

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR

ESCUELA DE BIOANÁLISIS

Disertación Previa a la Obtención del Título de Licenciado(a) en Histocitología.

**“COMPARACIÓN DE LA EFICIENCIA ENTRE LAS ESCALAS DE
EVALUACIÓN DE ALLRED E ÍNDICE H PARA EXPRESIÓN DE RECEPTORES
DE ESTRÓGENOS Y PROGESTERONA POR INMUNOHISTOQUÍMICA EN
CARCINOMA DUCTAL INVASOR DE LA GLÁNDULA MAMARIA”**

Autores:

Arellano Ramírez Andrea Cristina

Báez Flores Juan Gabriel

Directora:

Lcda. Ruth Rodríguez

Quito, 2012

AGRADECIMIENTO

Este proyecto es el resultado del esfuerzo conjunto de todos los que formamos el grupo de trabajo. Por esto agradezco a nuestra directora de tesis Lcda. Ruth Rodríguez, a mi compañero Juan Báez, quienes a lo largo de este tiempo han puesto a prueba sus capacidades y conocimientos en el desarrollo de este proyecto el cual ha finalizado llenando todas nuestras expectativas.

A mis padres quienes a lo largo de toda mi vida han apoyado y motivado mi formación académica, creyeron en mí en todo momento y no dudaron de mis habilidades.

A Eli por su paciencia conmigo después de todos estos años en la facultad, a mis profesores Dr. Ángel Nicolalde, Lcda. Enma Vásquez, Lcda. Nora Albornoz a quienes les debo gran parte de mis conocimientos, gracias a su paciencia y enseñanza y finalmente un eterno agradecimiento a esta prestigiosa Universidad la cual abre sus puertas a jóvenes como nosotros, preparándonos para un futuro competitivo y formándonos como personas de bien.

Andrea

AGRADECIMIENTO

Agradezco a todas las personas partícipes en este grupo de trabajo. Con su tiempo, esfuerzo, empeño y conocimientos hemos logrado finalizarlo, cumpliendo con los objetivos deseados.

Debo agradecer a nuestra directora de tesis Lcda. Ruth Rodríguez, a mi compañera Andrea Arellano, Dr. Angelo Nicolalde, Dra. Lorena Montenegro, que en todo este tiempo gracias a sus conocimientos y su paciencia se ha logrado concluir este proyecto. Pero el verdadero agradecimiento es por haberme transmitido parte de sus conocimientos en el campo de la citología y más que todo por darme el privilegio de trabajar a su lado, muchas gracias.

A mis padres que siempre estuvieron a mi lado, dándome el apoyo y el empuje necesario en todo momento incondicionalmente para poder seguir adelante en la vida y concluir esta aventura que es la universidad. Este es el comienzo de grandes metas y logros que vienen en camino, eternamente agradecido.

Finalmente debo agradecer a la Pontificia Universidad Católica del Ecuador y a todos sus profesores por prepararme a lo largo de este camino para ser una persona de bien y competitiva.

A todos muchas gracias.

Juan

DEDICATORIA

A ti mi Dios que me diste la oportunidad de vivir y de regalarme una familia maravillosa.
Con mucho amor a Rubén por ser un gran compañero, apoyo y esposo.

A mi hijo Rafael por ser el motor que impulsa mi vida.

Con mucho cariño especialmente a mis padres Rafael y Mercy que me dieron la vida y están conmigo siempre. Gracias por creer en mí y por darme la oportunidad de obtener una carrera para mi futuro, aunque hemos pasado momentos muy difíciles siempre han estado apoyándome y brindándome todo su amor, por todo esto les agradezco de todo corazón el que estén conmigo a mi lado.

A mis abuelitos Neurio y Nancy por su cariño, ejemplo y por ser pilares fundamentales en mi vida.

A mis suegros Ernesto y Fanny por su infinito cariño, paciencia y apoyo.

A mi hermano Pablo por su paciencia; a mis primas Carolina, Lorena, Mishell y Milena que me han enseñado el valor de un equipo, de la amistad y la complicidad; a mis tíos Paty, Marlon, Amanda, Melva, Carlos, Fátima y Ángel gracias por inculcarme el valor de la familia.

A mis amigos Miguel P., Meche, Liz, Linda, Salo, Pancho, Paloma, Elena P., Jorge V., Paty G., Gabriela A., Gabriela P., gracias por estar conmigo.

Andrea

DEDICATORIA

Dedicado para mis padres y familia en general. Por darme la oportunidad de seguir una carrera que cumple con mis expectativas de vida, mi futuro y metas personales. Gracias por todo el apoyo que a lo largo de mi vida me han dado, con todas las dificultades, altos y bajos siempre han estado incondicionalmente a mi lado.

A mi familia que de una manera u otra estuvieron siempre atentos de mí, gracias por todo ese apoyo que me han dado en todo este largo tiempo, las palabras quedan cortas para expresar mis agradecimientos hacia todos ustedes.

Eternamente agradecido este logro es por ustedes y para ustedes.

Juan

TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN.....	1
ABSTRACT.....	4
INTRODUCCIÓN.....	6
CAPÍTULO I.....	8
1. MARCO REFERENCIAL	8
1.1. PROBLEMA.....	8
1.2. JUSTIFICACIÓN.....	9
2. OBJETIVOS.....	11
2.1. GENERAL.....	11
2.2. ESPECÍFICOS.....	11
3. HIPÓTESIS.....	12
3.1. IDENTIFICACIÓN Y TIPOS DE VARIABLES.....	12
CAPÍTULO II.....	14
4. MARCO TEÓRICO	14
4.1. ANATOMÍA.....	14
4.2. HISTOLOGÍA.....	14
4.3. FISIOLOGÍA	16
4.3.1. Desarrollo de la Glándula Mamaria	17
4.3.2. Patología tumoral maligna de la Glándula Mamaria.....	19
4.3.3. Fisiopatogénia	20
4.4. FACTORES DE RIESGO	21
4.5. CLASIFICACIÓN HISTOLOGICA DEL CÁNCER DEL MAMA.....	22
4.6. CARCINOMA DUCTAL	23
4.6.1. Carcinoma Ductal in situ.....	23
4.6.2. Carcinoma Ductal invasor	24
4.7. FACTORES PRONOSTICOS ANATOMOPATOLÓGICOS DE UTILIDAD EN EL MANEJO CLINICO DEL CANCER DE MAMA.....	24
4.8. CLASIFICACIÓN EN ESTADIOS DEL CÁNCER DE MAMA	28
4.8.1. Escala de SCARFF-BLOOM-RICHARDSON (SBR).....	28
4.8.2. Sistema TNM.....	29
4.9. LOS FACTORES PRONÓSTICOS Y LA RESPUESTA TERAPEUTICA.....	29
4.10. EXPRESIÓN DE RECEPTORES HORMONALES.....	32
4.10.1. Características de los Receptores de Estrógenos y Progesterona	34

CAPÍTULO III.....	37
5. INMUNOHISTOQUÍMICA.....	37
5.1. LA INMUNOHISTOQUÍMICA COMO TÉCNICA DE EVALUACIÓN DE RECEPTORES HORMONALES	37
5.2. DESCRIPCION DE LA TÉCNICA DE INMUNOHISTOQUÍMICA UTILIZADA (ER/ PR PHARMDX™ KIT – DAKO).....	39
5.2.1. ÍNDICE H.....	45
5.2.2. ALLRED.....	45
CAPÍTULO IV	48
6. MARCO METODOLÓGICO.....	48
6.1. DISEÑO EXPERIMENTAL Y MUESTRA.....	48
6.1.1. Estandarización	48
6.1.2. Plan de Análisis Estadístico	49
6.1.3. Universo y Muestra.....	49
6.2. ASPECTOS ÉTICOS.....	50
6.2.1. Criterios de Exclusión.....	50
6.2.2. Criterios de Inclusión	50
RESULTADOS	51
CONCLUSIONES	65
BIBLIOGRAFIA.....	67
ANEXOS.....	75

RESUMEN

La inmunohistoquímica en nuestro país tiene un desarrollo aproximado de 15 años, y es la metodología más difundida para evaluar la presencia de RE y RP. En la mayoría de los Servicios de Patología se usan el Índice H y el Porcentaje de Positividad para la evaluación de receptores hormonales en cáncer de mama, este sistema requiere de tiempo y meticulosidad por parte del evaluador, dicha escala de evaluación ha demostrado ser muy eficaz. Una reciente innovación es la introducción del índice de Allred, el cual lleva menos de dos años practicándose en nuestro medio, sin que se haya establecido sus ventajas comparativas con el método convencional de interpretación.

En este estudio se validó un sistema de evaluación de pruebas de laboratorio con un estudio correlacional – transversal para la comparación de la eficiencia de la utilización de las Escalas de Allred e Índice H, con las cuales se valora la presencia de receptores de estrógenos y progesterona mediante técnicas de inmunohistoquímica.

Se analizaron 90 casos que han sido procesados y diagnosticados como Carcinomas Ductales Invasores en el Servicio de Patología del Hospital Oncológico Solón Espinosa Ayala, durante el año 2009. Dichos casos fueron reevaluados por tres patólogos, uno del Hospital Oncológico “Solón Espinosa”, otro del Hospital “Carlos Andrade Marín” y un Patólogo independiente, todos ellos aplicaron el mismo sistema de escala de Allred y el Índice H, en un sistema de ciego, donde se alternó las laminillas histológicas, sin poder correlacionarlas ni conocer los resultados ya establecidos entre los evaluadores.

El promedio de edad de las 90 mujeres cuyos tumores fueron analizados fue de 56 años, con un rango entre 20 y 85 años, con sólo dos casos (2.2%) por debajo de los 35 años.

Se establecieron 13 casos (14.5%) de tumores bien diferenciados, SBR I, 61 casos (67.7%) de tumores moderadamente diferenciados SBR II y 16 pacientes (17.7%) con tumores SBR III.

Se observó una evolución favorable de las pacientes con el tratamiento en 50 casos (55.55%), desfavorable en 32 casos (35.55%) y fallecimiento en 8 casos (8.9%),

correspondiendo al 9.8% de las pacientes con SBR II y 12.5% de las pacientes con SBR III.

Se ubicaron a 10 (11.11%) pacientes en estadio clínico I; 8 (8.88%) en estadio clínico II; 21 (23.33%) en estadio III y 7 (7.77%) en estadio clínico IV, según la extensión del tumor determinado por la escala internacionalmente validada TNM. Sin embargo, no se pudo clasificar al 49% de las pacientes.

Se observó una evolución desfavorable en el 60% de las mujeres estadio I, 25% de las que estaban en estadio II, 14% de las de estadio III y 56% de las de estadio IV, estableciéndose una sobrevida promedio de 2 años 3 meses, que disminuye a 1 año 6 meses cuando el SBR es III, o menos de 1 año cuando el estadio clínico es IV, con una clara incidencia de estos dos factores en la mortalidad y la respuesta terapéutica, en cuatro años de seguimiento (2007-2011). La razón por la que se pretende hacer una evaluación del paciente en la supervivencia parte de la observación, de que pacientes tratados con la misma técnica operatoria, con las mismas o semejantes terapias coadyuvantes, evolucionan en forma diferente, lo que induce a pensar en la existencia de factores que determinen que el pronóstico sea favorable o desfavorable en este tipo de neoplasias, pudiendo ser en nuestro país el principal factor la adherencia al tratamiento, este se refiere al cumplimiento y constancia para mejorar la calidad de vida, es decir, tomar la medicación de acuerdo con la dosificación y el programa prescrito; para evitar la persistencia.

Se obtuvo como resultado evaluando con índice de Allred, receptores de estrógenos una sensibilidad de 94%, especificidad de 80.6%, un valor predictivo positivo del 90% y un valor negativo del 89%. En receptores de progesterona, sensibilidad de 94%, especificidad del 75%, un valor predictivo positivo del 85% y un valor predictivo negativo del 90%.

El tiempo promedio de realización del estudio fue de entre 5 ± 2.3 y 8.35 ± 3.08 minutos cuando se aplicó índice H, según la experiencia del observador frente a 1.08 ± 0.3 y 1.1 ± 0.3 minutos en Índice de Allred, independientemente del tipo de receptor hormonal que se estaba analizando ($p < 0.005$).

La reproducibilidad interobservador para la evaluación de RH tuvo un valor del 87.5% en reproducibilidad simple para las 2 escalas y de en reproducibilidad compleja de 73% en Índice H y 75% en Índice Allred.

La Sensibilidad calculada fue muy alta para RE y RP con un 94%, mientras que la especificidad para calculada para RE es de 80.6% y para RP un 75%.

El valor predictivo positivo para RE fue de 90% mientras que en RP es de 85%, y para el valor predictivo negativo el resultado para RE es de 80.6% y de RP es 75%.

ABSTRACT

In our country Histochemistry has been used for about 15 years and it is the most spread methodology to evaluate the presence of "ER" and "PR". Most pathological services use "H score" and positive percentage to be able to evaluate breast cancer hormonal receptors. This system requires time and thoroughness by the evaluator. Such evaluation has shown to be very efficient.

The introduction of the "Allred score" which is a recent innovation, has been used for 2 years in our environment, however no comparative advantages have been established in relation to the conventional method of interpretation.

This study validated different ways of reporting laboratory tests with a transversal – correlational study that compared the use of Allred score and the H score which help to value the presence of estrogen and progesterone receptors by means of histochemical techniques.

Ninety cases were analyzed which were diagnosed as invasive carcinoma at the "Hospital Oncológico Solon Espinoza" pathology department in 2009. Those cases were reevaluated by three pathologists. One of them from the "Hospital Carlos Andrade Marín", the other from the hospital mentioned above and third one from the private sector. All of them applied the very same scales under a double blind system where the histological slides were altered. Without being able to know the pre - established outcomes among the evaluators.

The woman's average age whose tumors were analyzed was 56 with a range between 20 – 85. Only two cases were under 35 years of age.

Thirteen (14, 5%) well differentiated cases were, SBR I, 61 cases (67,7%) moderately differentiated SBR II and 16 patients (17,7%) SBR III tumors.

A favorable outcome was observed in 50 cases (55,55%), unfavorable, in 32 cases (35,55%) and deaths in 8 cases (8,9%) which corresponds to (9,8%) of patients with SBR II and 12,5% with SBR III.

Ten patients (11,11%) were placed in clinical stage I, 8 (8,88%) in clinical stage II, 21 (23,33%) in clinical stage III and 7 (7,77%) in clinical stage IV, depending on how spread was the tumor determined by the "TNM" international scale, however 49% of the patients were not classified.

There was an unfavorable evolution in 60% of woman under clinical stage I, 25% in stage II, 14 % belonged to clinical stage III and 50% to clinical stage IV, an average of 2 years and 3 month survival was established which decreased to 18 month survival period with SBR III or less than a year, when the clinical stage IV which determined an increased incidence in the mortality rate and also as far as therapeutic response is concerned, along a 4 year period of follow up (2007 - 2011). The reason to evaluate the patient survival after the surgery is due to patients treated with the same surgery technique with the same or similar therapy aids, evolved differently. It suggests the existence of factors that determine the prognosis as favorable or unfavorable in this neoplasm. It may be the main factor adherence to the treatment in order to accomplish improvement in their quality of life, by taking the medication according to the dosage indicated and in this way avoiding the persistence.

With the Allred score it was obtained: 94% sensitivity and 80,6% specificity with a 90% positive predictive value and 89% of negative predictive values for Estrogen Receptors. For Progesterone Receptors 94% sensitivity, 75% specificity, 85% positive predictive value and a negative predictive value of 90%

The mean time of lecture using the H Score technique was between 5 ± 2.3 and 8.35 ± 3.08 minutes against 1.08 ± 0.3 and 1.1 ± 0.3 minutes when the Allred score was used, independently of the hormonal receptor that was being analyzed ($p < 0.005$).

The interobserver reproducibility value for HR was of 87,5% in simple reproducibility for the two scales and of 73% with the H score and of 75% with the Allred score in complex reproducibility.

The calculated sensitivity was very high for both ER and PR: 94% while the specificity for ER was 80.6% and for PR was 75%

The positive predictive value for ER was 90%, on the other hand, for the negative predictive values, the result for ER was 80,6% and 75% for PR.

INTRODUCCIÓN

El cáncer de mama es un importante problema de salud pública debido a que su incidencia es la más alta entre los tumores malignos de la mujer. Se estima que una de cada ocho mujeres será diagnosticada de cáncer de mama en su vida y una de cada treinta morirá por esta causa lo que explica la importancia de la búsqueda constante de nuevos factores pronósticos para un mejor control de la enfermedad.

