral.

A mis hermanos: Karla, Sara, Fátima, Julissa y Vernnon, amigos y compañeros incondicionales, quienes han estado junto a mi, demostrando siempre el gran amor que me tienen.

A mi querida hija Harriet Betania Gaitán Berríos mi gran motivo para superarme día a día.

A mis amigos que siempre me han apoyado y confiado en mí como mujer y profesional.

A mis pacientes que aún sin conocerlos me han forjado por el camino de las ciencias médicas

Con mucho cariño

*Dra. Emérita Mercedes Berríos Bárcenas.*

## **AGRADECIMIENTO**

Agradezco:

A mi familia por haberme apoyado siempre

A mis pacientes que sin ellos este fruto no se hubiese logrado.

A mis maestros por sus enseñanzas y consejos.

A mis tutores, por todo su apoyo y conducción.

Al personal de laboratorio de Patología

A Sofía y Antonio del departamento de Patología, quienes colaboran siempre.

A doña María sin ella el trabajo de laboratorio no sería posible.

A la Lic. Carmen Caballero quien paciente y tolerante cooperó con esta producción.

A todos los que pueda olvidar y me brindaron su ayuda incondicional en la realización de este trabajo.

Gracias:

*Dra. Emérita Mercedes Berríos Bárcenas.*

## INDICE

Resumen	1
Objetivos	3
Introducción	4
Diseño metodológico	18
Resultados	25
Análisis y discusión de los resultados	27
Conclusiones	32
Recomendaciones	33
Bibliografía	34
Anexos	36



## RESUMEN

Los marcadores monoclonales para Inmunohistoquímica son ampliamente usados con diferentes fines como para clasificar tumores indiferenciados, valorar pronóstico de pacientes.

En Nicaragua por su alto costo no se emplean como tinciones de rutina, el cáncer de mama continua siendo el principal cáncer que afecta a las mujeres y produce altas tasas de mortalidad y morbilidad. En este trabajo nos planteamos realizar tinciones con Inmunohistoquímica y valorar la relación entre estos marcadores y los factores pronósticos de las pacientes, su relación con el tipo histológico y características del tumor.

Realizamos un trabajo descriptivo de corte trasversal, a las biopsias realizadas en el departamento de Patología del HEODRA León, en las que se usó la técnica de la parafina y tinción de Hematoxilina Eosina para el diagnóstico histopatológico, se seleccionaron 10 casos cuyo diagnóstico fuese Cáncer de mama, a estos se les realizó tinciones con inmunohistoquímica usando receptores hormonales Estrógeno y Progesterona y marcadores p53 y Ki 67. Encontrando que de las 10 biopsias, las pacientes oscilan en las edades de 37 a 78 años, las biopsias fueron 6 incisionales y 4 mastectomías, las masas tumorales oscilaron entre los 1.7cms y los 7cms de Dm. El diagnóstico histológico correspondió 1 carcinoma indiferenciado, 1 carcinoma lobular infiltrante, 1 carcinoma canalicular infiltrante recurrente, 3 carcinomas in situ, 4 carcinomas canaliculares infiltrantes. Al aplicar las tinciones de Inmunohistoquímica resultaron que los casos de carcinoma in situ 2 fueron positivos para receptores hormonales y negativos para marcadores de proliferación y expresión p53, correspondiéndose con un buen pronóstico tanto por clínica como por resultados de marcadores. Los 6 casos de carcinoma infiltrante y recurrente resultaron positivos para Ki67 y p53, únicamente en 3 casos positivos para receptores hormonales es decir que estos con un pronóstico más favorable que los otros con resultados positivos para Ki67 y p53, la clínica de estas pacientes se corresponde con el comportamiento agresivo y la recurrencia. En estos casos de positividad a receptores hormonales la terapia se orienta y es de gran ayuda en el manejo de la paciente.

La importancia de realizar a las biopsias con Cáncer de mama marcadores hormonales y de proliferación celular, es que de esta forma se ayuda más con el pronóstico orientando la terapia. En importante por tanto la instauración de un laboratorio equipado con marcadores inmunohistoquímicos ya que sería de gran provecho tanto para la población como para la comunidad médica, ahorrando tiempo y recursos.

## **OBJETIVOS**

### **OBJETIVO GENERAL:**

Determinar la presencia de receptores hormonales estrógeno y progesterona así como marcadores de proliferación celular Ki67 y p53, en biopsias de pacientes con carcinoma de mama.

### **OBJETIVOS ESPECÍFICOS:**

1. Relacionar los aspectos clínicos de las pacientes con carcinoma de mama y su pronóstico.
2. Relacionar los receptores hormonales y los marcadores de proliferación celular con el pronóstico clínico de las pacientes.
3. Correlacionar el tipo histológico de carcinoma de mama con la presencia de receptores hormonales y marcadores de proliferación celular.



## INTRODUCCIÓN

La patología quirúrgica se desarrollo desde los tiempos de Velpau, famoso profesor de clínica quirúrgica en Paris desde 1853 a la fecha grandes avances se han dado en este campo al inicio se contaba con estudios macroscópicos, luego el microscopio revoluciono, a la fecha el microscopio electrónico se utiliza ampliamente, a la par que el microscopio se ha desarrollado ha aparecido las tinciones y sus técnicas para la visualización al microscopio de los tejidos y células, estas técnicas han incorporado marcadores al inicio fluorescentes ya ahora más específicos marcadores monoclonales con una reacción antígeno anticuerpo haciendo la técnica más sensible y más específica, esto es lo que ha aportado al inmunohistoquímica a la Patología quirúrgica. (1)

Para confirmar un paciente sospechoso de cáncer se debe realizar, toma de biopsia, examen histológico, el tejido fresco debe ser manejado adecuadamente, para poder realizar exámenes complementarios, tales como tinciones histoquímicas, microscopía electrónica, tinciones con inmunohistoquímica, el manejo de estos tejidos deben ser adecuados para poder realizar las técnicas especiales.

La decisión acerca del tejido a biopsiar es básica para un eficiente y seguro diagnóstico. Para realizar una biopsia se debe considerar el estado médico del paciente, el tamaño de la lesión, la localización, cantidad de tejido requerido para realizar la biopsia, la variedad de biopsias y procedimientos se usan para confirmar el diagnóstico de cáncer. Una vez que se ha diagnosticado el cáncer se pueden desarrollar otras técnicas para ayudar al manejo del paciente el patólogo utiliza; tinciones especiales, microscopía electrónica, tinciones de inmunohistoquímica. Estas técnicas se usan para caracterizar los tumores y clasificarlos, sobre todo cuando son indiferenciados, en algunos casos se usan para un mejor manejo del paciente tal es el caso de los receptores hormonales estrógeno y progesterona en el caso del cáncer de mama y los marcadores de proliferación tumoral Ki67 y p53 que permiten valorar proliferación y actividad tumoral. (2)

Al inicio muchos de estos anticuerpos se usaron experimentalmente, pero con el desarrollo de la técnica se han usado para detectar tumores, su relativa especificidad y sensibilidad han sido determinante en el hecho de permitir la clasificación de tumores que con microscopio óptico y tinciones convencionales no se logran clasificar. El uso de anticuerpos monoclonales epiteliales, hormonales, receptores de estrógeno y componentes del tejido mesenquimal determinan el origen de ciertos tumores. Además el hecho de marcadores para linfocitos y otros antígenos del tejido hematopoyético permiten clasificar tumores altamente indiferenciados. (1)

La técnica de anticuerpos monoclonales se ha agregado a la batería de diagnóstico con que trabajan los laboratorios de Patología, esto ha resuelto problemas tales como determinar origen del tumor, presencia de metástasis, lesiones pobremente diferenciadas, lesiones similares morfológicamente pero que requieren diferente terapéutica tales como linfoma de células grandes y carcinoma pobremente diferenciado, el estudio de los casos con estos anticuerpos debe ser cuidadoso para hacer una interpretación adecuada, además que siempre debe ir acompañado con el análisis clínico y los exámenes de rutina usados en patología. (1)

El cáncer de mama es el tumor maligno más común y la principal causa de muerte, en las mujeres a nivel mundial, se presenta en aproximadamente 143,000 casos cada año, y aproximadamente 30,000 mueren por esta causa, en los hombres se presenta en menos del 1 % de los casos, en los últimos años reporta un incremento en la incidencia de acuerdo a registros poblacionales, el diagnóstico con métodos como la mamografía ha permitido que se detecte en estadios tempranos cuando la lesión mide menos de 2 cm. o se encuentre in situ, sin embargo no es significativo la disminución en la mortalidad. (2, 3)

*Se mencionan factores de riesgo para este cáncer tales como*

1. Nacida en ciudades como Norte América, Norte de Europa, ciudades de Latinoamérica.
2. Historia familiar, antecedentes en primer grado de consanguinidad aumenta el riesgo.
3. Historia menstrual y reproductiva, menor incidencia en mujeres que han tenido hijos antes de los 18 años, que han lactado, en edad perimenopáusicas, que han sido ooforectomizadas, esto disminuye el riesgo en algún porcentaje.
4. Antecedentes de enfermedad fibroquística e hiperplasia epitelial.
5. Estrógenos exógenos.
6. Agentes contraceptivos.
7. Radiaciones ionizantes.
8. Mamoplastías de aumento.