En nuestro país según datos el cáncer de mama ocupa el puesto 15 dentro de las principales causas de mortalidad femenina, correspondiendo al 1.4 % de los casos. (INEC, 2001)

Su prevalencia entre 1998 y el 2002 ocupó el segundo lugar con un 27% del total respecto a otros tipos de cáncer. En el 2002 la incidencia de cáncer de mama ocupó el tercer lugar después del invasor de cuello uterino y de estómago. Pero en el 2004 se ubicó en el primer lugar con 33.7 %, seguido por el cáncer invasor de cuello uterino.(RNT, 2004)

En el 2005 la tasa de incidencia es de 35,8 y la tasa estandarizada de 40,8, es decir que casi se ha duplicado en veinte años, pues en 1985 era de 17,4 y 25,3 respectivamente.

Esta tasa la ubica como el tumor más frecuente de las mujeres de Quito, que además sigue ocupando el primer lugar cuando se compara con otras regiones del Ecuador.(RNT, 2004)

En la actualidad para el manejo clínico, establecer el pronóstico y la terapéutica en cáncer de mama, se necesita la determinación de factores pronósticos y muy especialmente de los receptores hormonales (RH). Estos parámetros biológicos además de corroborar la heterogeneidad de la enfermedad, funcionan como armas indispensables para diseñar los tratamientos personalizados.

Se ha logrado la identificación de nuevos marcadores tumorales que permitirán reducir la mortalidad al identificar a las mujeres en riesgo de contraer la enfermedad, predecir el pronóstico de las pacientes y evaluar posibles respuestas a diferentes terapias.

Diferentes sistemas de puntuación existen para la evaluación de receptores hormonales por IHQ en cáncer de mama. Algunos de los más utilizados son el índice H y la puntuación Allred.

CAPÍTULO I

1. MARCO REFERENCIAL

1.1. PROBLEMA

Molina sostiene que en la evaluación del pronóstico y la elección de la terapéutica, la presencia de Receptores Estrogénicos (RE) y Receptores de Progesterona (RP) se relaciona con el intervalo libre de enfermedad independientemente de la edad, menopausia, tamaño tumoral o afectación de ganglios axilares. Habiéndose demostrado que las pacientes RE positivo tienen intervalos libres de enfermedad más prolongados y por tanto mejor calidad de vida. (Molina, 2001)

Las pacientes con cáncer de mama pueden o no presentar estos receptores en las células tumorales siendo así importante la determinación de estos ya que es de gran utilidad permitiendo elegir el tratamiento con terapia hormonal, si están presentes o con quimioterapia si están ausentes.

La metodología más difundida para evaluar la presencia de RE y RP es la Inmunohistoquímica (IHQ) que en nuestro país tiene un desarrollo aproximado de 15 años con pocos centros dedicados a su implementación y desarrollo. Esta técnica requiere personal debidamente entrenado tanto para su ejecución como para su interpretación. A efectos de estandarizar estos parámetros, las casas comerciales han desarrollado estuches de reactivos cada vez más simplificados y métodos de lectura e interpretación más sencillos.

En la mayoría de los Servicios de Patología se usan el Índice H y el Porcentaje de Positividad para la evaluación de receptores hormonales en cáncer de mama, un sistema que requiere meticulosidad y consume mucho tiempo para el evaluador, pero que ha demostrado ser eficaz. Una reciente innovación es la introducción del índice de Allred, el cual lleva menos de dos años practicándose en nuestro medio, sin que se haya establecido sus ventajas comparativas con el método convencional de interpretación.

Cabe preguntarse entonces, ¿Cuál es la eficiencia de las escalas de evaluación de Allred e Índice H para la determinación de receptores hormonales por Inmunohistoquímica en Carcinoma Ductal Invasor de Mama?

1.2. JUSTIFICACIÓN

El cáncer de mama es el que se diagnostica con mayor frecuencia en las mujeres y la causa más común de muerte por cáncer en todo el mundo.(Parkin, 2002)

Los datos más recientes de LA Agencia Internacional de Investigaciones sobre el Cáncer (IARC) con relación a la morbilidad mundial del cáncer de mama corresponden a 2002; en ese año se calcula que se diagnosticaron aproximadamente 1.150.000 casos nuevos y hubo aproximadamente 411.000 defunciones por esta causa (35.73%).(IARC, 2007)

La carga creciente del cáncer de mama en los países de bajos recursos exige estrategias de adaptación que puedan modificar el hecho, muy común, de que la enfermedad se diagnostica en un estadio en que el pronóstico es desfavorable. (Smith, 2005)

Las mujeres de grupos menos favorecidos económica y socialmente tienen mayores barreras de acceso que determinan la presentación de cánceres más avanzados y mayores demoras en el tratamiento y en su adherencia.

La inadecuada adherencia conlleva consecuencias graves como:

- Empeora la calidad de vida de la persona.
- Impide el control de la enfermedad.
- Genera una mayor probabilidad de recaídas y agravamiento.
- Puede inducir a la aparición de efectos secundarios o intoxicaciones.
- Puede aumentar las posibilidades de fallecimiento.
- Desde un punto de vista médico, puede hacer que los tratamientos lleguen a ser ineficaces por la aparición de resistencias o favorecer la mayor virulencia de la enfermedad.

También la IARC, comparó la tasa de incidencia del cáncer de mama en las mujeres ecuatorianas con las incidencias mundiales, y observa que, el riesgo de enfermar es sensiblemente inferior, ocupando el puesto 55 entre 61 países.

El RNT registra que el riesgo de cáncer de mama en nuestro país se incrementa notablemente a partir de los 45 años de edad y adquiere los valores máximos a los 60 años, a partir de los cuales disminuye levemente.

La mayor parte de los diagnósticos en patología mamaria se resuelven con éxito con la evaluación de la morfología a través de la hematoxilina eosina. (Acosta, 2009)

Sin embargo la complejidad, variedad y la superposición de cuadros morfológicos de muchas de las lesiones benignas y malignas generan un problema de interpretación en donde las técnicas de inmunohistoquímica (IHQ) ayudan a definir un diagnóstico.

Adicionalmente se realizan “exámenes de extensión” como tomografías, radiografías o gammagrafías con el objeto de verificar la extensión tumoral y el compromiso de otros órganos, lo que determina el estadio clínico de la paciente.

Para evaluar el pronóstico del cáncer de mama, se describen parámetros que predicen la evolución o agresividad del mismo, entre estos cabe mencionar: el estado de los ganglios linfáticos axilares, el tamaño del tumor, el grado histológico, el grado nuclear, el estadio clínico, la edad de la paciente, la supervivencia y el intervalo libre de enfermedad. (Molina, 2001)

Actualmente se realizan pruebas de Inmunohistoquímica (IHQ) con determinación de marcadores tumorales de valor pronóstico y decisivos al momento de elegir la terapéutica más adecuada al subtipo tumoral.

Todo lo mencionado determina una enorme demanda de recursos económicos institucionales, familiares y personales que hacen del cáncer de mama una enfermedad altamente costosa, un cálculo aproximado determina que cada paciente tiene gastos de entre 8000 y 35000 USD directamente relacionados con el diagnóstico, tratamiento y seguimiento de esta enfermedad hasta morir de ella o declararse “curada”.

La evaluación de la expresión inmunohistoquímica de receptores hormonales juega un importante papel en el diagnóstico, pronóstico y la elección del tratamiento más adecuado, lo que repercute evidentemente en costos y más aún en la calidad de vida de las pacientes aquejadas por esta enfermedad, de ahí la necesidad de verificar que sus mecanismos de evaluación (Índice H e Índice de Allred) sean los más adecuados.

2. OBJETIVOS

2.1. GENERAL

- Comparar la eficiencia entre las escalas de evaluación de Allred e Índice H para expresión de Receptores de Estrógenos y Progesterona por Inmunohistoquímica en Carcinoma Ductal Invasor de la glándula mamaria.

2.2. ESPECÍFICOS

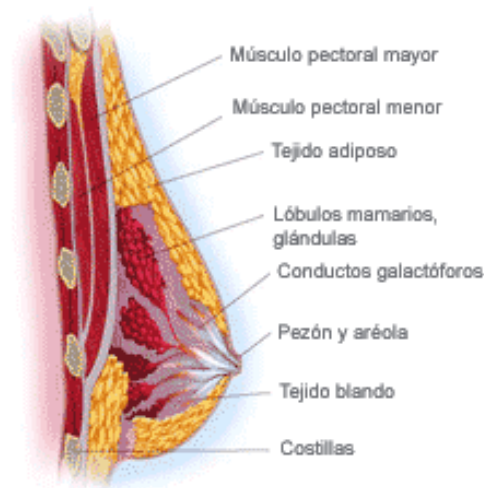
- Validar el uso sistemático de la Escala de Allred para la evaluación de receptores hormonales por inmunohistoquímica en Carcinoma Ductal Invasor (CDI) de glándula mamaria
- Establecer la sensibilidad, especificidad y valores predictivos de las escalas de evaluación de Allred e Índice H en la identificación de Receptores Hormonales de Estrógenos y Progesterona por Inmunohistoquímica.
- Evaluar la evolución clínica de las pacientes con CDI que recibieron hormonoterapia según los valores obtenidos con las escalas de evolución de receptores hormonales Allred e Índice H
- Comparar los tiempos de ejecución de las evaluaciones de receptores hormonales por inmunohistoquímica realizados con las escalas de Allred e Índice H.
- Determinar la reproducibilidad de las escalas de evaluación de receptores hormonales Allred e Índice H.

CAPÍTULO II

4. MARCO TEÓRICO

4.1. ANATOMÍA

La mama es una glándula cutánea que se desarrolla a partir de un engrosamiento en banda de la epidermis, a lo largo de una línea que va desde la axila hasta la región inguinal. La mama en la mujer se implanta en un espacio que va desde la segunda hasta la sexta costilla y desde el esternón hasta la axila, sobre los músculos pectorales menores. Su volumen y forma ofrecen amplias variaciones individuales, raciales y según la situación hormonal de la mujer. Así, se desarrollan en la pubertad, incrementan su tamaño en el embarazo y se atrofian en la postmenopausia. Existe también variación de tamaño según el momento del ciclo menstrual. (Pardo, 1996)



4.2. HISTOLOGÍA

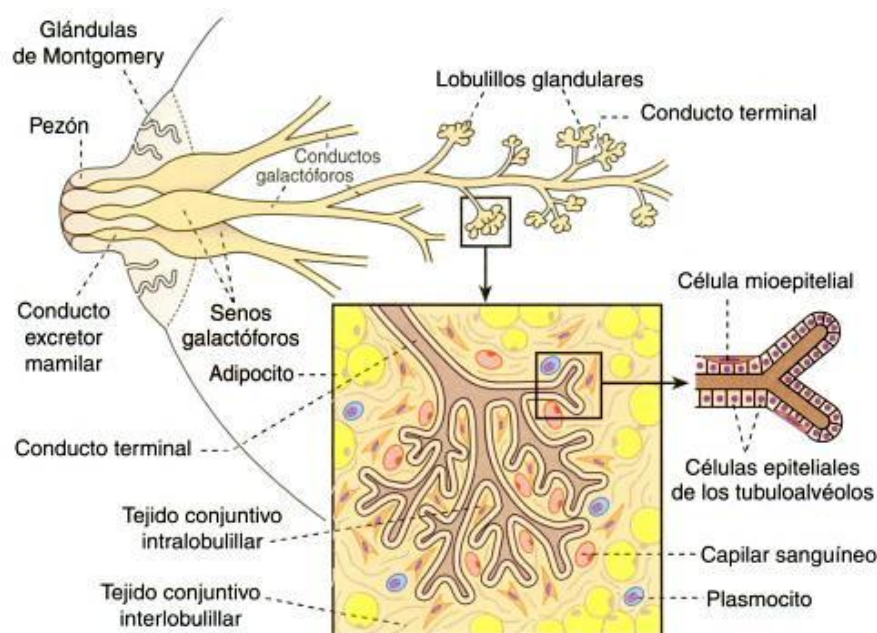
La mama está formada por parénquima de epitelio especializado y estroma que da lugar a lesiones benignas y malignas específicas de este órgano. (Kumar, 2005)

El parénquima mamario o tejido glandular de la mama está compuesto por 15 o 20 glándulas tubulares ramificadas que desembocan a nivel del pezón a través de sus conductos galactóforos principales de forma separada. Los conductos galactóforos

principales presentan una dilatación virtual llamada seno galactóforo que se dilata cuando la glándula se vuelve funcionante en la lactancia.

Los conductos galactóforos son dilataciones ductales a modo de reservorios situados inmediatamente por detrás del pezón. Conjunto de estructuras arboriformes o ramificadas, tubulares y huecas, cuyas luces confluyen progresivamente en canalículos más y más gruesos hasta terminar en uno de los 12 a 18 galactóforos. Los conductos galactóforos (ductos principales) se dividen dando lugar a conductos, a partir de estos forman los conductos más finos llamados conductos lobulillares que desembocan en los acinos glandulares, donde se localizan las células productoras de leche. Los acinos y conductos están revestidos por una hilera de epitelio cúbico secretor rodeado de una capa de células mioepiteliales.

Estructuras glandulares en la mama no lactantes, representación esquemática



(Welsch, 2009)

Los conductos y lobulillos se encuentran revestidos por los siguientes componentes:

- Células secretoras cilíndricas bajas

Son las células productoras de leche. Delimitan una luz glandular amplia en la que vuelcan su producto de secreción, son células de epitelio cúbico. Los núcleos son redondeados y ocupan la región media de las células. Estas células epiteliales de revestimiento pueden aparecer escasamente desarrolladas con aspecto aplanado en los conductos más pequeños, haciéndose cúbicas o cilíndricas en los de mayor calibre.

- Células mioepiteliales

Son aplanadas, levemente fusiformes. Se localizan alrededor del conducto, por dentro de su membrana basal. Estas células mioepiteliales localizadas en la base del complejo areola- pezón.

- Epitelio estratificado pavimentoso

Se localiza revistiendo los conductos galactóforos en su desembocadura en el pezón a modo de prolongación de la epidermis.

El interior de la mama se tapiza de un epitelio cilíndrico estratificado, rodeándose de tejido conectivo con fibras elásticas. Estos grandes conductos galactóforos se van ramificando en conductos de mediano (epitelio cilíndrico monoestratificado) y de pequeño calibre (epitelio cúbico monoestratificado) hasta que alcanzan los acinos glandulares, donde se localizan las células cilíndricas secretoras de leche.

El tejido conjuntivo o conectivo está constituido por la sustancia fundamental con fibras de colágeno y elásticas junto a distintos elementos celulares: histiocitos, linfocitos, fibroblastos y células plasmáticas.

El pezón corresponde a una eminencia cilindro-cónica formada por tejido conectivo, con algunas fibras musculares lisas. Está revestido por piel, al igual que la areola, de color rosado que aumenta de coloración haciéndose oscura tras los embarazos por el pigmento depositado. Contiene numerosas glándulas sebáceas y sudoríparas, que se hipertrofian durante el embarazo formando unas elevaciones denominadas tubérculos de Montgomery. (Tapia, 2008)

4.3. FISIOLÓGÍA

La función principal de la glándula mamaria es la de producir leche para alimentar y proteger al niño después del nacimiento. La glándula mamaria constituye la

característica fundamental de los mamíferos quienes alimentan a sus crías con el producto de su secreción. (Valdés, 1994)

4.3.1. Desarrollo de la Glándula Mamaria

La embriogénesis de la glándula mamaria comienza entre las 18 y 19 semanas de vida intrauterina, período en que se puede identificar brotes mamarios epidérmicos que penetran al mesénquima subepidérmico en la región anterior del tórax, en la denominada "línea de la leche". Simultáneamente, parte del mesénquima se extiende bajo la dermis para formar el cojinete graso y los conductos se extienden, ramifican y canalizan hasta formar el sistema ductal mamario rudimentario presente en el recién nacido.(Pechoux, 1994)

Durante el periodo neonatal puede producirse escasa secreción láctea, producto del estímulo de prolactina materna liberada por la supresión de los esteroides placentarios después del parto. (Neville, 1999)

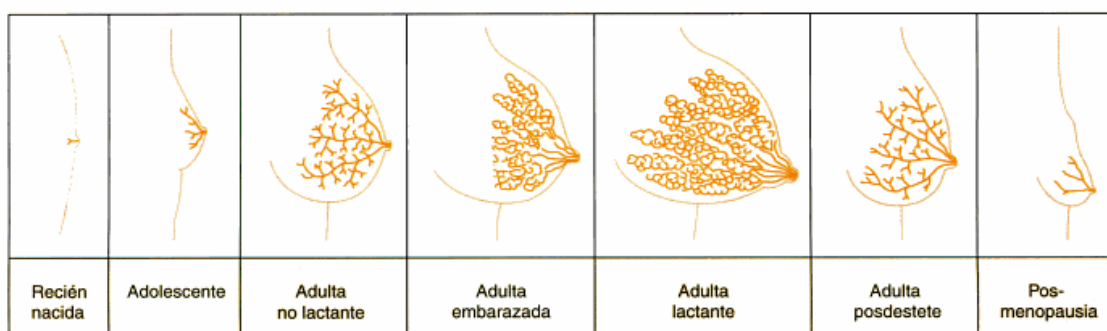
Durante el período prepuberal las vesículas mamarias se transforman en conductos, por crecimiento longitudinal y ramificación, sin que sea posible reconocer lobulillos. Con anterioridad al inicio de la menarquia, el tejido mamario rudimentario permanece inactivo y las glándulas mamarias sólo crecen en forma isométrica con el cuerpo, sin presentar modificaciones estructurales. Durante el desarrollo puberal en la niña, entre los 10 y 12 años de edad, se inicia el funcionamiento del eje endócrino hipotálamo-hipófisis-ovario. Los folículos ováricos inician la secreción de estrógenos, que sumados a un factor que probablemente sea la hormona de crecimiento, determinan el crecimiento de los brotes epiteliales y la maduración de la glándula mamaria. (Ceriani, 1974)

El desarrollo mamario durante el ciclo menstrual se caracteriza por cambios cíclicos que reflejan las variaciones hormonales. El estrógeno estimula la proliferación del parénquima con la formación y ramificación de los conductos. La progesterona en la fase lútea favorece la dilatación de los conductos y la diferenciación de las células lobulillares preparándoles para la secreción. Estos cambios no regresan con la menstruación, lo que permite a la mama continuar su desarrollo durante la edad adulta. (Neville M. , 2001)

El período inicial del embarazo se caracteriza por una gran proliferación de los elementos epiteliales y del sistema de conductos, por una gran actividad mitótica en los acinos y la formación de nuevos acinos. Entre la 5a y la 8a semana de gestación se aprecian cambios visibles en las mamas: aumentan notablemente de tamaño, se sienten más pesadas, se intensifica la pigmentación de la areola y el pezón y se dilatan las venas superficiales. Al final del primer trimestre aumenta el flujo sanguíneo por dilatación de los vasos sanguíneos y neoformación de capilares alrededor de los lobulillos. El crecimiento de la mama continúa durante toda la gestación. Después de las 20 semanas, cesa la proliferación del epitelio alveolar y las células inician su actividad secretora. Los acinos están formados por una sola capa de células epiteliales cuboideas o cilíndricas bajas, organizados en lobulillos, cada uno de los cuales tiene la capacidad de producir leche completa. Las células mioepiteliales que rodean al lobulillo se alargan y adelgazan. (Valdés, 1994)

Inmediatamente después del parto, la mama produce calostro (rico en proteínas), que se transforman en leche en los primeros 10 días a medida que caen los niveles de progesterona. Al cesar la lactancia, los lobulillos regresan y se atrofian y la mama disminuye notablemente de tamaño. (Kumar, 2005)

Después de la tercera década de vida, bastante antes de la menopausia, los lobulillos y sus estromas especializados empiezan a involucionar. Los lobulillos pueden prácticamente desaparecer en mujeres muy ancianas dejando solo conductos, para crear un patrón morfológico muy parecido a la mama masculina. (Kumar, 2005)



(Eynard, 2008)

Se han definido distintos tipos de hormonas como factores importantes en el desarrollo mamario. Entre éstas, se encuentran hormonas ováricas (estrógenos y progesterona), adrenales (glucocorticoides), pituitarias (prolactina y hormona de

crecimiento), tiroideas y durante el embarazo, las placentarias (esteroides y lactógeno placentario). En los diferentes períodos de desarrollo de la glándula mamaria se han detectado niveles elevados de estrógenos y progesterona circulantes. Los estrógenos son responsables de la formación de depósitos de grasa, desarrollo del estroma y crecimiento de un amplio sistema de conductos, La progesterona y la prolactina estimulan el crecimiento y funcionalidad de los lobulillos y acinos. (Petersen, 1987)

4.3.2. Patología tumoral maligna de la Glándula Mamaria

El cáncer de mama femenino es un problema de salud pública de primer orden a nivel mundial, especialmente en los países de nivel económico-social alto-medio, debido a su frecuencia (20-25% de todos los cánceres femeninos), alta predisposición a padecerlo (5-10% con una expectativa de vida de 74 años) y a su alta mortalidad (10%) entre los 35 y 55 años, prácticamente estable a pesar del refinamiento de las técnicas de diagnóstico precoz y a la investigación terapéutica. (Ernster V, 2000)

Este tipo de neoplasia está fuertemente relacionada con la edad. Sólo el 5% de todos los cánceres de mama ocurren en mujeres menores de 40 años de edad.

Las tasas de incidencia tienden a ser más elevadas en los países de altos recursos y más bajas en los países de bajos recursos. Por el contrario, las tasas de letalidad tienden a ser más altas en los países de bajos recursos.

Estos datos reflejan más que un incremento en la incidencia en los países desarrollados, una mejor metodología diagnóstica, de la que adolecen los países en vías de desarrollo.

Una característica común a todas las regiones del mundo es la observación de que, en muchos países, las tasas de incidencia del cáncer de mama van en aumento. También queda claro que hay una creciente disparidad en las tendencias a largo plazo de la mortalidad; en algunos países, la mortalidad está aumentando en forma paralela a la incidencia, en tanto que en otros está disminuyendo a pesar de una incidencia cada vez mayor, una diferencia que tal vez pueda atribuirse al efecto combinado de una detección precoz y un tratamiento eficaz.(Smith, 2005)

4.3.3. Fisiopatogénia

El Cáncer de la Glándula Mamaria es una neoplasia maligna caracterizada por proliferación celular excesiva, desdiferenciación, mutabilidad genética, invasividad tisular y capacidad metastásica a tejidos distantes. (Dickson, 1992)

Se sabe en la actualidad que la transformación maligna de las células normales se debe a la alteración de dos tipos de genes: los proto-oncogenes y los genes supresores tumorales.

Los proto-oncogenes son componentes celulares normales que tienen funciones importantes en el crecimiento, desarrollo y diferenciación celular, mediante el estímulo del progreso del ciclo celular y que se convierte en oncogenes y producen cáncer cuando se altera su estructura o función ya sea mediante mutaciones o a través de rearrreglos genéticos.

Los genes supresores tumorales o antioncogenes son también componentes celulares normales que codifican proteínas necesarias para que las células regulen o inhiban la progresión a través del ciclo celular. Se sabe que se requieren dos mutaciones o más para transformar una célula normal en anormal. La primera mutación convierte a la célula en susceptible y puede establecerse en forma precigótica o sea heredado por alguno de los padres. La segunda mutación no es heredada, sino adquirida durante el transcurrir de la vida de la mujer.

Se estima que una mujer vive hasta la edad de 85 años, presenta de una a nueve posibilidades de desarrollar cáncer de mama, sin embargo, este riesgo no es homogéneo para toda la población, ya que mientras algunas mujeres nunca desarrollan cáncer de mama, para otras el riesgo es mayor.(Singletary, 2003)

La etiología del cáncer de mama aún es desconocida, sin embargo se conocen algunos factores de riesgo que aumentarían la probabilidad de que una mujer desarrolle cáncer. Se considera que el 95% de las mujeres tiene al menos un factor de riesgo.

Dentro de éstos factores se encuentran: el genético, al cual se le atribuye ser responsable directo de aproximadamente 5-10% de todos los carcinomas de mama,

para lo que se han identificado dos genes supresores tumorales relacionados con el cáncer de mama (BRCA-1 y BRCA-2); los factores hormonales sexuales endógenos, siendo el exceso de estrógeno endógeno un claro factor de riesgo; y los factores ambientales, que se han considerado debido a las diferencias encontradas en la incidencia del cáncer en grupos homogéneos genéticamente. (Chacaltana, 2003)

4.4. FACTORES DE RIESGO

Las investigaciones han demostrado que existen varios factores de riesgo que pueden aumentar las posibilidades de contraer cáncer de mama. Algunos factores que aumentan el riesgo de cáncer de mama son:

- a) Edad: es uno de los factores de riesgo más documentado y se estima que la incidencia de cáncer de mama es baja en mujeres menores de 25 años (< 10 casos por 100,000) e incrementa más de cien veces a partir de los 45 años.(Dumitrescu, 2005)
- b) Aspectos Hormonales: la exposición de la glándula mamaria a las hormonas sexuales, especialmente estrógenos, es uno de los factores de mayor riesgo para el desarrollo de cáncer, y se determina mediante diversas variables, entre las cuales se encuentran; la edad temprana de la menarquía, el primer embarazo, el número de embarazos, cantidad y duración de los periodos de lactancia, menopausia tardía, así como la ingesta de hormonas sexuales exógenas, usualmente utilizadas como método de control prenatal y/o terapia de restitución hormonal postmenopáusica.(Antoniou, 2006)

Estos factores determinan el tiempo de exposición a la acción estimulante de la proliferación celular que ejercen los estrógenos y que algunos autores han designado como “La ventana estrogénica” Se refiere al tiempo en que una mujer está expuesta a una estimulación hormonal que pudiera aumentar el riesgo de cáncer de mama. Una ventana estrogénica prolongada es un factor de riesgo para que una mujer desarrolle esa enfermedad sea cuando más precoz haya sido su menarquía y más tardía su menopausia; hay más riesgo.

- c) Estilo de Vida: Dieta.- la ingesta de alcohol, deficiencia de folatos; una dieta rica en carcinógenos químicos, una alta ingesta de carnes rojas bien cocidas, ácidos grasos

insaturados. Otros de los factores de riesgo incluyen la obesidad y la disminución en la actividad física o sedentarismo.(Tretham-Dietz, 2006)

- d) Factores genéticos e historia familiar: uno de los factores de riesgo más importantes para el desarrollo de cáncer de mama es el antecedente previo de un familiar afectado, y el riesgo es estimado en función al tipo de cáncer, grado de parentesco del familiar afectado, edad de aparición y número de familiares afectados.(Thull. Dl., 2004).

Aunque la mayoría de los casos de cáncer de mama sean probablemente esporádicos, en el siglo pasado ya se observó la existencia de un agrupamiento de casos de cáncer de mama en algunas familias.

Gracias al desarrollo de la genética molecular y a su influencia en el ámbito de la Medicina, en la última década se ha asumido la existencia de una predisposición heredada al cáncer de mama, que explicaría la existencia de numerosos casos en una misma familia.

4.5. CLASIFICACIÓN HISTOLOGICA DEL CÁNCER DEL MAMA

La siguiente es una lista de las clasificaciones histológicas del cáncer de mama.

- a. Tumores Malignos Epiteliales:
- Carcinoma NOS, (sin otra especificación).
 - Ductal.
 - Intraductal (in situ).
 - Invasor
 - Lobulillar.
 - In situ.
 - Invasor.
 - Medular.
 - Mucinoso (coloide).
 - Papilar.
 - Tubular

- Carcinoma Metaplásico
- Pezón.
 - Enfermedad de Paget, NOS.
 - Enfermedad de Paget con carcinoma intraductal.
 - Enfermedad de Paget con carcinoma ductal invasor.
- Carcinoma no diferenciado.
- b. Tumores Mixtos Malignos:
 - Tumor Phylodes Maligno
 - Carcinosarcoma:
- c. Tumores Estromales Malignos (Sarcomas)
 - Angiosarcoma
 - Liposarcoma
 - Rabdomiosarcoma
 - Leiomiosarcoma
 - Histiocitoma Fibroso Maligno
- d. Tumores Malignos Linfoides:
 - Linfomas

4.6. CARCINOMA DUCTAL

Es sin duda el más común de los tipos histológicos (aproximadamente 75% de los cánceres de mama), Estos tumores son duros a la palpación y habitualmente metastatizan a los ganglios linfáticos axilares lo que implica un peor pronóstico en comparación con otros tipos histológicos. (Patchefsky, 1989)

Estos carcinomas presentan dureza pétreo al tacto y una resistencia arenosa, suelen presentarse como un nódulo solitario y en ocasiones con microcalcificaciones.

4.6.1. Carcinoma Ductal in situ

Consiste en células epiteliales malignas confinadas a los conductos mamarios, sin evidencia microscópica de invasión a través de la membrana del sótano en el tejido fino circundante. Según la diferenciación del tumor, el DCIS se puede dividir más a fondo entre grados bajos, intermedios, y altos. Tal estratificación tiene implicaciones pronósticas Hay cinco subtipos histológicos del DCIS, llamados comedón, papilar,

micropapilar, cribriforme, y sólido. El subtipo del comedón lleva la probabilidad más alta de grado alto nuclear, micro-invasión, y la sobre-expresión del oncogén de her-2/neu. La característica mamográfica más anormal asociada al DCIS es "microcalcificaciones arracimadas". Sistemas de clasificación nuevos usando una combinación de arquitectura, grado nuclear, y necrosis se han propuestos, pero los méritos de estos sistemas todavía no han sido probados. (Li Liu, 2001)

4.6.2. Carcinoma Ductal invasor

Es del tipo de célula más común, abarcando el 70% al 80% de todos los casos. Los tumores de carcinoma de mama ocurren a través de una escala de edades, siendo más comunes en mujeres en sus medianos a últimos años 50s. Son caracterizados por sus bases sólidas, que son generalmente duras y firmes en la palpación. Un carcinoma ductal "in-situ" asociado está con frecuencia presente y la necrosis del comedón puede ocurrir en ambas áreas invasoras y las áreas del carcinoma intraductal. El carcinoma ductal invasor se extiende a los ganglios linfáticos regionales y lleva comúnmente el pronóstico más pobre entre varios tipos ductales. El grado nuclear e histológico ha demostrado ser un predicador eficaz del pronóstico. (Li Liu, 2001)

4.7. FACTORES PRONOSTICOS ANATOMOPATOLÓGICOS DE UTILIDAD EN EL MANEJO CLINICO DEL CANCER DE MAMA

La Anatomía Patológica permite confirmar el diagnóstico de malignidad que previamente establece la clínica con los métodos complementarios de exploración. Un estudio anatomopatológico de la pieza operatoria obtenida en el tratamiento inicial, aporta una serie de datos estructurales que permiten hacer una buena valoración en cuanto al pronóstico. (Llorens A, 1994)

TAMAÑO DEL TUMOR

El tamaño del tumor es un factor pronóstico importante ya que tiene una asociación directa con la sobrevida y el estado ganglionar en la paciente.(Robins S., 2000)

El carcinoma mínimo de glándula mamaria se ha definido como aquel carcinoma ductal in situ, lobulillar in situ o carcinoma invasor que mide menos de 0.5 cm. de diámetro.(Quiroz, 1985)

Sin embargo, se obtuvo una incidencia de metástasis nodales de sólo 3 a 5% y observaron que cuando el tamaño del tumor aumentaba de 0.6 ha 1 cm también la incidencia de metástasis nodales aumentaba hasta el 16 %.(Dupont, 1985)

Rosen y cols. Encontraron sobrevida libre de enfermedad de 91% a los 10 años y 87% a los 20 años para pacientes con carcinoma ductal o lobulillar infiltrante con tamaño del tumor menor o igual a 1 cm., por otro lado aquellos pacientes con tumores mayores de 1 cm. tuvieron un periodo de sobrevida libre de enfermedad de 73% y 68% a los 10 y 20 años respectivamente.(Ensebi V., 1992)

Es importante reportar el tamaño del tumor de la forma más exacta posible por lo que se pueden seguir las siguientes recomendaciones:

- a. El tumor se debe medir cuando menos en dos dimensiones y el diámetro mayor es el que se toma como referencia para la estadificación.
- b. El tamaño macroscópico debe correlacionarse con el tamaño microscópico. En tumores con amplio componente In Situ, sólo se tomará como tamaño del componente invasor, el cual se debe medir durante el examen microscópico.
- c. Cuando se encuentran dos o más tumores, estos se deben reportar por separado y cada uno con su medida.

ESTADO GANGLIONAR

En el presente el mejor indicador pronóstico en pacientes con cáncer temprano de glándula mamaria es la presencia o ausencia de metástasis en los ganglios linfáticos axilares. El 20 a 30% de los pacientes con ganglios negativos presentan recurrencia dentro de los primeros 10 años, mientras que recurren el 70% de los pacientes con ganglios axilares positivos. El número de ganglios afectados también es importante, aquellos pacientes con 4 o más ganglios afectados tienen un peor pronóstico.(Rosai, 1996)

La disección de la axila se puede hacer de la manera convencional. El método de aclaramiento con técnicas especiales aumenta el número de ganglios detectados en un 30 a 40 %, sin embargo no se ha observado cambio al momento de estadificar con los métodos habituales de disección de ganglios.(Fisher, 1989)

Actualmente se considera que una disección de axila es adecuada cuando incluye 15 a 20 ganglios.

El reporte de patología debe incluir la cantidad total de ganglios, especificando el número de afectados por metástasis, el estado de su cápsula y la presencia de neoplasia en el tejido adiposo periférico. También se debe mencionar la presencia de conglomerados metastásicos.