(2, 3)

**Factores pronósticos:**

(3, 14)

1. Edad menor de 50 años, mejor pronóstico.
2. Embarazo pobre pronóstico
3. Uso de contraceptivos orales, no convincente con el pronóstico
4. Diagnóstico temprano buen pronóstico.
5. Presencia o ausencia de invasión los tumores que infiltran la piel o el músculo esquelético se asocian con frecuencia a afección de órganos a distancia de forma simultánea o subsiguiente. Con la introducción de pruebas de detección de cáncer de mama la frecuencia de estos casos ha disminuido y en la actualidad son raros como presentación inicial.
6. Tamaño del tumor más del 98 % de las mujeres con tumores menores de 1 cm sobreviven durante 5 años. Más del 96 % de las mujeres con tumores menores de 2 cm y sin metástasis sobreviven durante el mismo período de tiempo. Sin embargo, los tumores muy pequeños también pueden ser capaces aunque en raras ocasiones de producir metástasis a distancia
7. Sitio anatómico.
8. Tipo de citoarquitectura. Bien relacionado con el pronóstico. Subtipo histológico, la supervivencia a los 30 años de mujeres con tipos especiales de carcinomas infiltrantes (tubular, coloide, medular, lobulillar y papilar) es superior al 60 %, en comparación con la tasa menor del 20 % en las mujeres con carcinomas convencionales (carcinomas ductales) Los carcinomas tubular y coloide presentan un pronóstico excepcionalmente bueno, si el tumor no tiene un tipo histológico puro o si existen otros factores de mal pronóstico como tamaño tumoral grande, grado nuclear alto o la afectación de ganglios linfáticos, el pronóstico favorable se reduce o desaparece.

9. Grado tumoral el sistema de gradación tumoral que se usa es el sistema modificado de Bloom y Richardson combina el grado nuclear con la formación de túbulos y el índice mitótico. Más del 80 % de las mujeres con tumores Grado I sobreviven 16 años, mientras que menos del 60 % de la mujeres con tumores de Grado II y III sobrevive durante el mismo período de tiempo. En ciertos estudios a gran escala se ha sugerido que el índice mitótico por sí mismo puede tener tanto valor predictivo como el sistema de gradación tumoral completo.
10. Márgenes quirúrgicos.
11. Necrosis asociado con el grado histológico.
12. Reacción estromal cuando no hay inflamación mejor pronóstico.
13. Angiogénesis.
14. Elastosis mayor componente elástico disminuye la respuesta a la terapia hormonal.
15. CEA no relacionado con el pronóstico
16. Vimentina pobre pronóstico
17. Cathepsina D no interfiere en el valor pronóstico
18. C - erb – B – 2 (neu/HER – 2) pacientes con sobre expresión muestran respuesta a la quimioterapia.
19. p53 y nm23 menor expresión de nm23 pobre pronóstico. Expresión de p53 pobre pronóstico.
20. Bcl – 2 gran sobrevida. Correlación con receptores estrogénicos.
21. Receptores para estrógeno y progesterona entre el 50 y el 85 % de los tumores de mama presentan receptores estrogénicos y estos tumores se observan en mujeres

postmenopáusicas. El 70 % de estos tumores con positividad para receptores estrogénicos regresan tras la manipulación hormonal, mientras que solo el 5 % de los tumores negativos presentan esta respuesta. Las tasas más elevadas de respuesta se observan en pacientes cuyos tumores presentan receptores para estrógeno y progesterona. Los carcinomas con niveles elevados de receptores hormonales muestran un pronóstico ligeramente mejor que aquellos que carecen de receptores.

(3, 14)

Para valorar el grado microscópico en el cáncer de mama es importante la arquitectura y la citología. El grado valora.

1. Formación tubular
2. Pleomorfismo celular
3. Actividad mitótica

Grado microscópico de carcinoma de mama Nottingham, modificación de Bloom – Richardson System.

Grados

- I 3 – 5 puntos
- II 6 – 7 puntos
- III 8 – 9 puntos

Formación tubular

- 1 punto Formación tubular en > 75 % del tumor.
- 2 puntos Formación tubular entre 10 – 75 % del tumor.
- 3 puntos Formación tubular entre < 10 del tumor.

Pleomorfismo nuclear

- 1 punto Núcleo con mínima variación en tamaño y forma.
- 2 puntos Núcleo con moderada variación en tamaño y forma
- 3 puntos Núcleo con marcada variación en tamaño y forma.

Conteo mitótico

1, 2, 3

Contadas únicamente en la periferia del tumor en campo de 10.

(3)

El diagnóstico del cáncer de mama se realiza por palpación cuando el tumor es palpable, también la evaluación de nódulos linfáticos axilares palpables este método de palpación

clínica no es sensible ya que da un alto porcentaje de lesiones benignas que se deben confirmar siempre con diagnóstico microscópico.

La mamografía, detecta tumores extremadamente pequeños de 1 ó 2 mm. Cuando hay calcificación esta se presenta en el 50 a 60 % de los casos de carcinoma y solo en el 20 % de casos benignos, la mamografía aporta datos como lesiones sospechosas de malignidad y se requiere el equipo entre el clínico y el patólogo para su confirmación.

Citología se utilizan dos métodos para obtener especímenes para estudio citológico la biopsia por aguja fina y la secreción de sustancias por el pezón esta última da muchos falsos negativos cuando no hay una correcta evaluación o bien no hay salida de células tumorales, la aspiración por aguja fina es más específica siempre y cuando se aspire la zona donde se ubica la lesión y la punción sea adecuada obteniendo material adecuado para diagnóstico. La sensibilidad puede ser de 87 %. El valor predictivo de diagnóstico positivo es de 100 % y el valor predictivo de diagnóstico negativo es entre 60 y 90 %. El material extraído por aspiración con aguja fina puede ser usado para detección de receptores hormonales, estudios cinéticos y expresión de oncoproteínas.

Biopsia por aguja gruesa al centro de la lesión es sensible en un 90 % se usa para lesiones mayores de 2.5cm de Dm.

Biopsia abierta y congelada, las biopsias excisionales se realizan cuando el tumor mide 2.5cm o menos y el tipo incisional cuando el tumor es mayor. La confirmación por histología ocurre una vez obtenido el espécimen se da la clasificación histológica de acuerdo a las características, citológicas e histológicas del tumor, según la clasificación de OMS

### ***Receptores hormonales***

Un importante desarrollo en la evaluación del cáncer de mama es la realización de la presencia de receptores hormonales en el tejido tumoral esto correlaciona con la respuesta a la quimioterapia, los receptores estrógeno y progesterona pueden ser evaluados por el estándar dextran - coated charcoal y el ensayo gradiente sucrosa o por técnicas de inmunohistoquímica usando anticuerpos monoclonales. El tejido fresco es necesario para métodos bioquímicos mientras que para técnicas de inmunohistoquímica no son necesarios ya que se pueden detectar los receptores en tejidos fijados con formalina y embebidos en parafina, la correlación entre los métodos bioquímicos y las técnicas con inmunohistoquímica son muy buenas. (7)

La inmunohistoquímica se prefiere cuando el tejido es muy pequeño o la proporción de tejido tumoral es opuesto al tejido fibroso y este es reducido, actualmente hay muchas evidencias que la inmunohistoquímica es la prueba de oro, el método puede ser semicuantitativo por análisis de imágenes asistidas por computadoras. Los receptores estrogénicos pueden ser detectados también por la técnica de hibridación in situ que actualmente es el método más sensible comparado con la inmunohistoquímica y la bioquímica. (3, 7)

No existe mucha correlación entre la citoarquitectura del tipo de cáncer de mama y la presencia de receptores hormonales o de proteínas, específicamente no se ha encontrado diferencia estadísticamente significativa entre el tipo de cáncer ductal y el cáncer lobular de mama, sin embargo algunas series han observado más negativos el tipo de carcinoma medular, carcinoma intraductal y el comedocarcinoma, mientras el carcinoma mucinoso tiene alto rango de positividad, el carcinoma ductal in situ predominante de células grandes, es el mejor predictor morfológico de receptores negativos estrogénicos. (3, 13)

Generalmente las concentraciones de receptores estrogénicos son bajas en tumores de mujeres perimenopáusicas que en las postmenopáusicas. Fisher et al. (4) encontraron que la presencia de receptores estrogénicos está significativamente asociado con un gran núcleo y bajo grado de diferenciación histológica, ausencia de necrosis tumoral, presencia de marcadores tumorales de elastosis, y grupos de pacientes de mayor edad. Los receptores de hormonas positivos también están correlacionados con bcl-2 inmunoreactivo, ausencia de mutaciones de p53 y esta correlacionado inversamente con la presencia de receptores de factor de crecimiento epidérmico.

La quimioterapia ha tenido un impacto significativo en la supervivencia de los pacientes con carcinoma metastásico de mama el mejor resultado se ha obtenido con regímenes combinados, en muchas pacientes se ha combinado con trasplantes autólogos de médula ósea IT REMAIN se ve en el tiempo de supervivencia y esto justifica el alto costo del procedimiento.

### ***INMUNOHISTOQUÍMICA***

Es la aplicación de principios y técnicas inmunológicas al estudio de células y tejidos. El método original fue descubierto por Coombs y usaba materiales fluorescentes y anticuerpos de conejos, observándose en microscopio fluorescente después de la incubación. La técnica ha mejorado con los años actualmente se usan dos métodos el complejo inmune peroxidasa - antiperoxidasa y el inmunoenzimático avidina – biotina, varios métodos que han incrementado la sensibilidad han sido descubiertos, la exposición de los sitios antigénicos se logra con el desmascaramiento antigénico esto incluye la digestión con una variedad de enzimas proteolíticas tratadas con microondas o bien ollas de presión. Este probablemente es el método que ha revolucionado el campo de la inmunohistoquímica en los últimos 50 años. Los avances son notables marcada sensibilidad y especificidad, aplicación de rutina, buena correlación con parámetros morfológicos tradicionales, compatible con tejidos fijados, se puede usar en tejidos previamente teñidos, adaptado a preparaciones citológicas. (8, 9 10, 11)

Los errores en la técnica se dan en el nivel de conocimiento e interpretación que tenga el patólogo, preparación inadecuada de los tejidos, chequeo periódico en la actividad de anticuerpos, la propuesta de los controles negativos y positivos. (3)

Los resultados falsos negativos ocurren:

1. Un anticuerpo inapropiado, desnaturalizado o en concentración errónea.
2. Pérdida de antígeno por autólisis o por difusión.
3. Presencia de antígenos en una densidad menor al nivel de detección con reactivos y técnicas usadas, a causa de una mínima producción o excesiva liberación.

Por estos factores puede haber resultados falsos negativos aún con un control positivo cuando el diagnóstico morfológico y los datos clínicos sugieren que el caso es positivo, hay que hacer nuevo control.

Los resultados falsos positivos pueden ocasionar mas daño y las causas pueden ocurrir:

1. Reacción cruzada del anticuerpo con diferentes antígenos
2. Reacción no específica del anticuerpo con el tejido.
3. Presencia de peroxidasa endógena interactuando con el complejo avidina biotina por algunos elementos celulares.
4. Atrapamiento de tejido normal por células tumorales. Este problema también existe en secciones teñidas con Hematoxilina – Eosina, se amplifican con esta técnica.
5. Revelación de proteínas solubles en el citoplasma de células normales invadidas por el tumor, con la subsiguiente permeación del intersticio y absorción no específica por las células del tumor.



Receptores hormonales:

El efecto de hormonas en células y órganos blanco es mediado por péptidos intracelulares (intranucleares mayoritariamente) los péptidos se conocen como receptores hormonales. Anticuerpos monoclonales para estrógeno, progesterona, y receptores androgénicos, se conocen, originalmente la técnica usada se realizaba únicamente con material obtenido de biopsias por congelación. Pero ahora los resultados obtenidos con material embebido en parafina son muy buenos, ello se comparan favorablemente con los obtenidos con los ensayos bioquímicos convencionales. (1, 3)

Marcadores de proliferación celular

La proliferación celular puede estudiarse con técnicas de tinción por inmunohistoquímica, se tiñen antígenos nucleares relacionados con el crecimiento y división celular, se pretende visualizar estos con microscopio, se usa actualmente tejidos embebidos en parafina, antiguamente era en tejidos frescos (6).

La p53 es un regulador de la proliferación de la mayoría de tipos celulares. Se trata de un factor de transcripción que al fijarse a una secuencia SST (transactivación específica de secuencia, sequence specific transactivation) del ADN activa los genes implicados en el desencadenamiento de la apoptosis o en la interrupción del ciclo celular. La p53 se expresa en las células sometidas a estrés, por ejemplo cuando el ADN está deteriorado. Las alteraciones del ADN provocan una acumulación de esta proteína, que detiene el ciclo celular en fase G1 para permitir la reparación del ADN antes de la fase S, o para inducir la apoptosis de la célula dañada. Los factores que determinan la elección de una de las dos opciones, la interrupción del ciclo o la apoptosis, todavía no se comprenden totalmente.

En los vertebrados superiores, las mutaciones del gen que codifica para la p53 predisponen al cáncer y, en particular, a los cánceres de pulmón y de mama. En efecto, la ausencia de este mecanismo de reconstrucción relacionado con la biosíntesis de p53 incrementa el número de cánceres debidos a alteraciones genéticas. (5)

p53 mutaciones del gen supresor del tumor p53 representa la alteración genética más común en tumores humanos, el producto de este gen es una proteína nuclear que involucra el control del ciclo celular, apoptosis y el mantenimiento de la estabilidad genómica. El producto de la proteína alterada del gen mutado altera la vida media de la célula y este puede ser detectado por inmunohistoquímica, la acumulación de la proteína puede ocurrir como resultados de cambios epigenéticos. (1)

La proteína p53 genuina controla el ciclo celular de dos formas; bloquea el ciclo en G1 y activa la muerte celular por apoptosis; la proteína mutada que está presente en aproximadamente el 50 % de los tumores, siendo la alteración genética más frecuente en el cáncer, no frena el ciclo y bloquea la apoptosis, por lo que provoca crecimiento tumoral. Tiene tanto valor como expresión de mal pronóstico en el valor predictivo, que como

expresión de resistencia al tratamiento. A la vez que se determina la p53, conviene determinar la proteína mdm 2 ya que inactiva la p53 mutante y por tanto puede cambiar su valor pronóstico. (12)

La mayor parte de los agentes empleados en quimioterapia anticancerosa basan su acción en la producción de roturas y/o alteraciones en el DNA de las células. De este modo, inducen el fenómeno de apoptosis y la muerte celular de las células tumorales. Desgraciadamente, una de las causas de fallo de los tratamientos quimioterápicos es la aparición de resistencia a la muerte apoptótica de las células tumorales como consecuencia de la mutación de genes como p53. (6)

Ki67 es un antígeno que se determina mediante el anticuerpo monoclonal que lleva su nombre y fue desarrollado por Gredes y col. Es un antígeno que se expresa en la parte final de la fase G2 y en la fase M (5)

Es un antígeno que corresponde a expresión de proteínas nucleares no histonas expresadas por las células en fases proliferativa G1, G2, M y S, al inicio se trabajó en tejidos frescos pero en la actualidad se usan en tejidos fijados con formalina y tratados con parafina. (3)

Ki67 (MIB-1) es un antígeno nuclear proteico con valor tanto pronóstico como predictivo, con importancia sobre todo en tumores de mama, próstata, estómago, melanomas y linfomas. A mayor porcentaje de células positivas, peor pronóstico. Actualmente se admite que el grado histológico del tumor, el índice de proliferación celular (Ki67), el grado de resección quirúrgica que muchas veces está en función de la localización, influyen significativamente en la supervivencia a largo plazo de los pacientes. (5)

#### *La estadificación y evolución clínica*

El cáncer de mama se ha clasificado en cuatro grupos para estandarizar las comparaciones de los resultados de las diferentes modalidades terapéuticas y para guiar el tratamiento. El American Joint Committee on Cancer Staging propone los siguientes estadios clínicos.

(14)

Estadio 0      CDIS o CLIS

Tasa de supervivencia a los 5 años del 92 %.

- Estadío I      Carcinoma infiltrante de 2cm o menos de diámetro incluido el carcinoma in situ con microinfiltración, sin afección de ganglios linfáticos y sin metástasis a distancia.  
Tasa de supervivencia a los 5 años del 87 %.
- Estadío II      Carcinoma infiltrante de 5 cm o menos de diámetro, con ganglios linfáticos axilares afectados, pero movibles y sin metástasis a distancia o bien carcinoma infiltrante mayor de 5 cm de diámetro sin metástasis ganglionares ni metástasis a distancia.  
Tasa de supervivencia a los 5 años 75 %.
- Estadío III      Carcinoma infiltrante con más de 5 cm de diámetro, con metástasis ganglionares; o bien cualquier cáncer de mama con afectación de ganglios axilares metastásicos fijos o fusionados; o bien cualquier cáncer de mama con afectación de ganglios linfáticos mamarios internos ipsolaterales; o bien cualquier cáncer de mama con afectación cutánea, fijación del pectoral a la pared torácica, edema o carcinoma inflamatorio clínico en ausencia de metástasis a distancia  
Tasa de supervivencia a los 5 años 46 %.

Estadío IV Cualquier forma de cáncer de mama con metástasis a distancia incluidos los ganglios linfáticos supraclaviculares ipsolaterales.  
Tasa de supervivencia a los 5 años 13 %.

Los carcinomas en estadíos II y III se subdividen según el número de ganglios linfáticos axilares infiltrados para tomar decisiones terapéuticas o bien ser incluidas en ensayos clínicos. Cuando no existen metástasis axilares algunas pacientes pueden no requerir tratamiento sistémico según otras características del tumor. Casi todas las mujeres con 1 a 3 ganglios linfáticos axilares positivos reciben alguna forma de tratamiento sistémico convencional, bien hormonal o quimioterapia. Las mujeres con 4 a 9 ganglios linfáticos axilares positivos pueden ser elegidas para participar en ensayos clínicos en los que se utiliza quimioterapia en dosis elevadas. Cuando existen 10 o más ganglios linfáticos positivos, la paciente puede ser candidata a otros tratamientos experimentales como autotrasplante de médula ósea.

## DISEÑO METODOLÓGICO

- Tipo de estudio: Se realizó un estudio descriptivo de corte transversal.
- La muestra seleccionada fueron 10 biopsias seleccionadas al azar, de pacientes cuyo diagnóstico histopatológico fuera carcinoma de mama. Esto por tratarse de un estudio de valoración pronóstica y al tener los análisis un costo elevado se seleccionó la cantidad de casos que pudiesen realizarse con la cantidad de reactivos en existencia.
- Estas biopsias fueron procesadas con la técnica de la parafina y diagnosticadas en el departamento de Patología del Hospital Escuela Dr. Oscar Danilo Rosales Argüello de la ciudad de León en el año 2001.
- La información se obtuvo de 2 tipos de fuentes primaria y secundaria. Primaria ya que la observación directa de las pruebas realizadas aportó los datos de positividad o negatividad a los casos, y secundaria ya que se revisaron archivos del departamento de patología del HEODRA León.
- Se tomó un total de 10 biopsias a las que una vez valorado que el diagnóstico correspondía a Carcinoma de mama se le llenó una ficha recolectora de datos (ver anexos), luego se procedió a realizar el proceso de tinción con inmunohistoquímica en el laboratorio de histología del Departamento de Ciencias Morfológicas (Ver protocolo usado). Los reactivos utilizados fueron facilitados por el Departamento de Patología del Hospital al Paz Madrid España.
- Los datos obtenidos se procesaron manualmente y se registraron en tablas para mejor comprensión y explicación.

***Protocolo utilizado para procesar las tinciones con Inmunohistoquímica:***

Tejidos fijados en formol al 10 % con formalina con buffer.