La micrometástasis es aquella que mide 2 mm o menos de diámetro en el ganglio linfático. En 9 a 13 % de las pacientes con ganglios negativos se pueden encontrar pequeños focos microscópicos metastásicos en múltiples niveles de corte teñidos con hematoxilina-eosina y el porcentaje aumenta hasta en un 15 a 20% cuando se utiliza inmunohistoquímica para detectar células neoplásicas metastásicas aisladas en los ganglios.(Amrikachi, 2001)

El significado de las micrometástasis por inmunohistoquímica aún no ha sido definido.

GRADO HISTOLÓGICO

El grado histológico es un factor pronóstico importante ya que ha mostrado tener valor para predecir la sobrevida en pacientes con cáncer de glándula mamaria. El alto grado histológico se ha relacionado con mayor frecuencia de metástasis a ganglios axilares, recurrencias tumorales, muerte por enfermedad metastásica, menor intervalo libre de enfermedad y sobrevida global más corta.(Hieken, 2001)

PERMEACIÓN LINFÁTICA

Los émbolos tumorales dentro de los vasos linfáticos predicen recurrencia local y sobrevida global más corta. Los émbolos tumorales linfáticos se encuentran en 10 a 15%

de las pacientes con ganglios negativos, algunos estudios han demostrado pronóstico desfavorable en estas pacientes, especialmente en aquellas clasificadas como T1N0M0.(Hamilton, 2000)

Los espacios linfáticos deben distinguirse de los espacios vacíos que se observan alrededor de las células neoplásicas y que son artefactos de contracción del tejido fibroconectivo.

Los émbolos tumorales deben observarse dentro o adosados a canales vasculares delineados por una sola capa de células endoteliales y sin presencia de músculo liso. En ocasiones es necesario efectuar técnicas de inmunohistoquímica con marcadores de células endoteliales (CD34 o D2-40) para asegurar una evaluación adecuada de la permeación linfática.

INVASIÓN VASCULAR

Es la penetración de células neoplásicas en la luz de un vaso arterial o venoso. Estas estructuras vasculares se pueden distinguir por la presencia de una pared de músculo liso con soporte de fibras elásticas, en algunas ocasiones se deben utilizar tinciones de histoquímica para fibras elásticas, ya que es importante definir la presencia de una verdadera permeación vascular.

Las metástasis viscerales de cáncer de mama se han observado en 67% de los pacientes con invasión vascular en comparación con solo el 35 % de los pacientes sin invasión vascular. Así también las recurrencias son más frecuentes en pacientes que tienen invasión vascular.(Fitzgibbons, 2000)

INFILTRADO LINFO-PLASMOCITARIO

La presencia de infiltrado linfo-plasmocitario en la periferia del tumor es un hecho interesante y controversial. El carcinoma medular, el cual es de buen pronóstico, se caracteriza por prominente infiltrado linfo-plasmocitario, sin embargo este hallazgo en carcinomas ductales sin patrón específico, se ha relacionado a mal pronóstico.(Stenkuist, 1982)

CARACTERÍSTICAS DEL ESTROMA

Se han observado ciertas características del tumor que se relacionan con el estroma. Los tumores que contienen mínima reacción estromal son bien circunscritos, grado nuclear e histológico alto, reacción linfo-plasmocitaria prominente, son receptores de estrógeno negativos. Por otro lado, los carcinomas con estroma fibrótico, escirroso, con aspecto estelar son moderadamente diferenciados con escasa reacción linfo-plasmocitaria y son receptores de estrógeno positivos.(Schwartz, 1992)

4.8. CLASIFICACIÓN EN ESTADIOS DEL CÁNCER DE MAMA

4.8.1. Escala de SCARFF-BLOOM-RICHARDSON (SBR)

El método de gradación histológica que se utiliza actualmente, es el sistema modificado de Scarff-Bloom-Richardson (SBR), modificado por Elston y Ellis, que consta de los siguientes parámetros a considerar:

- a. Formación de ductos: Cuando el 75% o más del tumor presenta ductos se le asigna un punto, entre el 10 a 75% del tumor con formación de ductos se le asignan dos puntos y el tumor con menos del 10% con formación de ductos se le asignan tres puntos.
- b. Grado nuclear: Cuando el núcleo de las células neoplásicas es relativamente pequeño, uniforme en tamaño y patrón de cromatina con escasa variación con respecto a un núcleo normal se le asigna un punto (grado nuclear 1). El núcleo mayor que uno normal, con cromatina vesicular, nucléolo aparente, variaciones importantes en tamaño y patrón de cromatina se le asignan dos puntos (grado nuclear 2). El núcleo con marcada variación en forma, tamaño y patrón de la cromatina con dos o más nucléolos aparentes se le asignan tres puntos (grado nuclear 3).
- c. Número de mitosis: Sólo se deben contar las figuras mitóticas en metafase, telofase, anafase y no células hipercromáticas o apoptóticas, siempre tomando las áreas más celulares y de mayor actividad mitótica. Los puntos son asignados de acuerdo al área del campo de gran aumento utilizado para cada microscopio y

siempre contando el número de mitosis por 10 campos de gran aumento. Por ejemplo para el área de 0.274 mm cuadrados se asigna un punto para 0 ha 9 mitosis por 10 campos de gran aumento, dos puntos para 10 ha 19 mitosis por 10 campos de gran aumento y tres puntos para 20 o más mitosis por 10 campos de gran aumento. El área del campo de gran aumento se debe determinar para cada microscopio. (Saxe, 2001)

En base a lo anterior la calificación menor es de tres y la mayor de nueve.

Los tumores con calificación de 3 hasta 5 son bien diferenciados (SBR I), aquellos con calificación de 6 y 7 son moderadamente diferenciados (SBR II) Y los que obtienen calificación 8 y 9 son poco diferenciados (SBR III). (Anexo 2)

4.8.2. Sistema TNM

La clasificación en estadios del cáncer de mama consiste en definir la extensión de dicha enfermedad. Se evalúan datos clínicos procedentes de la exploración física de la paciente, evaluaciones radiológicas, determinaciones bioquímicas analíticas, datos quirúrgicos y del estudio anátomo-patológico del tumor. Esta información es útil a la hora de elegir un tratamiento estimar el pronóstico y comparar resultados obtenidos con distintos protocolos de tratamiento. Este sistema está basado en la extensión del tumor (T), la implicación de ganglios linfáticos (N), y la presencia de metástasis (M). (Behrs, 1988)

El sistema de clasificación TNM es el reconocido internacionalmente y adoptado tanto por la UnionInternationaleContre le Cancer y la American JointComissionCancerStaging and EndResultsReporting. (Anexo 3)

4.9. LOS FACTORES PRONÓSTICOS Y LA RESPUESTA TERAPEUTICA

Los factores pronósticos son cualquier característica del tumor o del paciente que puede usarse para predecir la historia natural de la neoplasia y por ende el periodo libre de enfermedad, recidiva y sobrevida de las pacientes. Los factores predictivos indican la respuesta a una terapia en especial.(Rosen, 2006)

En el manuscrito del consenso de 1999 el Colegio Americano de Patólogos los factores pronósticos los dividen en tres categorías, la categoría I incluye aquellos factores que proveen de bastante información en el manejo del paciente y que deben ser usados de manera rutinaria, la categoría II son factores biológicos y clínicos que han sido bastante estudiados, pero que todavía se necesita información estadística más sólida para ser validados y pueden ser opcionales, la categoría III son todos aquellos factores que no han sido totalmente estudiados y que deben incluirse solo en caso de protocolos. La clasificación de factores pronósticos de acuerdo a él Colegio Americano de Patólogos se muestra de la siguiente manera:

Categoría I: Tamaño del tumor, Status nodal, micrometástasis, Ganglio centinela, Grado histológico, Tipo histológico, Numero de mitosis, Status de receptores hormonales, Her – 2 – neu.

Categoría II: P53, Permeación vascular o linfática, Marcadores de proliferación celular (Ki-67, MIB – 1), Análisis de ADN (Fracción de fase).

Categoría III: análisis de Ploidia de ADN, Angiogénesis, factor de crecimiento epidérmico, Factor de crecimiento transformante, Alfa, bcl-2, pS2, Catepsina D.

Entre el 25 y el 30% de los carcinomas mamarios muestran características histológicas que permiten subclasificarlos como lesiones de buen o mal pronóstico, dependiendo si dichas características están o no presentes al menos en el 75% del tumor maligno epitelial. Estas características son:

- Patrón celular
- Diferenciación celular
- Infiltración
- Mitosis
- Necrosis
- Metástasis

(Ellis, 2003)

Estas premisas fundamentan el interés en delimitar los parámetros de la enfermedad con valor pronóstico fiable, con el fin de optimizar la terapéutica. El estudio anatomopatológico del cáncer mamario ha sido de gran utilidad en el reconocimiento de

características morfológicas que han permitido evaluar su comportamiento biológico. (Torres, 2007)

Diferentes características morfológicas y biológicas del carcinoma de mama han sido evaluadas como posibles factores pronósticos, pero su utilidad no ha sido universalmente aceptada y su importancia, por tanto, es inferior a la de los factores comentados.

En cuanto a las variables morfológicas, diferentes estudios han sugerido que la cuantificación de la microvascularización en el interior del tumor, como marcador de la angiogénesis tumoral, es un factor pronóstico independiente, de forma que los tumores con mayor cantidad de vasos tendrían peor pronóstico. (Weidner, 1992)

Uno de los aspectos más controvertidos en el tratamiento del cáncer de mama ha sido determinar la utilidad del tratamiento adyuvante sistémico en pacientes con carcinoma invasor sin afectación de los ganglios linfáticos axilares ni metástasis viscerales. En la actualidad, el uso o no de dichos tratamientos se basa en la asignación de cada paciente a un grupo de riesgo (mínimo/bajo, intermedio y alto), cuya determinación se establece mediante el estudio del tamaño del tumor, el tipo y grados histológicos y la presencia de receptores de estrógenos. (Galea, 1992)

En la actualidad, el tratamiento de las pacientes con cáncer de mama se basa fundamentalmente en la determinación de los factores pronósticos anatomopatológicos, que pueden ser evaluados de forma rutinaria en el estudio de las piezas quirúrgicas. Es por ello que el estudio macro y microscópico de estas piezas debe ser minucioso y sistematizado, siendo recomendable el seguimiento de protocolos aceptados y consensuados con los clínicos a quienes van dirigidos.

Entre los distintos marcadores de pronóstico del cáncer de mama con connotaciones de selección de tratamiento, los receptores de estrógenos (RE) y progesterona (RP) son los de mayor aceptación y aplicación clínica. Las células epiteliales de mama normales tienen receptores para estrógenos y progesterona y proliferar bajo su influencia. La mayoría de los cánceres de mama expresan también estos receptores (típicamente 75% a 85% para RE) y puede ser estimulado a crecer cuando estas hormonas están presentes. La eliminación de las hormonas endógenas por ooforectomía o el bloqueo de la acción hormonal farmacéuticamente (por ejemplo,

mediante el uso de tamoxifen o inhibidores de la aromatasa) puede retardar o prevenir el crecimiento del tumor y, a menudo prolonga la supervivencia. (Yaziji, 2008). En base a esto, los receptores de estrógenos se determinan principalmente para identificar a los pacientes que pueden beneficiarse de la terapia hormonal. (Gown, 2008)

Estudios de pacientes sin tratamiento adyuvante han demostrado que la positividad para RE mejora en un 10% el intervalo libre de enfermedad y la tasa de supervivencia, considerándose un factor de pronóstico favorable y significativo. La razón primordial de estudiar los receptores hormonales es, no obstante, la predicción de respuesta al tratamiento hormonal dirigido a reducir los niveles de estrógenos. Las pacientes con receptores positivos responden al tratamiento en el 50-60% de casos mientras que en pacientes no seleccionadas la respuesta es del 25-30% y en los casos negativos se reduce a menos del 10%. Los RP presentan implicaciones pronósticas similares a los RE y se estudian conjuntamente porque proporcionan una mejora en el valor predictivo del método. En pacientes con cáncer avanzado, la respuesta a terapia endocrina es superior sin ambos receptores son positivos. Además, el fenotipo RE negativo/PRP positivo, aunque muy infrecuente, presenta una tasa de respuesta significativamente superior (46%) al negativo con ambos (11%). (Puig, 2000)

4.10. EXPRESIÓN DE RECEPTORES HORMONALES

Para el diagnóstico del cáncer de mama, el examen inicial es la mamografía que sola o ayudada por la ecografía mamaria, detectan aproximadamente un 90% de las lesiones mamarias sospechosas de malignidad. Luego la aproximación diagnóstica se realiza con la obtención de una pequeña muestra de células por medio de la Punción Aspiración con Aguja Fina (PAAF), si esta resulta sospechosa o positiva se procede a la obtención de una biopsia mamaria la cual se envía para su estudio patológico como prueba confirmatoria. (Cevallos, 2000)

Las pruebas específicas para determinar el comportamiento biológico de la neoplasia son las siguientes:

- Determinación de receptores hormonales de estrógenos (RE) y progesterona (RP)
- Determinación de marcadores tumorales CEA y Ca. 15-3.
- Determinación de factores de pronóstico P-53, Ki-67 y Her2/Neu.

En general la primera actividad terapéutica en cáncer de mama, es la cirugía, pero el tratamiento posterior a la misma requiere tomar en consideración una serie de factores como: Tamaño del tumor, tipo histológico, grado de diferenciación nuclear, estado de los receptores hormonales, determinación de ciertos factores pronósticos P-53, Ki-67, y oncogén Her2/neu. (Molina, 2001)

La primera alusión a la hormonodependencia en el cáncer de mama se le debe al cirujano escocés Beatson al señalar que la ablación ovárica inducía la regresión de cánceres de mama inoperables. (Beatson, 1896)

La disponibilidad de estrógeno tritiado permitió inicialmente demostrar y medir receptores específicos y de alta afinidad para el estradiol y más tarde para el receptor de progesterona. (Milgrom, 1972)

Los receptores hormonales son proteínas altamente especializadas que comunican el medio extracelular con el intracelular; su mediación producirá moléculas que modulan funcionamiento intra y extracelular. (Percy, 1999)

La presencia de sitios de unión de alta afinidad para un gran número de hormonas en distintas fracciones subcelulares de la glándula mamaria, sugiere la existencia de acciones directas en el tejido para llevar a cabo los diferentes efectos biológicos.

Entre las hormonas que presentan receptores intracelulares en las células epiteliales se incluyen los estrógenos, progesterona, hormonas tiroideas y glucocorticoides. En tejido mamario normal maduro se ha descrito la presencia de receptores de estrógenos (RE) fundamentalmente en las células epiteliales y, de forma mayoritaria, en los lobulillos mientras que las células del estroma no expresan RE. (Petersen, 1987)

Se estima que cerca de un 6% de las células epiteliales en la mama normal son positivas para ER y estos niveles de expresión pueden ser modulados durante el ciclo menstrual. Hasta un 29% de estas células contienen receptores de progesterona (RP). Las células mioepiteliales no expresan ninguno de los receptores hormonales. (Zacuenien, 1990)

Las hormonas pueden actuar directamente sobre la célula tumoral o por medio de la interacción con receptores específicos cuya presencia es un requisito imprescindible para que las células respondan a la estimulación hormonal. La mayoría de los cánceres de mama dependen de la acción estrogénica para su crecimiento; de hecho se postula que los estrógenos funcionan como carcinógenos, promotores tumorales y como reguladores del crecimiento tumoral. (Clarke, 1992)

Dada la importancia de este factor hormonal, se ha investigado en profundidad acerca del papel del receptor de estrógenos (RE) en el control de la expresión génica y del proceso de mitosis así como su utilización como marcador de la respuesta hormonal y prognosis. (Dickson R. L., 1992)

El receptor de progesterona (RP) tiene importancia como mediador de respuestas hormonales y como producto de la acción estrogénica en las células tumorales y se ha estudiado tanto como marcador tumoral como en términos de su regulación por agonistas y antagonistas Estrogénicos. (Horwitz, 1975)

4.10.1. Características de los Receptores de Estrógenos y Progesterona

El receptor estrogénico (RE) en humanos está constituido por una proteína de 595 aminoácidos con un peso molecular de 66 KDa. (Green, 1986)

Los estrógenos ejercen sus efectos sobre la proliferación y potencial metastásico de las células epiteliales de cáncer de mama a través de este receptor. Los agonistas de estrógenos así como los antagonistas, pueden unirse a RE en el mismo sitio que los estrógenos sugiriendo que estas moléculas pueden regular la actividad del receptor alterando de forma diferente su conformación. (Bettuzzi, 1991)

Aunque las hormonas responsables por excelencia de la estimulación de la proliferación celular en cáncer de mama son los estrógenos, cada vez se le atribuye un papel más importante a la progesterona en la biología del cáncer de mama. (Loyeux, 1989)

El contenido de RE y RP del tumor se utiliza como criterio de clasificación para decidir qué pacientes son susceptibles de recibir una terapia hormonal. Los tumores que

se desarrollan en células sensibles a la acción hormonal como las de la glándula mamaria, retienen algunos de los controles reguladores de sus progenitores normales, pero esos controles pueden perderse o alterarse durante la progresión de un estado hormono dependiente a la independencia hormonal. (King, 1990)

La utilidad de la determinación de los receptores de estrógenos y progesterona en la elección del tratamiento del cáncer de mama está bien establecida. Sin embargo, la capacidad real de predicción de la respuesta terapéutica no es tan elevada como en ocasiones se ha pensado. Así, sólo el 65% de los tumores con receptores de estrógenos positivos responden al tratamiento hormonal y, además, también lo hacen hasta un 10% de los tumores negativos. El grado de respuesta aumenta al 80% en los casos en los que tanto los receptores de estrógenos como los de progesterona son positivos. Estas discrepancias pueden explicarse parcialmente por errores en la cuantificación, heterogeneidad de la población tumoral, disfuncionalidad del receptor etc. (Cancer, 1977)

En el cáncer de mama el receptor de progesterona (RP), al igual que el receptor de estrógeno (RE), es un factor de pronóstico y un marcador de respuesta al tratamiento hormonal.(Osborne, 1980)

Existe una excelente correlación entre la positividad para RE y la futura respuesta a la terapia hormonal: más del 50 % de tumores con RE positivos respondieron al tratamiento hormonal, frente a menos del 10 % de tumores con RE negativos.(Pinto, 2001)

La determinación conjunta del receptor de estrógeno - progesterona y la medición de la fracción de proliferación celular ha sido de utilidad para predecir la mejor respuesta a tratamientos endocrinos y quimioterápicos. (Silvestrini, 1979)

Los tumores RE+/RP+ se han relacionado con menores tasas de proliferación celular, mejor grado de diferenciación histológica, menor tamaño tumoral, buena respuesta al tratamiento hormonal y pronóstico favorable.(Bernoux, 1998)

La expresión normal del RP depende de la estimulación del RE por el estradiol y, por tanto, de una vía de señalización estrogénica funcionalmente activa.