Procesados con la técnica de la parafina

***1. Corte de la biopsia***

➤ **Materiales:**

1. Micrótopo
2. Bloques de parafina con tejido de las biopsias de mama, de los casos seleccionados
3. Porta láminas tratadas con polilisina
4. Recipientes de baño maría

➤ **Método:** Se colocaron los bloques de parafina en el micrótopo y se procedió a realizar los cortes de 5 micras, se obtuvieron los cortes depositándose en el baño maría y luego se montan en láminas tratadas con polilisina.

***2. Desenmascaramiento antigénico:***

➤ **Materiales:**

1. Olla de presión de 5.5 litros.
2. Tampón citrato sódico 10 milimoles, pH 6
3. Placa termostática (hornillo eléctrico)
4. Cestillas metálicas para portaobjetos
5. Portaobjetos con cortes de biopsias de mama
6. agua destilada 500 cc

- Método: Se prepararon dos litros de tampón citrato, se pusieron a hervir en la olla a presión la solución de tampón citrato en el hornillo a máxima temperatura sin cerrar la tapa. Cuando comenzó a hervir, se introdujo la cestilla con los porta objetos y se cerró la tapa, cuando se alcanzó la presión máxima se redujo la potencia del hornillo y se mantuvo la olla a máxima presión por 3 minutos. Se enfrió la olla abriendo la llave del grifo de agua se esperó que la olla perdiera toda la presión, se sacaron las cestillas y se atemperaron los portaobjetos en agua destilada por 10 minutos.

### **3. Dilución del anticuerpo:**

Este paso permite que se produzca la mayor intensidad de la reacción de forma específica, sin observarse la tinción de fondo. Ya que si la concentración de anticuerpo es alta surgirán falsos negativos.

- Materiales:

1. 3,3 tetracloruro de Diaminobenzidina (DAB ( Cromógeno donantes de electrones)
2. Enzima peroxidasa de rábano
3. Peroxido de hidrógeno (Sustrato)

- Método: Este método se obvió ya que se utilizó uno diluido por fábrica.

### **4. Sistema de visualización:**

Se realizó de acuerdo a la escuela anglosajona con el método de la Estreptavidina Biotina Peroxidasa.

Este método es una variante de la técnica avidina – biotina, en la cual un anticuerpo secundario biotinilado reacciona con varias moléculas de estreptavidina conjugadas con peroxidasa (aumenta la sensibilidad hasta 8 veces)

➤ Método

1.- Desparafinación e hidratación

Se colocaron los cortes en xilol e incubaron por 5 minutos. Se repitió este paso.

Se eliminó el exceso de líquido y se sumergió en etanol absoluto durante 3 minutos. Se repitió

Se eliminó el exceso de líquido y se secó alrededor del tejido. Se colocaron los cortes en agua destilada o desionizada durante 30 minutos.

2.- Inhibición de la peroxidasa endógena

Se eliminó el exceso de agua del corte y se añadió la suficiente cantidad de peróxido de hidrógeno al 3 % hasta cubrir el espécimen.

Se incubó por 5 minutos en cámara húmeda a temperatura ambiente.

Se lavó con agua destilada y se colocaron en una cubeta con buffer de lavado.

3.- Incubación del anticuerpo primario:

Se eliminó el exceso de buffer y se secó el portaobjetos como antes.

Se aplicó suficiente cantidad de anticuerpo primario o control negativo hasta que se cubrió el corte.

Se incubó por 10 minutos en cámara húmeda a temperatura ambiente.

Se eliminó el exceso de antisuero con el buffer de lavado y se sumergió en dicho buffer.

4.- Incubación del anticuerpo secundario:

Se eliminó el exceso de buffer y se secó el contorno del corte.

Se aplicó suficiente cantidad de anticuerpo secundario y se incubó por 10 minutos a temperatura ambiente en cámara húmeda.



Se eliminó el exceso de antisuero con el buffer de lavado y se sumergió en dicho buffer.

5.- Estreptavidina peroxidasa:

Se eliminó el exceso de buffer y se secó el contorno del corte.

Se incubó en cámara húmeda a temperatura ambiente la estreptavidina peroxidasa por 10 minutos.

Se preparó la solución cromógeno – sustrato.

Se eliminó el exceso de antisuero con el buffer de lavado y se sumergió en dicho buffer.

6.- Solución cromógeno – sustrato:

Se eliminó el exceso de buffer y se secó el contorno del corte.

Se aplicó la solución cromógeno – sustrato e incubó por 5 – 10 minutos a temperatura ambiente (dependiendo del cromógeno utilizado). El revelado se realizó bajo control microscópico procediendo a detener el proceso en el momento que la tinción fue optima con la mínima tinción de fondo.

Se lavó con agua destilada.

7.- Contratinción:

Se cubrió el espécimen con hematoxilina de Meyer se incubó por 3 minutos

Se lavó con agua destilada.

8.- Montaje:

En este caso se deshidrató y se montó con un medio sintético permanente

Este proceso se realizó para los cuatro anticuerpos utilizados Estrógeno, Progesterona, p53 y Ki67.

Posterior a la tinción se observaron las preparaciones al microscopio valorando la positividad de los casos, considerando positivos los que se tiñeron de color marrón y señalando débil positivo (débil +), positivo (+), fuertemente positivo (++) independiente del anticuerpo usado, ya que las reacciones son similares y la coloración es similar.

Los datos obtenidos según la lectura se transcribieron en tablas de frecuencia simple para mejor ilustración, el análisis se realizó caso a caso valorando lo planteado en los objetivos.

**OPERACIONALIZACION DE LAS VARIABLES**

<b>Variable</b>	<b>Definición</b>	<b>Valor</b>
Nº Biopsia	Nº de registro asignado en el laboratorio de Patología del HEODRA	Nº de registro
Edad	Edad en años cumplidos desde el nacimiento hasta la fecha de la biopsia	Edad en años
Procedimiento realizado	Tipo de biopsia realizada para obtener el tejido y/o tumor. Excisional extracción de toda la lesión Incisional extracción de parte de la lesión Mastectomía amputación de la mama	Excisional Incisional Mastectomía
Características macroscópicas de la lesión	Detalles anatómicos valorables a simple vista y palpación de la lesión a estudiar.	Forma, consistencia, color.
Localización	Lugar anatómico específico de ubicación de la lesión	Sitio anatómico donde se encuentra la lesión.
Tamaño	Medida en centímetros de la lesión sospechosa de tumor, dentro del tejido a estudiar.	Tamaño en centímetros
Diagnostico	Diagnóstico histopatológico dado para la lesión estudiada.	Diagnóstico histopatológico
Receptores hormonales	Presencia de receptores hormonales en el tejido estudiado	Estrógeno positivo o negativo Progesterona positivo o negativo
Marcadores de proliferación celular	Anticuerpo monoclonales preparados y diluidos por fábrica, cuya especificidad para células en proliferación ha sido demostrada, p53 y Ki67	Ki67 positivo o negativo p53 positivo o negativo

## RESULTADOS

Se realizó un trabajo descriptivo de corte trasversal. Tomando 10 biopsias de mama del departamento de Patología del HEODRA León luego se realizó la tinción con inmunohistoquímica en el laboratorio de histología del Departamento de Ciencias Morfológicas de la UNAN León.

A 10 biopsias de pacientes cuyo diagnóstico fue carcinoma de mama en las que se usó la técnica de la parafina y tinción de Hematoxilina Eosina para el diagnóstico histopatológico, se les realizó tinciones con inmunohistoquímica usando receptores hormonales Estrógeno y Progesterona así como marcadores de proliferación celular p53 y Ki 67. Encontrando que de las 10 biopsias revisadas, las pacientes oscilan en las edades de 37 a 78 años, correspondiendo para 37 años un caso cuatro pacientes oscilan entre los 43 y 46 años, 3 pacientes con edades entre 50 y 51 años, una de 68 años y una de 78 años (Gráfico N° 1 y Tabla N° 1)

El tipo de biopsia realizada fue 5 de tipo incisional, 1 de tipo excisional y 4 mastectomías. (Tabla N° 2 y 4)

Las masas tumorales oscilaron entre los 1.7cms y los 7cms de Dm una de ellas era menor a los 2 cm. 3 entre los 2 y 4 centímetros, 2 entre 4 y 6 centímetros y 2 mayores de 7 centímetros. (Tabla N° 2 y 4)

El diagnóstico histológico correspondió 1 carcinoma indiferenciado, 1 carcinoma lobular infiltrante, 1 carcinoma canalicular infiltrante recurrente, 3 carcinomas in situ y 4 carcinomas canaliculares infiltrantes. (Tabla N° 1, 2, 3 y 4)

De los casos estudiados en 3 se encontraron ganglios linfáticos metastásicos, y fueron en los casos de carcinoma canalicular infiltrante 1 con 8 ganglios metastásicos, 1 con carcinoma residual, 1 con carcinoma indiferenciado. (Tabla N° 2 y 4)

Al aplicar las tinciones de Inmunohistoquímica resultaron que los casos de carcinoma in situ 2 fueron positivos para receptores hormonales y negativos para marcadores de proliferación y expresión p53, los 6 casos de carcinoma infiltrante y recurrente resultaron positivos para Ki67 y p53 y únicamente en 3 casos positivos para receptores hormonales de los cuáles uno tiene expresión débil. (Tabla N° 3 y 4).

## ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

De las 10 biopsias revisadas las pacientes presentan edades entre los 37 y 78 años, correspondiendo para 37 años un caso cuatro pacientes oscilan entre los 43 y 46 años, 3 pacientes con edades entre 50 y 51 años, una de 68 años y una de 78 años. Las edades de las pacientes se ubican en el rango de presentación del carcinoma de mama, se puede observar que entre los 40 y 50 años se ubica el mayor porcentaje de casos 5 pacientes se ubican en este grupo, el promedio de presentación del cáncer es en edades mayores de 40 años.

(3, 13) (Gráfico N° 1 y Tabla N° 1)

En este estudio caso al relacionar la edad, el tamaño de la lesión y el tipo de biopsia realizada como factores clínicos con el diagnóstico histológico, se ve que los carcinomas in situ aparecen en edades de 37, y 50 años (2 casos), a menor edad mejor pronóstico y el carcinoma ductal en sí tienen buen pronóstico, sobre todo si el tamaño de la lesión es pequeño y ha sido extirpado por biopsia excisional, en el estudio los tres casos solo uno de ellos tiene tamaño menor de 2 cm, que es la relación con un buen pronóstico, los otros 2 casos son de mayor tamaño uno entre 4 y 6 cm y uno mayor de 7 centímetros esto va por un pronóstico no favorable, por el tipo de biopsia que fue incisional, aunque en uno de los casos fue mastectomía en este caso hay extirpación total de la masa, y mejor pronóstico. (3, 13, 14) (Tabla N° 1 y 2)

De los casos estudiados en 3 se encontraron ganglios linfáticos metastásicos, y fueron en los casos de carcinoma canalicular infiltrante 1 con 8 ganglios metastásicos, 1 con carcinoma residual, 1 con carcinoma indiferenciado, en estos casos la relación diagnóstico y la presencia de ganglios con metástasis es indicativo de un pronóstico no favorable, ya que ha ocurrido una diseminación por vía linfática, se ve que el carcinoma residual y el indiferenciado presentan 1 ganglio metastásicos en cambio el tipo carcinoma canalicular infiltrante presenta 8 ganglios linfáticos aunque no se reporta el nivel de ubicación en los ganglios axilares es un número considerable que varía el pronóstico de la paciente. (2, 3, 13, 14) (Tabla N° 2 y 4)

Según el tipo de biopsia realizada 5 fueron de tipo incisional, 1 de tipo excisional y 4 mastectomías, en estos casos son de mejor pronóstico las que tienen márgenes quirúrgicos libres de lesión ya que la posibilidad de extirpación total del tumor es mayor, cuando la biopsia es incisional los márgenes quirúrgicos están tomados hay posibilidad de recurrencia o de diseminación si no se actúa pronto con una excisión o mastectomía ya que ha ocurrido una manipulación. (Tabla N° 2 y 4)

Al aplicar las tinciones de Inmunohistoquímica resultaron que los casos de carcinoma in situ 2 fueron positivos para receptores hormonales y negativos para marcadores de proliferación celular Ki67 y p53, esto se relaciona con un buen pronóstico a las pacientes ya que en caso de aplicar terapia hay respuesta y no hay una proliferación tumoral

agresiva, solo un caso resultó negativo a todos los marcadores su pronóstico en este caso es un poco más reservado, los 6 casos de carcinoma infiltrante y recurrente resultaron positivos para Ki67 y p53 y únicamente en 3 casos positivos para receptores hormonales de los cuáles uno tiene expresión débil. Los casos que resultaron positivos para marcadores de proliferación celular su expresión fue fuertemente positiva en dos casos ambos carcinomas con una conducta clínica agresiva un carcinoma canalicular infiltrante con metástasis y un carcinoma indiferenciado también con metástasis ganglionar ambos con receptores hormonales negativos, los de expresión positiva para Ki67 y p53 fueron 2 un carcinoma canalicular recurrente y el otro carcinoma residual en este caso hay una reacción débil positiva para receptor de progesterona, en este caso el pronóstico no es favorable teniendo que valorar todos los aspectos clínicos de cada paciente. Dos casos resultaron débilmente positivos en estos casos el carcinoma lobular infiltrante y un carcinoma canalicular recurrente en este caso no hay relación ya que la recurrencia es sinónimo de actividad tumoral agresiva y la paciente ha sufrido recurrencia en múltiples ocasiones. (3, 4, 7, 12) (Ver fotos en anexos) (Tabla N° 3, 4).

Al revisar cada paciente de forma individual para valorar su pronóstico, observamos en el primer caso su tipo de biopsia fue incisional, con un tamaño mayor a 7 cms. 37 años y un diagnóstico de Carcinoma ductal es este caso limitado a los conductos, el tamaño es desfavorable a favor su edad y la positividad a receptores hormonales, negativo para marcadores de proliferación celular. Pronóstico favorable a excepción del tamaño tumoral con una intervención quirúrgica amplia la paciente mejora considerablemente su pronóstico.

Caso 2 carcinoma papilar in situ con inmunohistoquímica negativa, se realizó biopsia incisional el tamaño de la lesión es menor a 2 cms, pero el hecho de ser una biopsia incisional es desfavorable, la edad es 50 años se encuentra en el límite de edad de pronóstico favorable. En este caso hay que valorar otros aspectos clínicos o repetir las pruebas histoquímicas, para considerar el pronóstico favorable o desfavorable, pro clínica favorable.

Caso 3 carcinoma in situ 50 años, mastectomía, tamaño de la lesión 5 cm, receptores hormonales positivos, marcadores de proliferación tumoral negativos, pronóstico favorable.

Caso 4 Carcinoma canalicular infiltrante con 43 años receptores hormonales negativos y marcadores de proliferación celular fuertemente positivos, con 8 ganglios metastásicos aunque se le realizó mastectomía el pronóstico es desfavorable. En este caso la agresividad tumoral se observa y se ubica en el G° II según la clasificación de Bloom Richardson modificada. (3)

Caso 5 Carcinoma lobular infiltrante mujer de 45 años de edad con una masa de 4.5cms. y una mastectomía, los receptores hormonales positivo para progesterona y débil positivo Ki67 como marcador de proliferación celular, este tipo de tumor es bilateral con frecuencia en el 20 % de los casos, constituye del 5 al 10 % de los carcinomas de mama, suelen ser multicéntricos, presenta receptores hormonales en este caso hay para progesterona pero no para estrógeno, tiene mejor pronóstico que los carcinomas canaliculares infiltrantes. El pronóstico es reservado, convendría repetir las pruebas o aplicar otros marcadores, para ser más categóricos, aunque en este caso es más probable que sea favorable el pronóstico (14).

Carcinoma indiferenciado mal pronóstico con el diagnóstico independiente de las características clínicas, en este caso 78 años, biopsia incisional, ganglio linfático metastásico, marcadores de proliferación tumoral fuertemente positivos y negativos receptores hormonales. Pronóstico muy malo.

Caso 7 Carcinoma canalicular infiltrante 51 años, biopsia incisional, lesión de 4 cms. Receptores hormonales positivos y marcadores de proliferación celular débilmente positivos, en este caso el pronóstico en un tanto favorable hay que considerara los factores clínicos.

Caso 8 Carcinoma canalicular infiltrante recurrente, mal pronóstico según historia el carcinoma ha recurrido en muchas ocasiones, en este caso la edad 68 años es desfavorable aunque la biopsia sea excisional, y el tamaño de la lesión 2 cm. los receptores hormonales

débil para progesterona y negativo para estrógeno y los marcadores de proliferación celular positivos. Mal pronóstico.

Caso 9 Carcinoma canalicular infiltrante residual, mastectomía 46 años, masa mayor de 7 cms. 3 ganglios linfáticos metastásicos, receptores hormonales negativos, marcadores de proliferación celular positivos. En este caso mal pronóstico.

Caso 10 Carcinoma lobular infiltrante, biopsia incisional, tumor de 2 cm, para ambos casos, mujeres de 44 y 45 años de edad con una masa de 2 cm y 4.5cms, receptores hormonales negativo para progesterona y positivo para estrógeno, negativo para marcadores de proliferación celular. Pronóstico favorable dependiendo de la conducta clínica y algunos factores como intervención quirúrgica amplia.

La importancia de realizar a las biopsias con diagnóstico de Cáncer de mama pruebas con inmunohistoquímica, marcadores hormonales y de proliferación celular, es que de esta forma se ayuda más con el pronóstico orientando la terapia. Por tanto la paciente es favorecida ya que ahorramos tiempo, recursos.

Es importante por tanto la instauración de un laboratorio equipado con marcadores inmunohistoquímicos ya que sería de gran provecho tanto para la población como para la comunidad médica, ahorrando tiempo y recursos ya que se tienen que consultar los casos en el extranjero, tardando estos un tiempo considerable ya que se envía por correo, si bien los reactivos son costosos el beneficio es grande para las pacientes.



## CONCLUSIONES

En esta serie:

1. La edad de las pacientes afectadas con carcinoma de mama fue de 37 a 78 años.
2. El diagnóstico histológico más frecuente es carcinoma canalicular infiltrante y en segundo lugar carcinoma in situ.
3. El tipo de biopsia que más se usó fue la incisional y en segundo lugar la mastectomía.
4. Los marcadores hormonales resultaron positivos en 6 casos
5. Los marcadores de proliferación celular están presentes en 6 casos
6. La correspondencia con los marcadores de inmunohistoquímica y los factores clínicos ocurrió en la mayoría de los casos a excepción de un caso en el que convendría repetir las pruebas.

## **RECOMENDACIONES**

1. Equipar el laboratorio existente con marcadores de Inmunohistoquímica, para mejor provecho de los pacientes y ayudar al personal médico.
2. Proponer proyectos para conseguir financiamiento y adquirir los equipos necesarios para la instauración del laboratorio de inmunohistoquímica.