Un hecho aún sujeto a controversia es el valor de los receptores hormonales como factor pronóstico independiente. Al igual que para otras variables, los resultados de las distintas series son contradictorios, lo que revela no sólo diferencias metodológicas en la determinación de las mismas, sino también la variabilidad en el número de pacientes estudiadas y sus características clínicas, así como en el tiempo de evolución y tratamiento. En general, los diferentes estudios tienden a demostrar un moderado mejor pronóstico en los casos con receptores hormonales positivos, cuya magnitud está alrededor del 10% en lo que se refiere tanto a la supervivencia global, como a la supervivencia libre de recaída.(Mcguire, 1992)

CAPÍTULO III

5. INMUNOHISTOQUÍMICA

5.1. LA INMUNOHISTOQUÍMICA COMO TÉCNICA DE EVALUACIÓN DE RECEPTORES HORMONALES

Los RE y RP se pueden determinar en forma cualitativa y semicuantitativa en cortes de tejido tumoral y cuantitativamente en el citosol de las células. Entre los métodos que han sido descritos para su determinación tenemos el radioanalítico, los inmunológicos que no usan isótopos radiactivos y que determinan proteínas por medio de anticuerpos específicos; los más utilizados son: inmunohistoquímico (IHQ), ensayo inmunoenzimático (ELISA), electroforesis de proteínas, citometría de flujo, entre otros, y ensayos por biología molecular. (Hernández, 1998)

El primer método que se empleó para la evaluación de receptores hormonales en el cáncer de mama y que corresponde a la mayoría de los primeros reportes, es el método bioquímico con carbóndextrán, actualmente el que más se utiliza es el de IHQ, la segunda generación de anticuerpos monoclonales unidos a antígeno, garantiza mejor sensibilidad, es más barato, útil en tejidos fijados en formol e incluidos en parafina, además visualiza específicamente la célula tumoral y en varias publicaciones ha mostrado excelente correlación con el método bioquímico. (Lesser, 1985)

Desde 1968 el RE ha sido cuantificado por métodos bioquímicos empleando homogeneizados de tumores incubados con estrógenos marcados radioactivamente. La cantidad del estrógeno unido al receptor se determinaba después de la separación del estrógeno libre con carbón dextrano (DCC). Con este método se ha logrado la identificación del 60% de los tumores RE+.(Lluch, 1987)

El método bioquímico clásico (ensayo de unión) basado en la determinación de la actividad de los receptores por milígramo de proteína sobre un homogeneizado tisular sólo puede emplearse sobre tejido fresco, requiere un volumen mínimo de tumor que impide el estudio de lesiones microscópicas o de pequeño volumen, puede producir “falsos positivos” por contaminación de la muestra tumoral con parénquima mamario normal vecino y “falsos negativos” por ausencia no detectada de neoplasia en el tejido estudiado. (Puig, 2000)

Aunque la cuantificación bioquímica es el procedimiento habitual para determinar la presencia de receptores de estrógenos, cada vez está más extendido el estudio inmunohistoquímico sobre secciones tisulares utilizando anticuerpos específicos.(Battifora, 1993)

La inmunohistoquímica de receptores hormonales es el conjunto de técnicas basadas en la detección de antígenos sobre cortes tisulares utilizando anticuerpos conjugados con proteínas con actividad enzimática, como la peroxidasa del rábano. La fijación de sustratos apropiados permite teñir las estructuras tisulares que expresan el antígeno de interés. (Prieto, 2010)

Este método ofrece la ventaja de la visualización directa de los receptores en los núcleos de las células neoplásicas, lo que permite evaluar directamente la heterogeneidad tumoral y evita los falsos positivos que pueden ocurrir en las determinaciones bioquímicas cuando se toman muestras que contienen, además del tumor, tejido normal. La limitación fundamental del uso de la determinación inmunohistoquímica de los receptores ha sido su carácter cualitativo más que cuantitativo; sin embargo, el uso de estimaciones semicuantitativas, analizando el porcentaje de células teñidas y la intensidad de la tinción, así como la aplicación de técnicas de análisis de imagen, han mostrado una excelente correlación con las determinaciones bioquímicas.(Esteban, 1993)

Los estudios inmunohistoquímicos y de hibridación in situ progresivamente han logrado desplazar a los métodos bioquímicos y, a su vez, han permitido demostrar la localización nuclear del RE. Los porcentajes de positividad con la tinción IHQ en algunos casos superan el 70%.(Ramos, 1998)

El método IHQ identifica la expresión de los determinantes antigénicos característicos de RE y RP a nivel microanatómico, específicamente en el núcleo celular, puede aplicarse sobre tejido fresco, frotis citológicos o tejido fijado e incluido en parafina, incluso en material de archivo, y permite estudiar cualquier tipo de lesión independientemente de su tamaño y localización. Otra de sus ventajas esenciales radica en la evaluación por visualización microscópica directa que permite la interpretación de los resultados de la IHQ simultáneamente con el examen morfológico del tumor y del tejido normal acompañante, evitando falsos negativos y falsos positivos. (Puig, 2000)

Aproximadamente 15 a 25% de carcinomas serían negativos para RE o RP, pero es necesario evitar resultados falsos negativos verificando que apropiados controles internos y externos sean positivos. Repetición de estudios deben considerarse en otros especímenes, si son disponibles para confirmar. (Harvey, 1999)

La determinación del RP se ha realizado mediante métodos bioquímicos, ensayo inmunoenzimático, tinción IHQ e hibridación in situ. Los niveles de RP obtenidos por métodos bioquímicos e inmunoenzimáticos son comparables, en cambio, los porcentajes de positividad son discretamente mayores con las técnicas inmunohistoquímicas. (Foekens, 1989)

Inmunohistoquímica (IHQ) es una técnica más reciente para evaluar el receptor de estrógeno (ER) el estado de los cánceres de mama, con el potencial de superar muchos de los defectos asociados con el tradicional ensayo de unión al ligando (LBA).

5.2. DESCRIPCIÓN DE LA TÉCNICA DE INMUNOHISTOQUÍMICA UTILIZADA (ER/ PR PHARMDX™ KIT – DAKO)

La IHQ se realizó en el espécimen más representativo del tejido tumoral mamario con reactivos del kit DAKO ER/PR, que consiste en marcar con un complejo de estreptavidina-biotina peroxidasa de rábano (CEB) los RE y RP para su demostración cualitativa, siendo ocho veces más sensible que otras técnicas IHQ. El fundamento de este método se basa en el empleo de anticuerpos monoclonales específicos que se fijan al receptor de esteroide, y un segundo anticuerpo marcado con peroxidasa para localizar la primera fijación del anticuerpo monoclonal. La tinción con peroxidasa permite visualizar los receptores tisulares con sus sustratos. (Ginarte, 2000)

Es un ensayo semicuantitativo de IHQ para identificar RE y la expresión de RP en tejidos normales y neoplásicos fijados en formalina o por parafina para la evaluación histológica.

ER/PR pharmDx™ detecta específicamente la proteína alpha RE así como la proteína RP localizada en los núcleos de las células que expresan RE y RP respectivamente.

Las investigaciones dentro de los mecanismos biológicos para cáncer de mama han encontrado que la tasa de crecimiento es dependiente en la presencia de estrógeno o progesterona o los dos en casi todos los cánceres de mama. Así, el estado del receptor de estrógeno y receptor de progesterona en el cáncer de mama es considerado como un factor predictivo y pronóstico válido para el manejo del paciente en terapia hormonal.

ER/PR pharmDx™ está indicado como una ayuda para pacientes identificados para tratamiento con terapia hormonal o inhibidores aromatasa, así como una ayuda en el pronóstico y manejo del cáncer de mama.

- ER/PR pharmDx™ provee las bases para la evaluación de RE y RP fiables.
- FDA 510(k) ensayo claro, estándar y reproducible.
- Nuevo, elevado cóctel de anticuerpos RE específico y anticuerpo RP con demostrada sensibilidad y especificidad.
- Protocolo optimizado con un sistema de puntuación clínicamente validado para la determinación de los estados de ER/PR aplicables en el manejo de pacientes de cáncer de mama.
- Concordancia demostrada entre ER/PR pharmDx™ y un método de referencia establecido con un punto límite de puntuación negativo/positivo IHQ calibrado utilizando muestras con respuesta de datos conocidos bioquímicos y clínicos.
- Punto límite IHQ verificado de puntuación para positivismo de ER/PR pharmDx™
- Autorización de FDA y confianza en la sensibilidad y especificación de que el test disminuye la responsabilidad de la validación extensiva del equipo de laboratorio.

El Kit de ER/PR pharmDx™

Después de la incubación del anticuerpo primario monoclonal al humano, las proteínas ER o PR o el reactivo de control negativo, este protocolo válido emplea una visualización reactiva lista para usar basada en tecnología dextrina. Este reactivo consiste tanto en moléculas de cabra anti-ratón, anticuerpo secundario y moléculas de rábano picante, peroxidasa unidas a un polímero común, columna de dextrina.

La conversión enzimática del cromógeno posteriormente adherido resulta en una formación de un producto de reacción visible en el sitio del antígeno. Los especímenes pueden entonces estar contra color y cubierta. Los resultados son interpretados usando un microscopio de luz.

El Kit de ER/PR pharmDx™ incluye:

- Cóctel de anticuerpos de ratón Anti-humano ER/PR ratón monoclonal cóctel anticuerpo ER/PR pharmDx™ (clones 1D% y ER-2-123)
- Ratón anti-humano anticuerpo RP ratón monoclonal anticuerpo RP ER/PR pharmDx™ (clon PgR 1294)
- ER/PR pharmDx™ control negativo de reactivo (cóctel de ratón IgG1 y ratón IgG2a)
- ER/PR pharmDx™, laminillas de control, cada diapositiva contiene dos comprimidos, formolizados, e incluidos en parafina, de células representando negativo (0) y niveles moderados de expresiones de proteínas RE o RP (dependiendo de anticuerpos primarios aplicados)
- ER/PR pharmDx™ solución de antígeno determinante de recuperación (10x)
- ER/PR pharmDx™ reactivo de bloqueo de peroxidasa.
- ER/PR pharmDx™ reactivo de visualización
- ER/PR pharmDx™ DAB + cromógeno-sustrato
- Buffer de lavado (10x)
- Materiales requeridos pero no suministrado:
 - Olla de presión calibrada con la capacidad de alcanzar y mantener una temperatura de 125°C por 5 minutos.
 - Hematoxilina (código SK308 o S3301)

Es esencial que los laboratorios adhieran estrictamente la utilización de reactivos y protocolos específicos para el uso de ER/PR pharmDx™ para asegurar resultados consistentes y reproducibles. Todos los reactivos están formulados específicamente para el uso de esta prueba.

TASAS DE EXPRESIÓN RE/RP

Estudios realizados han demostrado que el estado de RE/RP esta correlacionado con consecuencias no tratadas. Por ejemplo, pronóstico de bien diferenciado por cáncer de mama invasivo, y especialmente correlacionado con respuesta a terapia hormonal. Se ha demostrado que un fenotipo de expresión RE y PR ofrece una predicción más precisa de la respuesta del paciente a la terapia. Así, el resultado del examen del receptor de estrógeno y receptor de progesterona en especímenes de cáncer de mama son considerados como pronósticos válidos y un factor predictivo para el manejo del paciente en terapia hormonal.(Bardou, 2003)

CONTROL DE CALIDAD

El primer paso para control de calidad por interpretación en la evaluación de los placas de control de ER/PR pharmDx™. Cada una de las placas de control suministrados poseen dos líneas celulares humanas comprimidas formalizadas e incluidas en parafina: una positiva y una negativa con anticuerpos RE y RP. Dos placas de control deberían administrarse en cada procedimiento de coloración, uno incubado con el cóctel de anticuerpos RP y uno incubado con el anticuerpo PR.

La evaluación del control de Dako suministrado indica la validez del manejo de coloración. La placa de control no debería ser usada para ayudar en la interpretación del resultado de pacientes. Si cualquiera de las líneas celulares de control tiene resultados de coloración fuera del criterio aceptable, los resultados de todas las placas de evaluación coloreados simultáneamente dentro del mismo manejo debería ser considerados inválidos y el examen debería ser repetido.

El control de tejidos debería ser fresco, especímenes ordenados de biopsia/cirugía, procesados e incorporado tan pronto como sea posible de la misma manera que las muestras del paciente. El control positivo de tejidos es indicador de tejidos correctamente preparados y técnicas apropiadas de coloración. Un control positivo de tejido para cada set de condiciones de examen debería ser incluido en cada proceso de coloración. Endocérvix es recomendado con un control de tejido que contiene ambas células ER y PR. Los especímenes usados para el control positivo de tejidos debería dar una coloración positiva débil para que los cambios sutiles en la sensibilidad del anticuerpo primario puedan ser detectados. Las laminillas de control suministradas con este sistema o especímenes procesados de manera diferente a la muestra válida del paciente el desempeño del reactivo únicamente y no verifica la preparación del tejido.

Controles positivos de tejido conocidos deberían ser únicamente utilizados para monitorear el correcto desempeño de los tejidos procesados y los reactivos del examen, NO como una ayuda para formular diagnósticos específicos de muestras de pacientes. Si el control positivo de tejido falla en demostrar la coloración positiva apropiada, los resultados con los especímenes examinados deberían ser considerados inválidos y el examen debería ser repetido.

Usar el control negativo de tejido (conocido como RE y RP negativo) ordenado, procesado e insertado de la misma manera como la(s) muestra(s) del paciente con cada proceso de coloración para verificar la especificación del anticuerpo primario y para indicar reactividad cruzada no intencionada para los componentes celulares de células. La variedad de diferentes tipos de células presente en la mayoría de las secciones de tejido ofrecen sitios internos negativos de control. Si ocurre una coloración específica en el tejido de control negativo, los resultados con los especímenes del paciente deberían ser considerados inválidos y el examen debe repetirse.

La evaluación de la placa debería ser realizada por un patólogo utilizando un microscopio de luz.

ER/PR pharmDx™ colorea el núcleo celular cuando se usa anti-RE y anti-RP. El patrón de coloración inmune en el cáncer de mama es normalmente heterogéneo. La puntuación está basada en el examen de células tumorales en la placa.