**BIBLIOGRAFÍA**

1. Rosai Juan, MD. Surgical Pathology Ackerman's eighth edition, volume one 1996, Mosby
2. Osteen Robert T. MD. American Cancer Society. Cancer Manual, eight edition. Massachusetts division. 1990.
3. Rosai Juan, MD. Surgical Pathology Ackerman's eighth edition, volumen two 1996, Mosby
4. Fisher ER, Redmond CK, Liu H, Rockette H, Fischer B, and collaborating NSABP investigators; correlation of estrogen receptor and pathologic characteristics of invasive breast cancer. *Cancer* 45: 349-353, 1980.
5. Maillet Marc. *Biología celular manual*. Masson. S.A 2002.
6. Bruner JM, Connelly JH, Saya H: p53 protein immunostaining in routinely processed paraffin – embedded sections. *Mod Pathology* 6: 189 – 194, 1993.
7. McCarty KS Jr, Miller LS, Cox EB, Konrath J, McCarty KS Sr. Estrogen receptor analyses. Correlation of biochemical and immunohistochemical methods using monoclonal antireceptor antibodies. *Arch Pathology Lab Med* 109: 716 – 721. 1985.
8. DeLellis RA, Dayal D: The role of immunohistochemistry in the diagnosis of poorly differentiated malignant neoplasms. *Semin Oncology* 14: 173 – 192, 1987.

9. Gatter KC, Alcock C, Heryet A, Puldorf KA, Heyderman E, Taylor – Papadimitriou J, Stein H, Mason DY: The differential diagnosis of routinely processed anaplastic tumours using monoclonal antibodies. *Am J Clin Pathol Lab* 82: 33 – 43, 1984.
10. Gatter KC, Mason DY: The use of monoclonal antibodies for histopathological diagnosis of human malignancy. *Semin Oncol* 9: 517 – 525, 1984.
11. Larsson L. Tissue preparation methods for light microscopic immunohistochemistry. *Application Immunohistochemistry* 1: 2 –16, 1993.
12. Evaluation of anti - p53 antibody staining. Quality control and technical considerations. *Application Immunohistochemistry* 2: 218 – 224, 1994.
13. McDivitt Robert W, Stewart Fred W, Berg John W. Tumors of the Breast. Atlas of tumor Pathology. Second series, fascicle 2. published by the Armed Forces Institute of Pathology Washington, D. C. 1998.
14. Ramzi S. Cotran, Vinay Kumar, Tucker Collins. Robbins Patología estructural y funcional. Sexta edición. McGraw – Hill. Interamericana. 2000.

**FICHA RECOLECTORA DE DATOS**

PACIENTE

Nº BIOPSIA

EDAD

PROCEDIMIENTO REALIZADO

CARACTERÍSTICAS MACROSCÓPICAS DE LA LESIÓN  
LOCALIZACIÓN

TAMAÑO

DIAGNOSTICO

PRESENCIA DE RECEPTORES HORMONALES

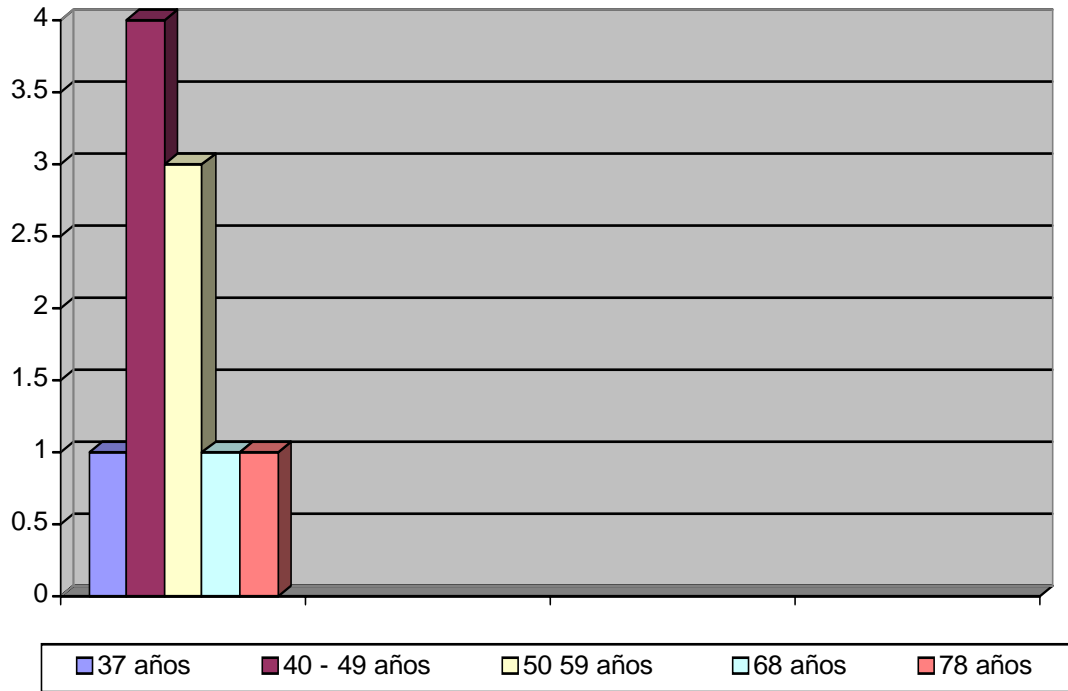
ESTRÓGENO \_\_\_\_\_ PROGESTERONA \_\_\_\_\_

EXPRESIÓN DE MARCADORES DE PROLIFERACIÓN CELULAR

Ki67 \_\_\_\_\_ p53 \_\_\_\_\_

**Grafico N° 1**

Edades de las pacientes con carcinoma de mama que se les realizó tinción con inmunohistoquímica.



**Tabla N° 1**  
**Edad de las pacientes y diagnóstico histopatológico en biopsias con carcinoma de mama.**

<b>N°</b>	<b>Edad en años</b>	<b>Diagnóstico histopatológico</b>
1	37	Carcinoma ductal
2	50	Carcinoma in situ papilar
3	50	Carcinoma in situ
4	43	Carcinoma canalicular infiltrante
5	45	Carcinoma lobular infiltrante
6	78	Carcinoma indiferenciado
7	51	Carcinoma canalicular infiltrante
8	68	Carcinoma canalicular infiltrante recurrente
9	46	Carcinoma canalicular infiltrante residual
10	44	Carcinoma lobular infiltrante

Fuente: secundaria

Tabla N° 2

**Tamaño de la lesión, tipo de biopsia realizada y diagnóstico en biopsias de pacientes con carcinoma de mama.**

N°	Tipo de biopsia	Tamaño de la lesión en cms.	Ganglios metastásicos	Diagnóstico Histopatológico
1	Incisional	7x5x5	-	Carcinoma ductal
2	Incisional	1.7	-	Carcinoma in situ papilar
3	Mastectomía	5x4	-	Carcinoma in situ
4	Mastectomía	3.5x2.5	8	Carcinoma canalicular infiltrante
5	Mastectomía	4x4.5x7	-	Carcinoma lobular infiltrante
6	Incisional	2x0.5	1	Carcinoma indiferenciado
7	Incisional	4x2.2	-	Carcinoma canalicular infiltrante
8	Excisional	2.2	-	Carcinoma canalicular infiltrante recurrente
9	Mastectomía	7.2x3.5	1	Carcinoma canalicular infiltrante residual
10	Incisional	2x2	-	Carcinoma lobular infiltrante

Fuente: secundaria



**Tabla N° 3**  
**Presencia de receptores hormonales y marcadores de proliferación celular Ki 67 y p53 en biopsias de pacientes con carcinoma de mama según diagnóstico histopatológico.**

N°	Diagnóstico	Prog.	Estr.	Ki67	P53
1	Carcinoma ductal	+	+	-	-
2	Carcinoma in situ papilar	-	-	-	-
3	Carcinoma in situ	+	+	-	-
4	Carcinoma canalicular infiltrante	-	-	++	++
5	Carcinoma lobular infiltrante	-	+	Débil +	-
6	Carcinoma indiferenciado	-	-	++	++
7	Carcinoma canalicular infiltrante	+	+	Débil +	Débil +
8	Carcinoma canalicular infiltrante recurrente	Débil +	-	+	+
9	Carcinoma canalicular infiltrante residual	-	-	+	+
10	Carcinoma lobular infiltrante	-	+	-	-