- Una puntuación proporcional (PS) es asignada representando la proporción de células tumorales con una coloración nuclear positiva.
- Una puntuación de intensidad (IS) es asignada representando el PROMEDIO de intensidad de coloración para todas las células tumorales positivas.
- Una puntuación total (TS) es la suma de PS más IS (con rango de 0, 2-8). Un resultado positivo para ambos ER y PR está definido como $TS \geq 3$, el cual es validado en numerosos estudios clínicos largos. (Allred, 1998)

ARTEFACTOS PARA RECUPERACIÓN DE ANTÍGENO DETERMINANTE

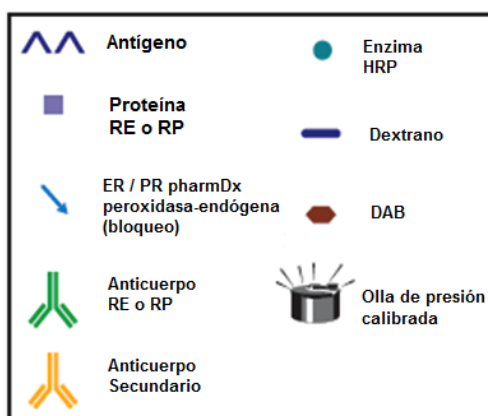
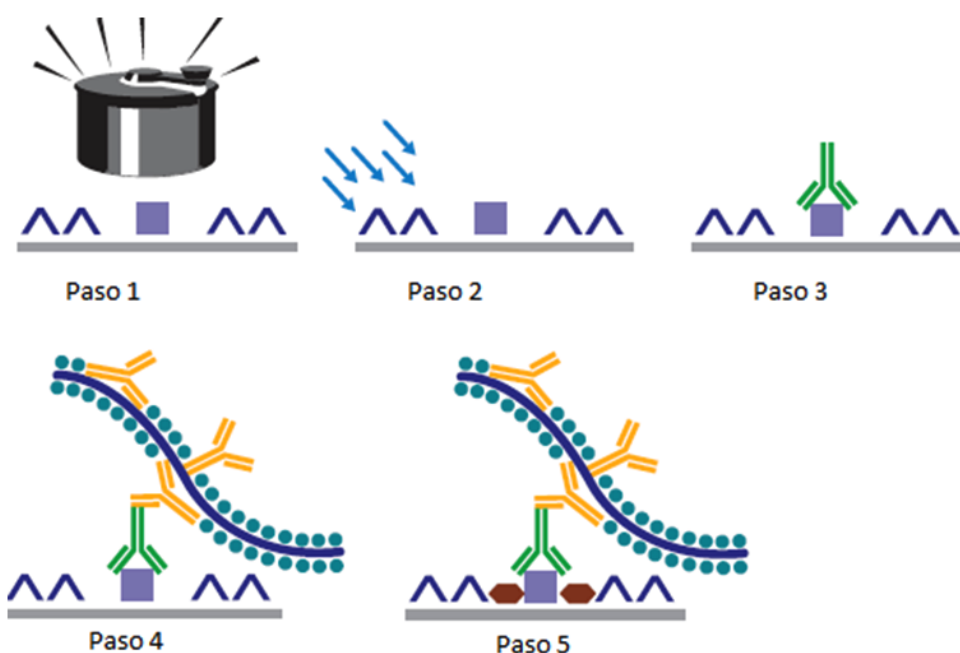
ER/PR pharmDx™ incluye un pre-tratamiento de forma de recuperación de antígeno determinante en una estufa de presión. Las secciones de tejido pueden ser ocasionalmente dañadas por una recuperación de antígeno determinante, causando disrupción de las membranas celulares y sobretodo de la arquitectura de tejido. El tejido mamario comúnmente contiene grasa que puede ser trastornada fácilmente. El uso de placas cargadas positivamente puede mejorar la adherencia del tejido.

FONDO DE COLORACIÓN

El fondo de coloración está definido como una coloración difusa y no específica de un espécimen. Puede ser causada por varios factores. Estos factores incluyen, pero no están limitados al arreglo y proceso del espécimen, sustracción incompleta de parafina de secciones después de la coloración, y lavado incompleto de laminillas. (DAKO, 2007)

PROCEDIMIENTO

1	Recuperación del antígeno en la olla de presión	Incubar 5 minutos a 125 ° C.
2	Aplicación de ER / PR pharmDx para el bloqueo de la peroxidasa endógena	Incubar 5 minutos
3	aplicación del anticuerpo primario	Incubar durante 30 minutos.
4	Aplicación de reactivo ER / PR pharmDx de visualización	Incubar durante 30 minutos
5	Aplicación de ER / PR pharmDx + DAB + sustrato-cromógeno	Incubar 10 minutos



ESCALAS DE MEDICIÓN

Hay dos métodos de cuantificación de ER mediante el uso de la intensidad y porcentaje de células positivas son el Allred (Harvey, 1999) y Índice H (McCarty, 1985) . Los 2 sistemas de clasificación de los carcinomas son similares pero no idénticos (Shousha, 2008)

5.2.1. ÍNDICE H

Método semicuantitativo de reporte conocido como “ÍNDICE H”. Este método es sencillo, se realiza con microscopio de luz convencional, se basa en el porcentaje de núcleos positivos y la intensidad de la tinción, para la puntuación del Índice H se selecciona 10 campos al azar con una amplificación de 4x en el microscopio óptico, llegando a contar el mínimo de 200 células y clasificándolas en: número de células negativas, número de células positivas leves, número de células positivas moderadas, número de células positivas intensas, para luego realizar un cálculo con la siguiente fórmula:

$$\text{Índice H} = \frac{[(\# \text{leves} \times 1) + (\# \text{moderadas} \times 2) + (\# \text{intensas} \times 3)] \times 100}{200}$$

$$\text{Porcentaje de Positividad} = \frac{(\text{leves} + \text{moderadas} + \text{intensas}) \times 100}{200}$$

En su estudio Wilbur y cols. consideran a RE positivo cuando es igual o superior a 20 y RP cuando es igual o mayor a 5. (Wilbur. D, 1982) La evaluación del número de células con la señal positiva intranuclear con el método de IHQ, se basa en la proporción de núcleos teñidos y en la intensidad de tal positividad.

5.2.2. ALLRED

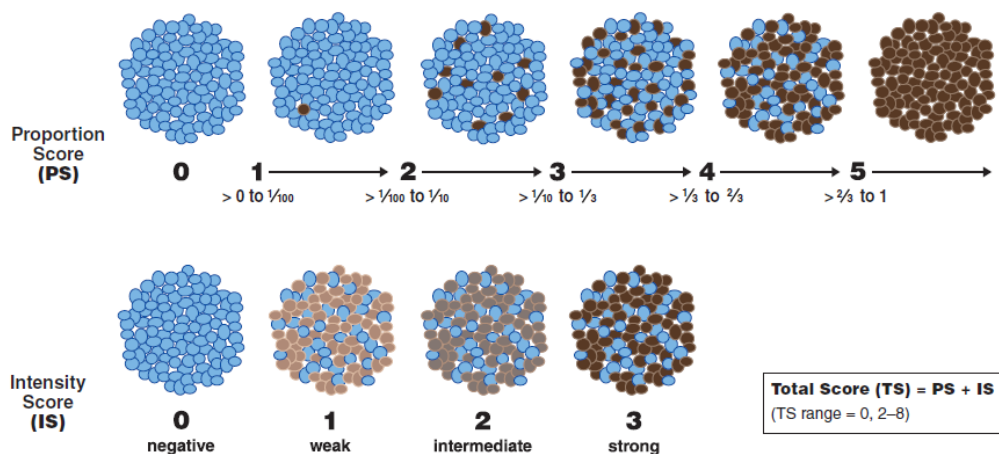
Allred desarrolló un sistema de puntuación de IHQ, que combina las dos categorías de tinción para obtener un puntaje numérico único que puede estar relacionada con otros indicadores de malignidad. Este sistema de puntuación asigna un valor numérico a la intensidad total de expresividad y el patrón de tinción, los dos valores se añaden simplemente para producir el resultado final. (Allred, 1998)

Aunque el sistema de puntuación Allred claramente representa una mejora en la cuantificación de IHQ sobre el sistema convencional de producción de un resultado numérico único para cada laminilla, la puntuación se realiza de forma manual, introduciendo un nivel de subjetividad en el análisis. Además, los métodos manuales no son adecuados para el procesamiento a gran escala. (Harvey, 1999)

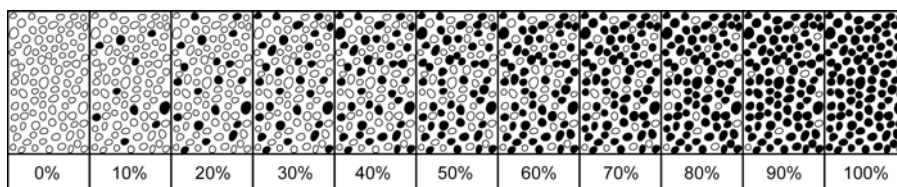
Es evidente que no es factible llevar a cabo la calificación manual en esta escala. En las aplicaciones de detección de cáncer, donde un gran número de muestras de tejido pueden ser revisados con relativamente pocos positivos entre ellos, un método fiable de puntuación automática potencialmente pueden actuar como un "lector de segundo", que complementa un patólogo entrenado.

DETERMINACIÓN PUNTUACIÓN ALLRED

La escala de Allred definida por Dixon considera la cantidad de células que se tiñen y la intensidad de la tinción, valorada comparando la muestra con una escala análoga visual preestablecida por el fabricante del anticuerpo que se utiliza. La cantidad de células teñidas se clasifica de 0 a 5 y la intensidad de la tinción de las células es clasificado como 1, 2 o 3. El valor final de la escala resulta de la sumatoria de los valores obtenidos en cada parámetro, por ejemplo, 5 (cantidad de células) y 3 (intensidad de tinción), el puntaje de Allred es 8. Con el fin de iniciar la terapia, el corte que se utiliza para la positividad sería 3 o más. (Dixon, 2003)



Mediante este método el porcentaje de células positivas puede ser estimado visualmente, según se observa en el siguiente gráfico, y se puede establecer una clara correlación semicuantitativa de acuerdo a lo que señala la tabla adjunta:



Estimación visual del porcentaje de células positivas

Tabla: Índice de Allred para estrógenos y progesterona en cáncer de mama

La puntuación Allred combina el porcentaje de células positivas y la intensidad de tinción en la mayoría de los carcinomas. Propone 8 valores posibles, a grupos simplificados.			
Proporción (PS)	% células positivas	Intensidad (IS)	Intensidad de Positividad
0	0	0	Ninguno
1	<1%	1	Débil
2	1% a 10%	2	Intermedio
3	11% a 33%	3	Fuerte
4	34% a 66%		
5	>67%		
La puntuación de la proporción y la puntuación de la intensidad se sumarán a la puntuación total.			
Total (TS): PS + IS		Interpretación	
0, 2		Negativo	
3, 4, 5, 6, 7, 8		Positivo	

(Harvey, 1999)

CAPÍTULO IV

6. MARCO METODOLÓGICO

6.1. DISEÑO EXPERIMENTAL Y MUESTRA

Como se pretende validar un sistema de evaluación de pruebas de laboratorio se propone realizar un estudio correlacional – transversal, que permita la comparación respecto a la eficiencia de la utilización de las Escalas de Allred e Índice H (prueba de oro) para la valoración de la presencia de receptores de estrógenos y progesterona mediante técnicas de inmunohistoquímica. Para ello se analizarán 90 casos que han sido procesados y diagnosticados como carcinomas ductales invasores en el Servicio de Patología del Hospital Oncológico Solón Espinosa Ayala, durante el año 2009.

En nuestra investigación, los casos serán reevaluados por 2 Patólogos con experiencia, uno del Hospital Oncológico “Solón Espinosa” y otro del Hospital “Carlos Andrade Marín” y un Patólogo de reciente formación, aplicando el sistema de escala de Allred y el Índice H, en un sistema de ciego, por el cual las escalas de evaluación serán aplicadas alternadamente al material inmunohistoquímico, de manera que no se puedan correlacionar las mismas, ni conocer los resultados establecidos entre los evaluadores, adicionalmente se establecerá el tiempo de aplicación de cada escala para cada caso.

Los datos serán recogidos en formularios establecidos para el efecto (Anexo 4). Los valores obtenidos de las lecturas serán comparados por nosotros los investigadores por medio de un estudio estadístico.

6.1.1. Estandarización

Se realizarán 2 tipos de lectura para la técnica de Inmunohistoquímica mediante el estuche de la casa comercial DAKO para receptores hormonales, para estandarizar las técnicas (Allred e Índice H). Los lectores de las laminillas deben tener experiencia suficiente en el diagnóstico de Cáncer Ductal Invasor por receptores hormonales, a los cuales se les realizará una prueba piloto para estandarizar los criterios de cada uno en función de los porcentajes de variabilidad intraobservador.

6.1.2. Plan de Análisis Estadístico

Se realizará estadística descriptiva para variables cualitativas y el cálculo de la Sensibilidad, Especificidad y Valores predictivos positivo y negativo, así como variabilidad intra e inter observador mediante reproducibilidad simple y compleja, y Test de Kappa de Cohen. Se tabularan los datos utilizando tabla Excel.

6.1.3. Universo y Muestra

La cantidad de casos se obtuvo aplicando la fórmula para muestreo aleatorio simple con variable dependiente cualitativa y universo finito, tomando como referencias 256 en total, que ya recibieron tratamiento y están controlados.

$$n = \frac{N p q z^2}{(N - 1)e^2 + p q z^2}$$

$$n = \frac{(256)(0.40)(0.60)(1.96)^2}{(255)(0.0064) + (0.40)(0.60)(1.96)^2}$$

$$n = \frac{236.02}{1.64 + 0.9219}$$

$$n = \frac{236.02}{2.5619}$$

$$n = 90.12$$

$$n = 90$$

Dónde:

- N es el número total de pacientes que han acudido al servicio en 1 año
- p probabilidad de ocurrencia (casos positivos para CDI)
- q probabilidad de no ocurrencia (casos negativos para CDI)
- z valor 1.96 que corresponde al 95 % de probabilidad de no equivocarse

6.2. ASPECTOS ÉTICOS

La naturaleza del material de estudio (placas y bloques de archivo), hizo difícil e innecesaria la obtención del consentimiento informado por parte de los pacientes, pero se guardo absoluta confidencialidad, respecto de la información obtenida de sus historias clínicas, utilizándose exclusivamente para la realización de la presente Disertación y evitando la mención individualizada de la información de manera que no comprometa el derecho a la confidencialidad de la información médica personal e institucional.

Para la realización del estudio se obtuvo la autorización del Servicio de Patología del Hospital Oncológico "Solón Espinoza Ayala", para la utilización del material histopatológico de sus archivos, bajo las normas y procedimientos que determine la institución mencionada.

6.2.1. Criterios de Exclusión

- Pacientes diagnosticadas con carcinoma ductal in situ.
- Pacientes diagnosticadas con carcinoma Lobulillar y otro tipo de tumores.
- Muestras con determinaciones IHQ de marcadores moleculares incompletas.
- Aquellas pacientes perdidas de seguimiento que no han completado al menos los 12 meses objeto del estudio.

6.2.2. Criterios de Inclusión

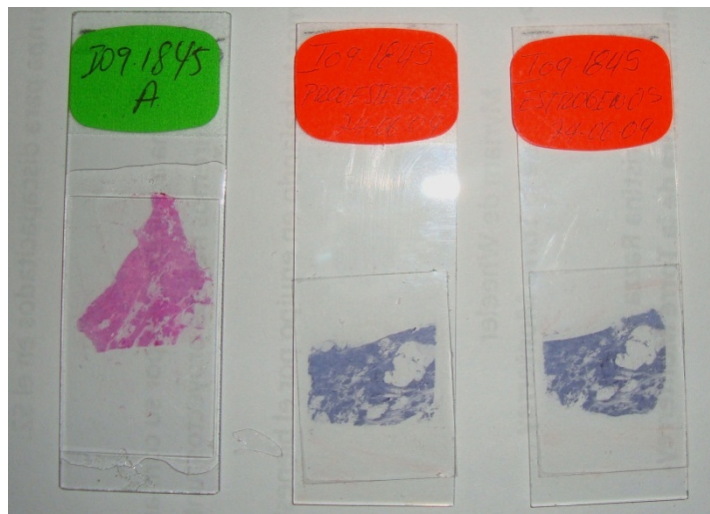
- Pacientes diagnosticadas con cáncer de mama tipo ductal invasor. Estadios I, II, III Y IV
- Pacientes con un seguimiento mínimo de 12 meses para cada una de las integrantes del estudio.
- Pacientes que tengan una determinación IHQ de receptores de estrógeno (RE), receptores de progesterona (RP)
- Pacientes que hayan sido tratadas con hormonoterapia.