Prog. = Progesterona

Estr. = Estrógeno

Fuente: secundaria y primaria

## Fotografías de los casos

Cada foto indica el objetivo con que se visualiza en el  
microscopio

Además el tipo de tinción y la reacción

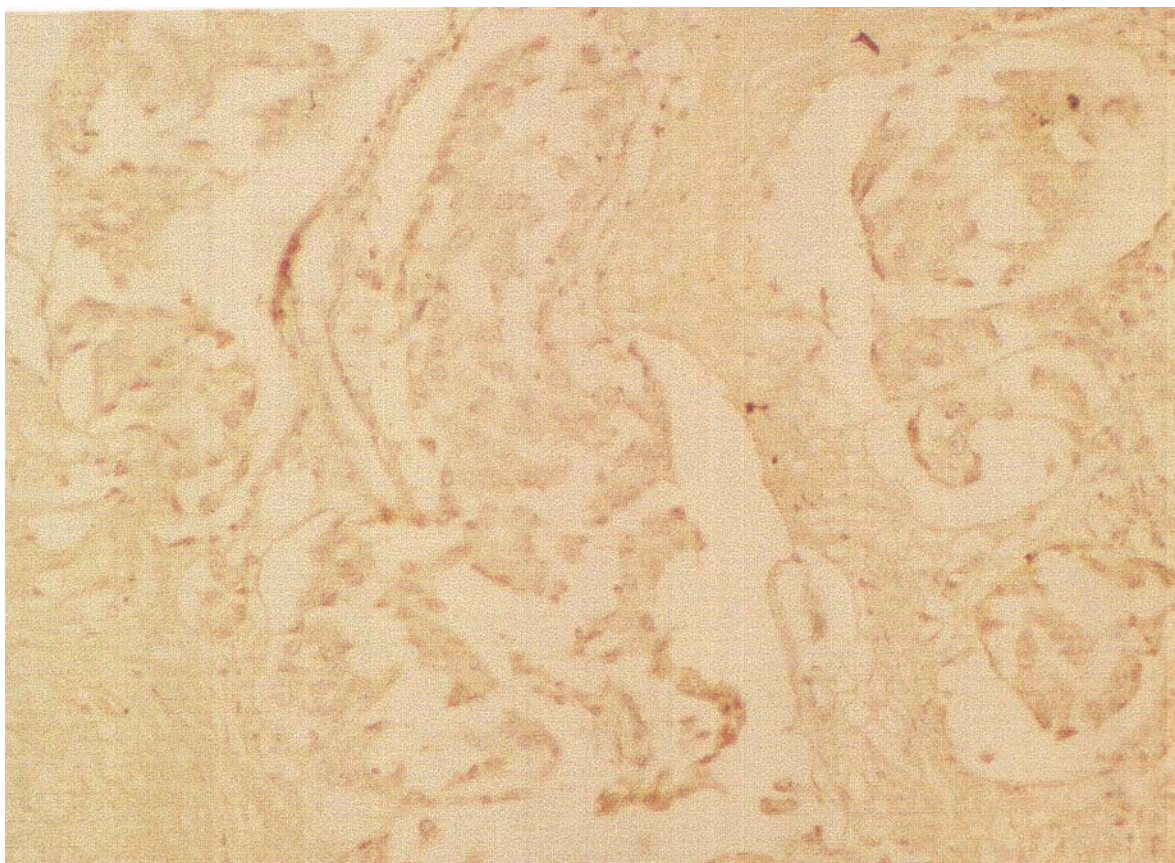
**Fotografía N°1.**

**Caso N°2: Estrogénico negativo.**



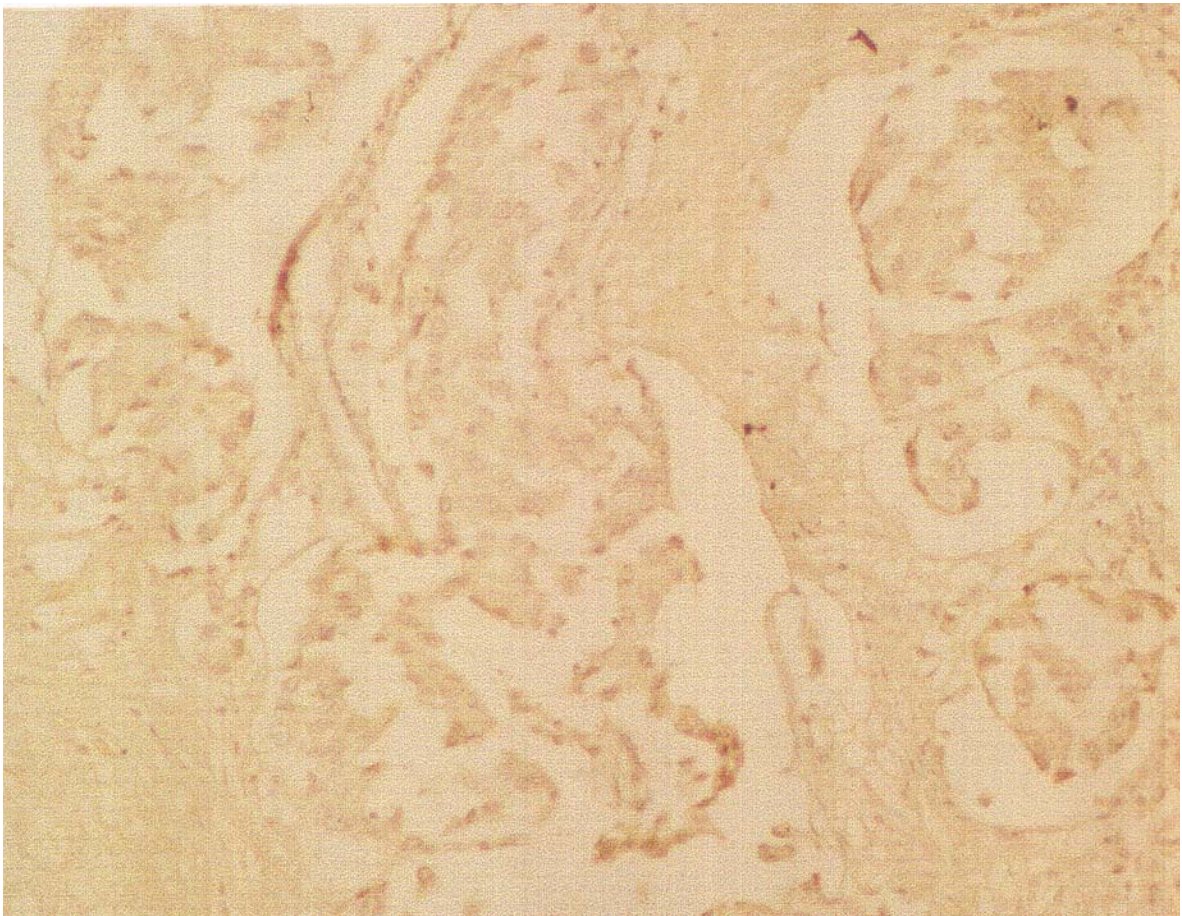
**(20x)**

**Fotografía N°2.**  
**Caso N°4 Estrogénico positivo.**



**(20x)**

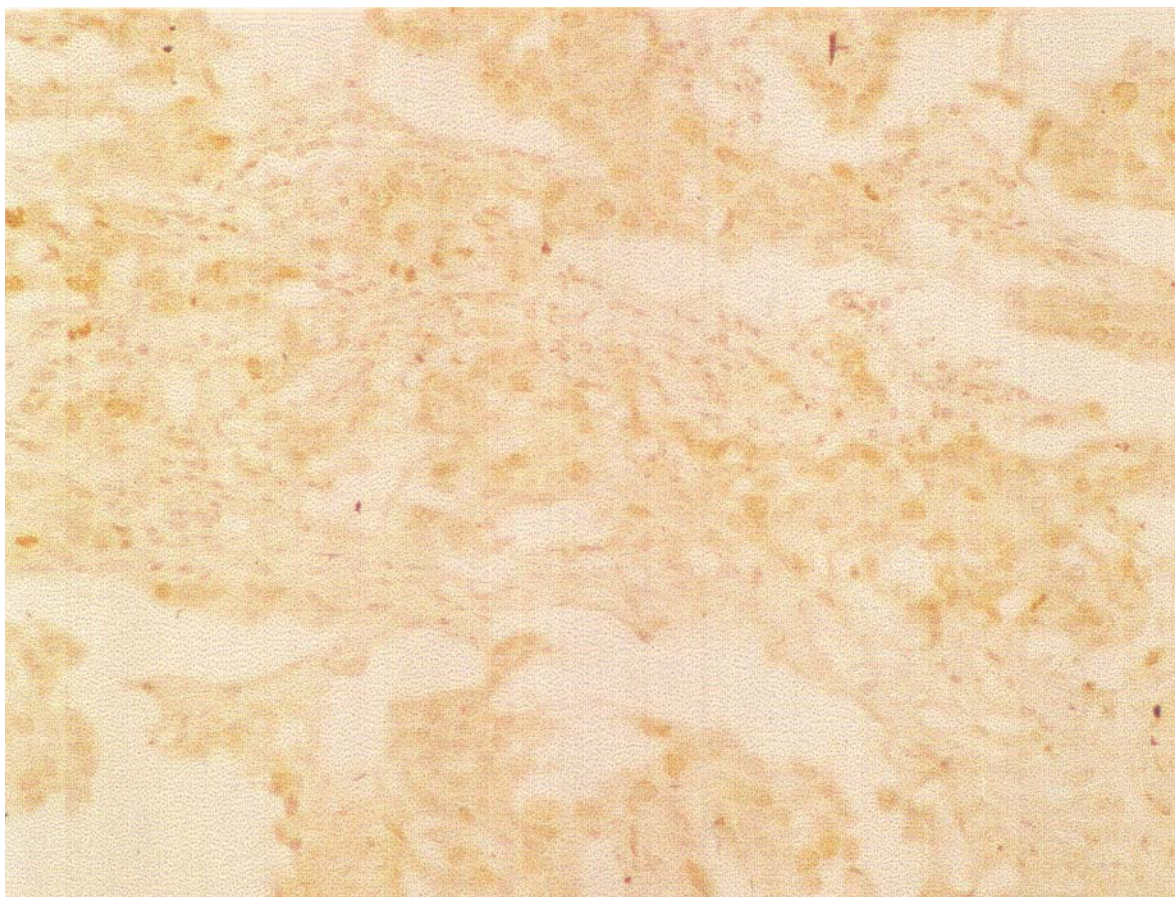
**Fotografía N°3.**  
**Caso N°8: Progesterona débil.**