RESULTADOS

Se analizaron un total de 90 casos, se obtienen 3 laminillas de cada uno respectivamente, una laminilla con tinción Hematoxilina y dos teñidas por inmunohistoquímica para evaluación de Receptores de Estrógenos y Receptores de Progesterona. (Ver Gráfico No. 1)

IDENTIFICACION LAMINILLAS DE ESTUDIO

Gráfico No. 1



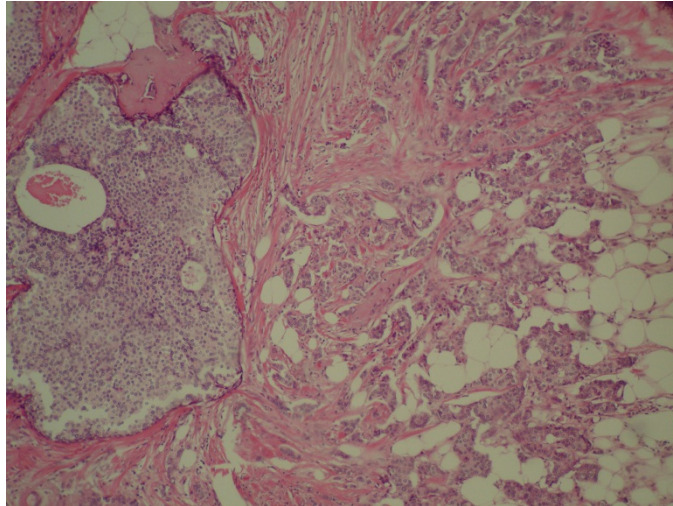
(Hematoxilina, RP, RE)

Todos los casos fueron analizados por los 3 observadores en distribución aleatoria de estos, siendo evaluados con los dos métodos de lectura: índice H e Índice de Allred en momentos diferentes.

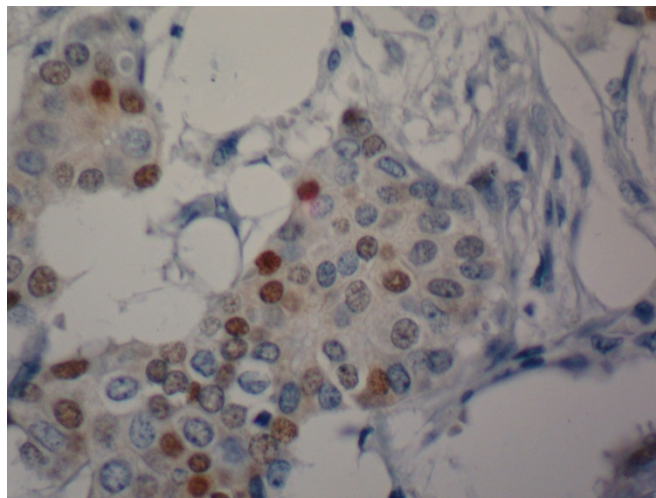
MICROSCOPIA DE CASOS ESTUDIADOS

Gráfico No. 2

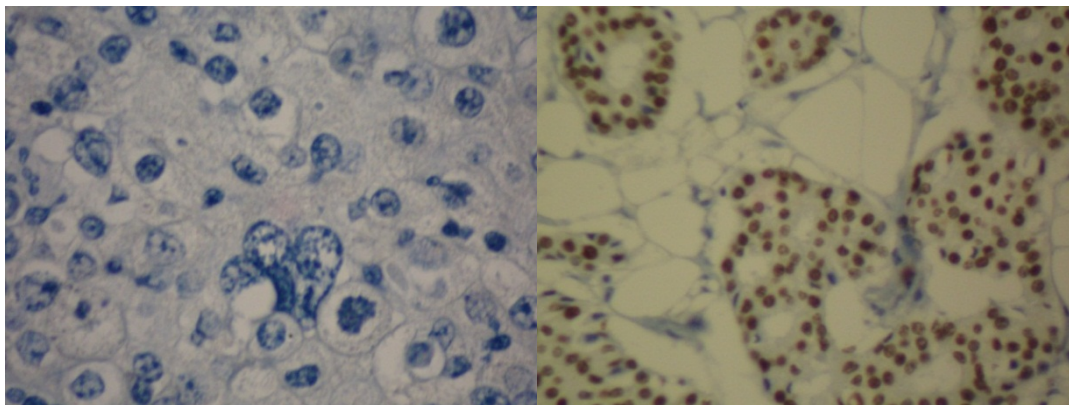
Negativo



Intermedio



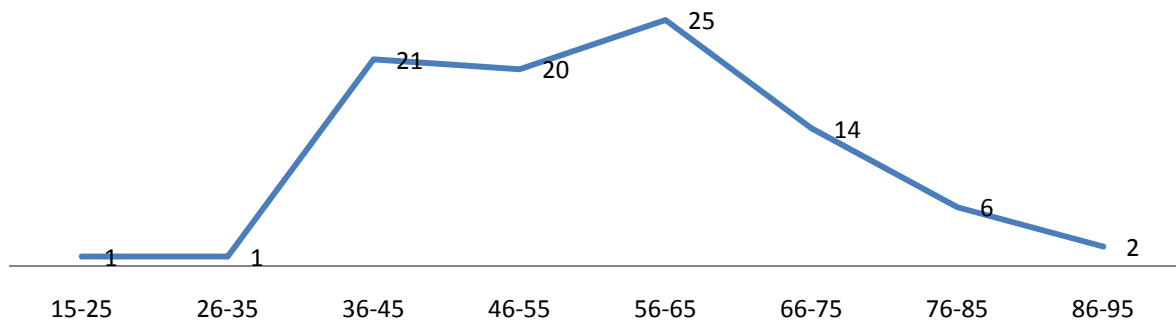
Positivo



DISTRIBUCIÓN DE LA POBLACIÓN DEL ESTUDIO SEGÚN LA EDAD

El promedio de edad de las 90 mujeres cuyos tumores fueron analizados fue de 56 años, con un rango entre 20 y 85 años, con sólo dos casos (2.2%) por debajo de los 35 años.

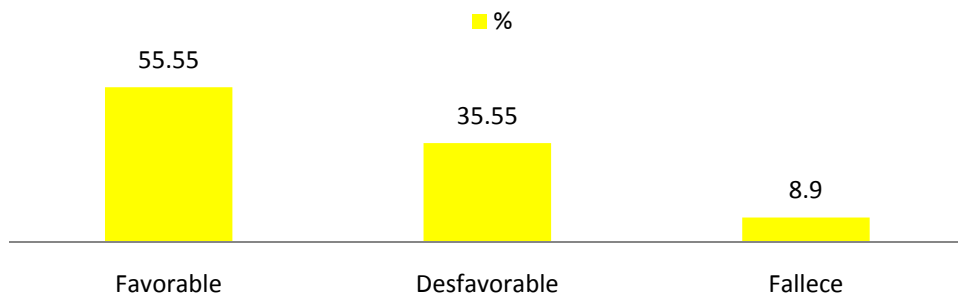
Gráfico No. 3



EVOLUCIÓN CLÍNICA DE LOS PACIENTES CON CDI

Se observó una evolución favorable de las pacientes con el tratamiento en 50 casos (55.55%), desfavorable en 32 casos (35.55%) y fallecimiento en 8 casos (8.9%), correspondiendo al 9.8% de las pacientes con SBR II y 12.5% de las pacientes con SBR III.

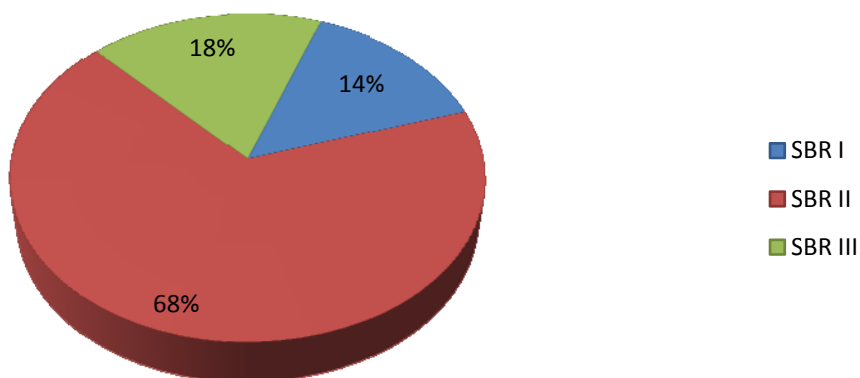
Gráfico No. 4



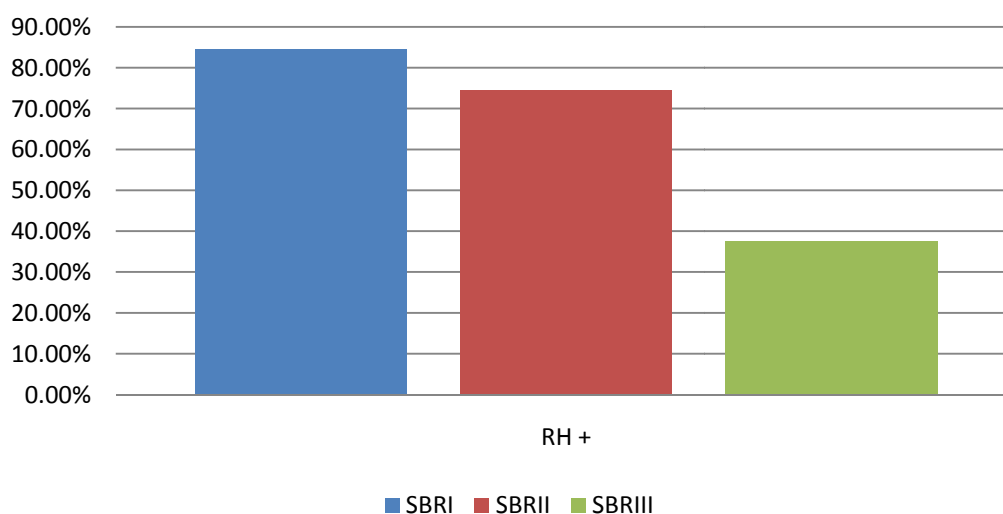
DISTRIBUCIÓN DE LA POBLACIÓN DE ESTUDIO SEGÚN EL GRADO DE DIFERENCIACIÓN TUMORAL - ESCALA SBR

Se establecieron 13 casos (14.5%) de tumores bien diferenciados, SBR I, 61 casos (67.7%) de tumores moderadamente diferenciados SBR II y 16 pacientes (17.7%) con tumores pobremente diferenciados SBR III. Se observa expresión de receptores hormonales en el 84.6 % de los tumores de SBRI, en el 74.5% de los tumores SBR II y en el 37.5% de los tumores SBR III, como lo demuestran las siguientes graficas:

Gráfico No. 5



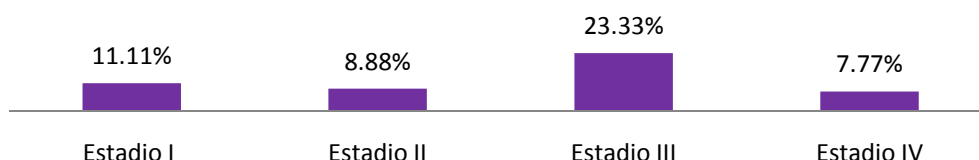
EXPRESIÓN DE RECEPTORES HORMONALES EN PACIENTES CON CDI SEGÚN EL GRADO HISTOLÓGICO



DISTRIBUCIÓN DE LA POBLACIÓN DE ESTUDIO SEGÚN EL ESTADIO CLÍNICO- TNM

Se ubicaron a 10 (11.11%) pacientes en estadio clínico I; 8 (8.88%) en estadio clínico II; 21 (23.33%) en estadio III y 7 (7.77%) en estadio clínico IV, según la extensión del tumor determinado por la escala internacionalmente validada TNM. Sin embargo, no se pudo clasificar al 49% de las pacientes. Debido a la inexistencia de registro por ausencia total del paciente a controles periódicos y por adhesión al tratamiento.

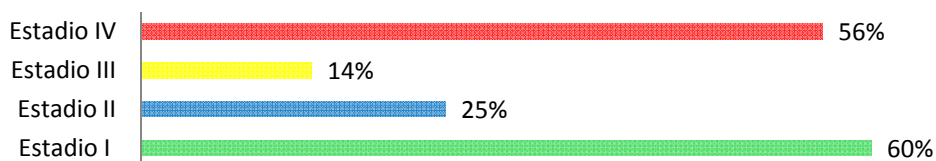
Gráfico No. 6



EVOLUCIÓN DESFAVORABLE EN LAS PACIENTES SEGÚN ESTADIO CLÍNICO

Se observó una evolución desfavorable en el 60% de las mujeres estadio I, este porcentaje elevado es causa del incumplimiento y constancia para mejorar la calidad de vida, un 25% de las que estaban en estadio II, 14% de las de estadio III y 56% de las de estadio IV, estableciéndose una supervivencia promedio de 2 años 3 meses, que disminuye a 1 año 6 meses cuando el SBR es III, o menos de 1 año cuando el estadio clínico es IV, con una clara incidencia de estos dos factores en la mortalidad y la evolución clínica, en cuatro años de seguimiento (2007-2011).

Gráfico No. 7



EVOLUCIÓN CLÍNICA DE LAS PACIENTES CON CDI SEGÚN GRADO HISTOLÓGICO Y EXPRESIÓN DE RECEPTORES HORMONALES

La evolución clínica resultó indiferente de la expresión de receptores hormonales y mayormente dependiente del grado de diferenciación histológica tumoral, según se demuestra en la siguiente tabla:

SBR	RECEPTOR HORMONAL +		RECEPTOR HORMONAL -		Valop p(*)
	Favorable	Desfavorable	Favorable	Desfavorable	
I	6 55%	5 45%	1 50%	1 50%	ns
II	20 43%	26 57%	13 86%	2 14%	p = 0.001
III	4 67%	2 33%	6 60%	4 40%	ns

Ns= Diferencia No significativa

SOBREVIDA DEL PACIENTE SEGÚN EL GRADO DE DIFENCIACIÓN TUMORAL – ESCALA SBR

Se observó una evolución favorable de las pacientes con el tratamiento en 50 casos (55.55), desfavorable en 32 casos (35.55%) y fallecimiento en 8 casos (8.9%), correspondiendo al 9.8% de las pacientes con SBR II y 12.5% de las pacientes con SBR III.

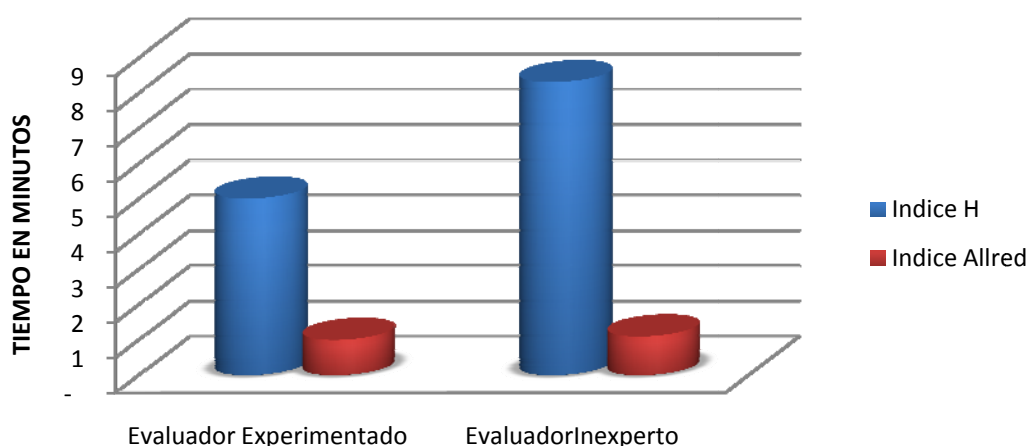
Grafico No. 8



COMPARACIÓN DEL TIEMPO UTILIZADO EN LA EVALUACIÓN DE RECEPTORES HORMONALES SEGÚN EL TIPO DE ESCALA

El tiempo promedio de realización del estudio fue de entre 5 ± 2.3 para evaluadores con experiencia y 8.35 ± 3.08 minutos para evaluadores de reciente formación cuando se aplicó índice H, frente a 1.08 ± 0.3 y 1.1 ± 0.3 minutos, respectivamente, cuando se utilizó el Índice de Allred, independientemente del tipo de receptor hormonal que se estaba analizando ($p < 0.005$).

Gráfico No. 9



SENSIBILIDAD, ESPECIFICIDAD, VPP Y VPN

Se establecieron datos de sensibilidad, especificidad y valores predictivos positivo y negativo, comparables entre determinación de receptores de estrógenos y receptores de progesterona del test de Allred, frente al Índice H, comúnmente utilizado para este análisis. (Ver Tabla No.1 y Anexo 9)

TABLA No. 1

	Receptores de Estrógenos	Receptores de Progesterona
Sensibilidad	94%	94%
Especificidad	80.6%	75%
Valor Predictivo Positivo	90%	85%
Valor Predictivo Negativo	89%	90%

IDENTIFICACIÓN DE RECEPTORES HORMONALES EN RELACIÓN CON LA EVOLUCIÓN CLÍNICA, MEDIANTE ESCALAS DE ÍNDICE H Y ALLRED.