**(20x)**

**Fotografía N°4.**

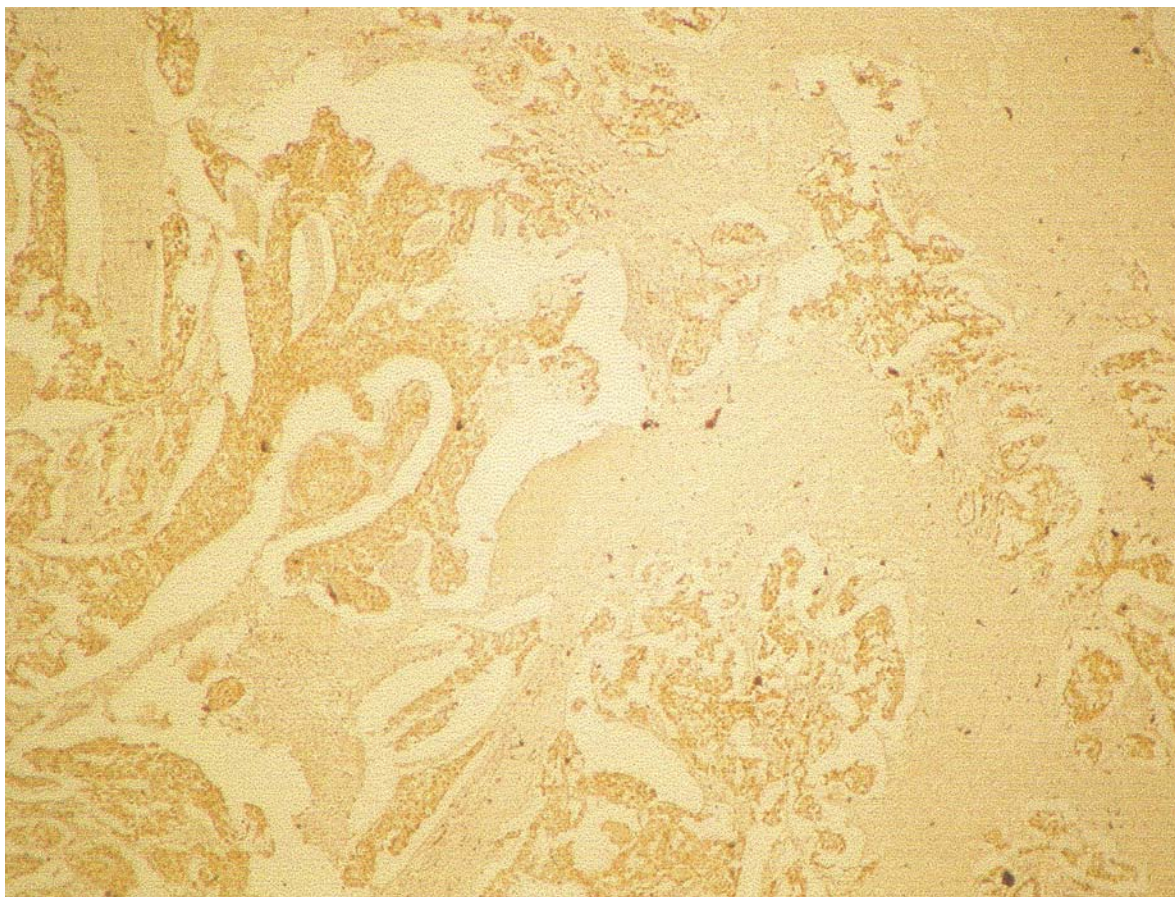
**Caso N°4 Ki 67. Positivo fuerte (++)**



**(20x)**

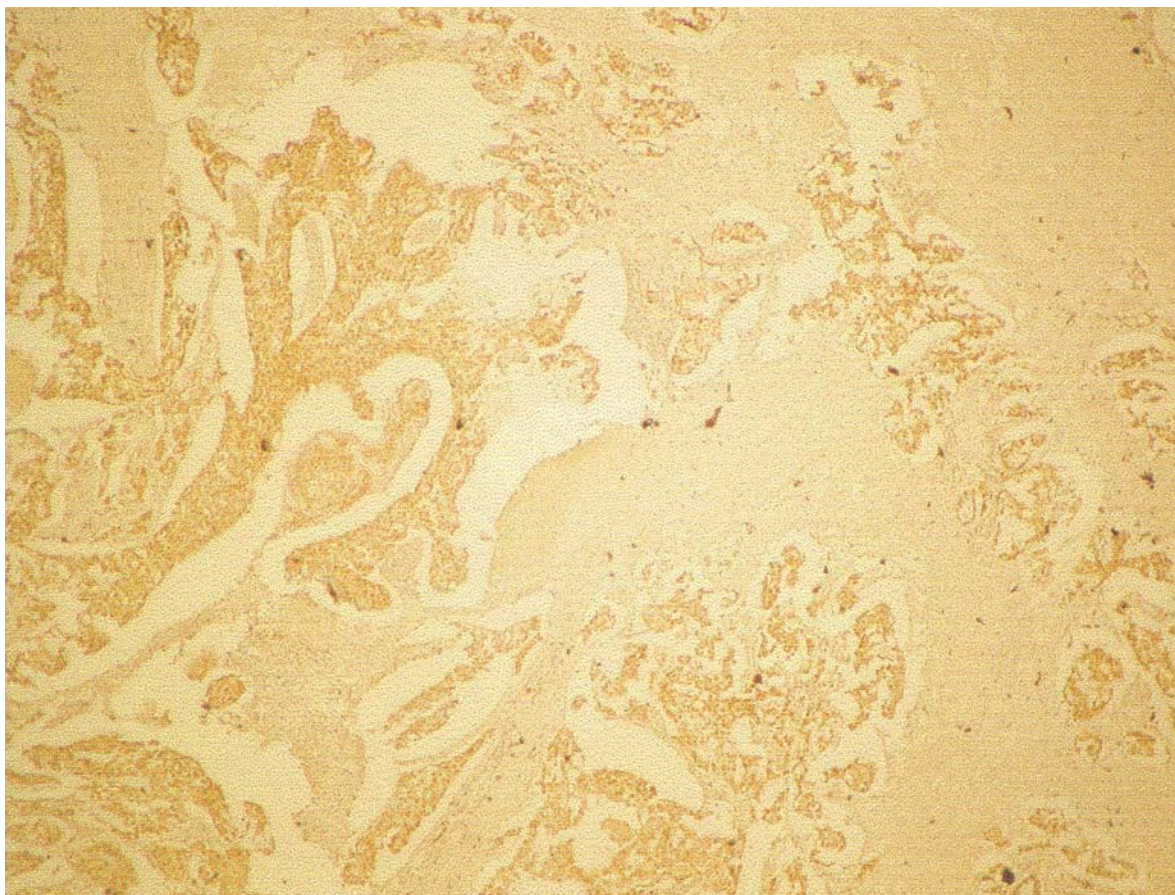
**Fotografía N°5.**

**Caso N°4 p53. Positivo fuerte (++)**



**(4x)**

**Fotografía N°6.**  
**Caso p53. Positivo fuerte (++)**

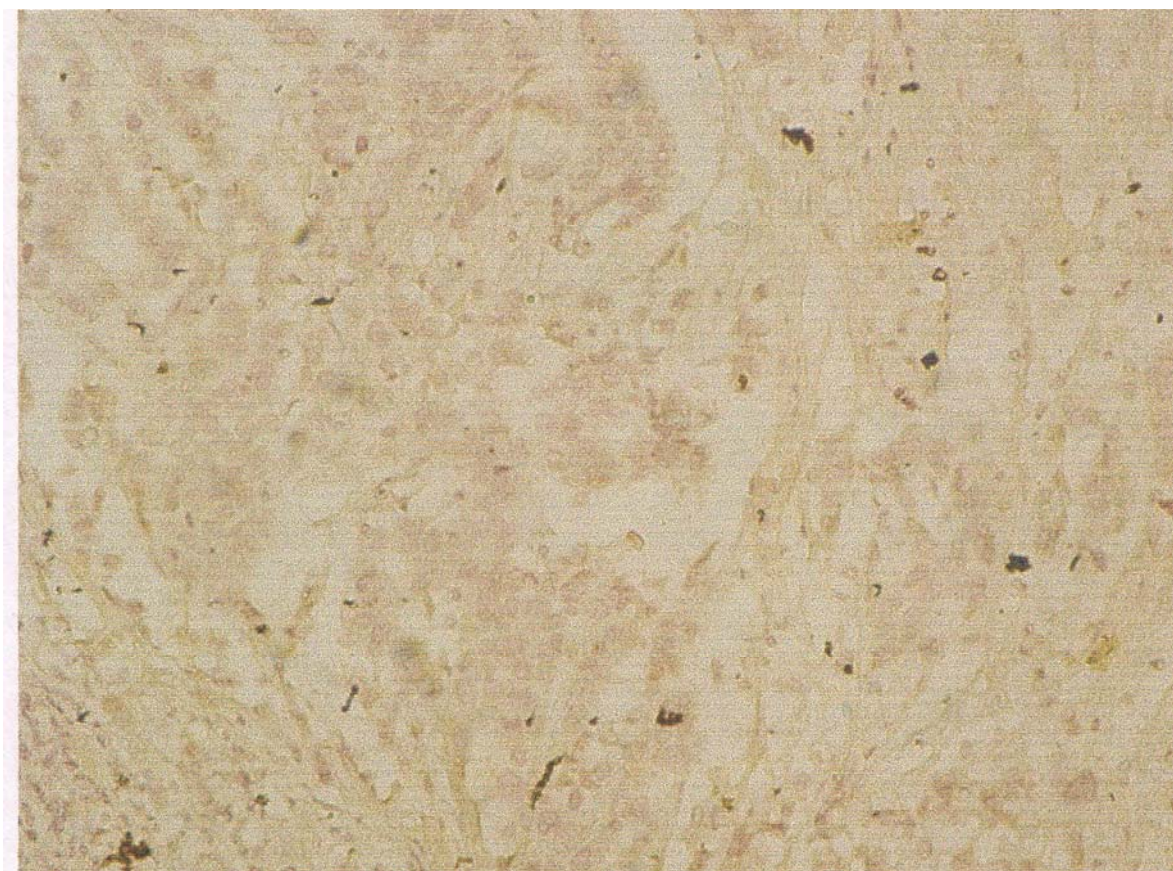


**(20x)**



**Fotografía N°7.**

**Negativo.**



**(20x)**