No hubo diferencias en la identificación de receptores de estrógenos mediante ambas escalas de análisis, en relación con el tipo de evolución que se identificó en las pacientes, sin embargo la escala de Índice H, fue mejor en la detección de receptores de progesterona que la escala de Allred en aquellas pacientes que tuvieron una respuesta más favorable al tratamiento (Ver Tabla No.2)

TABLA No.2

Evolución	Receptores de Estrógenos			Receptores de Progesterona		
	Índice H	Allred	Valor p*	Índice H	Allred	Valor p*
Desfavorable y Muerte	75% (30/40)	80% (32/40)	Ns	77.5% (31/40)	77.5% (31/40)	ns
Favorable	60% (30/50)	56% (28/50)	Ns	58% (29/50)	46% (23/50)	0.025

(*) Prueba T de Diferencia de Proporciones. Ns= Diferencia No significativa

Ambas escalas de evaluación de receptores hormonales resultaron de fácil realización, con similares valores de repetibilidad y variabilidad interobservador, demostrando muy parecidos valores porcentuales de aciertos (medido mediante repetibilidad simple) y acuerdos (medido mediante repetibilidad compleja), según lo demuestra la siguiente tabla. (Ver Tabla No.3 y Anexo 11)

REPRODUCIBILIDAD INTEROBSERVADOR DE LAS ESCALAS ÍNDICE H Y ALLRED PARA LA EVALUACIÓN DE RECEPTORES HORMONALES EN CÁNCER DE MAMA

TABLA No.3

	Índice H	Escala de Allred	Significación estadística*
Reproducibilidad Simple	87.5%	87.75%	Ns
Reproducibilidad Compleja	73%	75%	Ns

(*) Test de Kappa de Cohen. Ns= Diferencia No Significativa

DISCUSIÓN

El estudio incluye 90 pacientes con Carcinoma Ductal Invasor (CDI) de mama, cuya evaluación se inició desde el momento de la intervención quirúrgica. Las pacientes han sido clasificadas de acuerdo con criterios anátomo-patológicos sustentados en la extensión local y regional del tumor.

Para la determinación de receptores hormonales por medio de inmunohistoquímica (IHQ) se necesita experiencia por parte de los observadores ya que esta técnica varía de acuerdo a la preparación de la laminilla y a la zona evaluada para cada escala.

En nuestro estudio se identificaron dos CDI de aparición a temprana edad (18 y 20), lo que supone asociación con alteraciones genéticas y/o herencia de un síndrome de neoplasia familiar. A pesar del incremento del cáncer de mama en el mundo, considerada patología predominante de la postmenopausia, la enfermedad es poco frecuente en edades menores de 30 años. En los grandes estudios poblacionales escandinavos, las pacientes con cáncer de mama diagnosticado antes de los 35 años representaron menos del 2%. (Host, 1986)

El Instituto Nacional del Cáncer y el Colegio Americano de Cirugía, reportó incidencias de entre el 0.8 al 1% de los casos en mujeres entre 20 a 29 años, sin embargo, Kollias que cita a estos organismos, estima que el 1.1 de cada 10.000 mujeres de ese rango de edad, podrían desarrollar cáncer de mama. (Kollias, 1997)

Es una enfermedad rara en mujeres menores de 25 años, por lo cual no hay muchos estudios reportados en este grupo de edad. En el Reino Unido, se ha reportado entre mujeres de 20 a 24 años una incidencia de 1.2 de cada 100.000 mujeres y de 0.3 entre jóvenes de entre 15 a 19 años.

Nos hace pensar que un posible factor hereditario puede ser la causa principal para este hallazgo, sin embargo en nuestro país no es común que mujeres de menos de 35 años sufran con frecuencia este tipo de patología.

Según La Sociedad Argentina de Patología, el pronóstico de las pacientes menores de 35 años, no varía siempre que se consideren iguales criterios anátomo-

patológicos. (PAP, 2004). Sin embargo, varios estudios han demostrado que la edad temprana al momento del diagnóstico se asocia con características histológicas de tumores de fenotipo agresivo (Earley et al, 1969; Wallgren et al, 1977; Rosen et al, 1984; Remvikos et al, 1995). En estos estudios las pacientes diagnosticadas con cáncer de mama a edad menor a 35 años fueron más propensas a tener tumores de alto grado que presentan invasión vascular. (Ellis et al, 1992).

La distribución de los tumores en relación con el grado histológico identificó que la mayoría (67.7%) fueron moderadamente diferenciados, aplicando la escala de SBR, lo que se ha observado también en estudios similares como los de quienes reportaron 30% de casos con SBR I, 60% con SBR II y 10% con Grado III. (Bhargava, 2008)

En este estudio, en cuanto al estadio clínico destaca un número proporcional de pacientes en los estadios I de 11.11% y II de 8.88%, lo que contrasta con lo que ocurre en la mayoría de los países desarrollados, donde en la actualidad, los cánceres en estadio I y II constituyen el 80-85% de los cánceres intervenidos y la cifra de tumores en estadio III y IV se ha reducido a menos del 20% (Haid, 1982). Este preocupante hallazgo se produce pese a que en nuestro país en los últimos años se ha evidenciado un incremento en la detección de este tipo de tumores, debido a las campañas de prevención de cáncer de mama, especialmente con educación en autoexploración y a utilización de estudios radiológicos y moleculares que han permitido diagnosticar precozmente el cáncer en estadios de menor riesgo para la paciente.

La estadificación TNM del cáncer de mama es el mejor indicador de pronóstico, aunque es indiscutible que, un 10% de pacientes en el estadio I y hasta un 40% de enfermas en el estadio II desarrollan enfermedad metastásica durante los 5-10 años de seguimiento. (McCarty, 1980)

Los avances en el conocimiento del cáncer en general y el cáncer de mama en particular, hacen necesaria en forma periódica la revisión de las distintas estadificaciones, así como también de las distintas pautas de diagnóstico y tratamiento. Es así como la AJCC realiza una revisión cada 5 a 7 años del sistema TNM. Hoy en día, son pocas las instituciones que no utilizan el sistema TNM para estadificar el cáncer de mama, lográndose así un lenguaje común que permite tener el mismo diálogo entre los médicos abocados a la materia. No obstante, distintos autores han realizado críticas a lo largo de las subsiguientes ediciones de esta clasificación, fundamentalmente respecto de la

incapacidad de resolver la heterogeneidad de la biología del cáncer de mama. Así mismo, otros factores como la edad de la paciente, el estado menopáusico y los receptores hormonales, son determinantes importantes a tener en cuenta para evaluar la efectividad del tratamiento adyuvante. (Carter, 1989)

Cada día se observa un aumento en la generación de información pronóstica que con diferentes grados de significancia, trata de orientar un óptimo manejo terapéutico para cada caso, evitando así un sub o sobre tratamiento. Es así como se buscan desde el punto de vista histológico, métodos más refinados que proporcionen una mejor información pronóstica.

Nosotros encontramos que la evolución clínica resultó indiferente de la expresión de receptores hormonales y mayormente dependiente del grado de diferenciación histológica tumoral, sin embargo, McCarty observó que los cánceres RE+ presentaban bajos grados histológicos y nucleares y un reducido tamaño de los ganglios axilares positivos.(McCarty, 1980)

McGuirre además observó diferencia absoluta del 8 a 10% en supervivencia libre de enfermedad para mujeres con tumores de mama receptores positivos en comparación con aquellas con receptores negativos.(Mc Guirre, 1992)

Diversos estudios concluyen que pacientes afectados de tumores con receptores de estrógenos positivos presentan mayor supervivencia global (SG) e intervalo libre de enfermedad (ILE). Fisher publicó que Las mujeres con tumores ER-positivos tenían una Intervalo Libre de Enfermedad a 5 años de 74% y el intervalo global de 92%, mientras que las mujeres con tumores ER-negativos tuvieron una ILE a 5 años y el SG de 66% y 82%, respectivamente. (Fisher B. , 1988)

Por otro lado, la negatividad del receptor de progesterona puede conllevar asociado factores de peor pronóstico en relación con tumores RE+RP+; pero de mejor pronóstico que los RE-RP-.Este es un argumento a favor de la dosificación del RP, no sólo en los casos con receptores de estrógenos negativos, sino también en los RE+.

Mohamed sostiene que la expresión de receptores hormonales son factores altamente predictivos de respuesta a terapia hormonal. Aproximadamente 77% de las pacientes con tumores RE y RP positivos responden a terapia hormonal, 27% responden

cuando son RE positivos y RP negativos, 46% responden cuando son RE negativos y RP positivos. El 11% de las pacientes no responden cuando ambos receptores son positivos, y aproximadamente el 33% de las pacientes con receptores positivos no responden a terapia hormonal. (Mohammed, R, 1986)

Los estudios con seguimiento a largo plazo, sin embargo, sugieren que la importancia pronóstica de los receptores hormonales no pueden persistir a largo plazo, Hilsenbeck demostró un mejor pronóstico para los tumores ER positivos durante los primeros 3 años de seguimiento, pero no después de 3 años. (Hilsenbeck, 1998)

Tanto el método de Allred como Índice H para evaluación de Receptores Hormonales, combinan la evaluación del porcentaje de la tinción de los núcleos de las células tumorales y la intensidad de la tinción. Estudios previos ha demostrado Una importante relación cuantitativa entre la puntuación histológica (Índice H) y el análisis bioquímico del contenido de ER en homogeneizados de tejido ($r = 0,65$, $p = 0,00001$).

Excelente sensibilidad (92%) y especificidad (93%) fueron observado para la comparación del Índice H y para el ensayo bioquímico. Sensibilidad del total del tejido Índice H fue del 92% y la especificidad fue del 93% en relación con el ensayo bioquímico. La precisión global del Índice H fue del 92%. (Debra, 1986)

Por nuestra parte observamos una sensibilidad de 94% y especificidad de 75% a 80% de la escala de Allred, utilizando como prueba de oro para comparar al Índice H. No encontramos en la literatura científica estudios similares que hayan considerado estos parámetros para comparar ambas escalas, Sin embargo Shousha ha propuesto un cuadro comparativo entre las escalas de evaluación de Allred e Índice H, para entender la relación semicuantitativa de células involucradas en el tumor y la posible respuesta.

COMPARACIÓN DEL ÍNDICE ALLRED Y EL ÍNDICE H

% Células	Intensidad	Índice Allred	Índice H	Interpretación Allred/ Índice H
0	0	0+0 = 0	0	Negativo
<1%	1	1+1 = 2	0	Negativo
1%-10%	1	2+1 = 3	1-10	Muy pobre
<1%	2	1+2 = 3	0	Muy pobre/ Negativo
11%-33%	1	3+1 = 4	11-33	Pobre
1%-10%	2	2+2 = 4	2-20	Pobre
<1%	3	1+3 = 4	0	Pobre/Negativo
34%-66%	1	4+1 = 5	34-66	Pobre
11%-33%	2	3+2 = 5	22-66	Pobre
1%-10%	3	2+3 = 5	3-30	Pobre
67%-100%	1	5+1 = 6	67-100	Intermedio
34%-66%	2	4+2 = 6	68-132	Intermedio
11%-33%	3	3+3 = 6	33-99	Intermedio
67%-100%	2	5+2 = 7	134-200	Positivo
34%-66%	3	4+3 = 7	102-198	Positivo
67%-100%	3	5+3 = 8	201-300	Positivo

(Shousha, 2008)

Nosotros encontramos dificultades de interpretación en la Escala de Allred cuando debíamos asignar un valor con un porcentaje mínimo pero de tinción intensa, lo que puede determinar sobrevaloración del tejido en cuanto a la expresión del receptor hormonal, por ello creemos que para medicar, el valor de corte de la escala debería revisarse y quizá aumentarse.

Los tumores fueron definidos como RE-positivo si su total de puntuación de Allred fue mayor que 2 (correspondiente a tan sólo 1% a 10% débilmente de células positivas) y

RE-negativo, si su puntuación fue 0 o 2 (menos de 1% de los núcleos de las células tumorales). Harvey y cols. observó que en el sistema de Allred la supervivencia de pacientes con carcinomas que tuvieron una puntuación de 2 (correspondiente a <1% de células débilmente positivas) fue similar a la de pacientes con carcinomas que fueron totalmente negativos para RE. Por lo tanto, una puntuación de 2 fue considerado como un resultado negativo. Los carcinomas con menos de 1% de células positivas y las puntuaciones de intensidad de 2 o 3 tendrían una puntuación total de 3 o 4 y se considera test positivo. Aunque se ha sugerido que los carcinomas con <1% de células positivas deben ser considerados negativos para RE, esto no se ha demostrado de manera concluyente. (Harvey, 1999).

Esta observación confirma la preocupación expresada por Allred y Moshin, que un corte de 10% para RE podría excluir a los pacientes con necesidad de los beneficios de la terapia endocrina. Muchos hospitales y laboratorios utilizan diversas metodologías, y la mayoría tienen elegido arbitrariamente 10% o incluso 20% de células positivas tumorales como su punto de corte para definir la positividad de RE, que puede asociarse con la resistencia al tamoxifeno in vitro o en modelos animales, posiblemente mediante la promoción de la fosforilación de los receptores. (Mohsin, 2005)

Por lo tanto consideramos que la puntuación Allred da demasiado énfasis en el grupo débilmente positivo y que adicionalmente a esta controversia, los datos a evaluar en las laminillas pueden presentar variabilidad dependiendo de la selección del área a leer, puesto que en la placa puede haber zonas bien y mal procesadas. En cambio el índice H proporciona una descripción más detallada de la evaluación, pero con un consumo significativamente mayor de tiempo.

CONCLUSIONES

- En el manejo terapéutico del Carcinoma Ductal Mamario es de crucial importancia para la elección del tratamiento farmacológico más adecuado, la determinación de Receptores Hormonales mediante Técnicas de Inmunohistoquímica.
- La presencia o no de Receptores Hormonales en los Carcinomas Ductales de Mama condiciona la respuesta terapéutica y pronóstico de la enfermedad, pero estas condiciones se ven ampliamente modificadas por el grado de diferenciación histológico y el estadio de avance tumoral al momento del diagnóstico.
- La sensibilidad, especificidad, valores predictivos y relación con la respuesta terapéutica de la Escala de Allred para evaluación de Receptores Hormonales en el Carcinoma Ductal de Mama son equiparables a la Escala Índice H de uso habitual. Pero debe revisarse y probablemente elevarse el valor de corte requerido para indicar la medicación, evitando así los casos falsos en que el porcentaje de células positivas es mínimo pero su expresión es intensa.
- Debe ponerse mayor cuidado al utilizar la Escala de Allred en la Evaluación de receptores de Progesterona, donde demostró deficiencia frente a la de Índice H.
- La Reproducibilidad Interobservador de Ambas Escalas es muy buena, según lo establece el análisis de repetibilidades simple y compleja, incluso entre observadores de experiencia reciente en la utilización de las mismas, con una notable ventaja en el tiempo de aplicación de la escala de Allred, que quizá constituye su mejor atributo frente a la de Índice H.

RECOMENDACIONES

- Realizar la IHQ con controles para cada evaluación.
- La IHQ debe ser minuciosamente manejada para el uso de las escalas de Allred o Índice H, ya que puede existir error en la interpretación debido a una mala tinción nuclear y citoplasmática.
- Usar reactivos en buenas condiciones evitando un fondo sucio invaluable en las laminillas.
- Para el uso de las escalas de Allred o Índice H determinar o marcar la zona a ser evaluadas, para evitar falsos positivos.
- Los cortes histológicos no deben estar desprendidos de la laminilla ya que con frecuencia es una lectura no valorable e las dos escalas,
- Buscar la implementación de sistemas de graduación más objetivos con criterios estrictos, fáciles y rápidos que sea reproducibles y finalmente proporcionen resultados más consistentes.
- Podría establecerse un rango de tiempo en las dos escalas para optimizar los recursos de la institución y el tiempo del evaluador.
- Se debería entrenar más al personal que está involucrado en todo el proceso de la evaluación de las escalas para obtener resultados que favorezcan el diagnóstico previo al tratamiento del paciente.

BIBLIOGRAFIA

- Acosta, H. G. (2009). Obtenido de Inmunohistoquímica En Patología Mamaria: www.patologia.org.ar/.../viernes_handout_acosta%20haab.doc
- AJCC. (2004). *AJCC Manual de diagnóstico de extensión del cáncer. Clasificación TNM de los tumores malignos* (Sexta ed.). Barcelona, España: Ediciones Mayo.
- Allred, D. H. (1998). Prognostic and predictive factors in breast cancer by immunohistochemical analysis. *Mod Pathol*, 11, 155-68.
- Allred, D. (2008). Problems and solutions in the evaluation of hormone receptors in breast cancer. *J Clin Oncol* (26), 2433-2435.
- Amrikachi, M. G. (2001). Gynecomastia: Cytologic Features And Diagnostic Pitfalls In Fine Needle Aspirates. *Acata Cytol*, 06 (45), 948-952.
- Antoniou, A. S. (2006). "Parity And Breast Cancer Risk Among Brca1 And Brca2 Mutation Carriers". *Breast Cancer Research*, 6 (8), R72.
- Arber, J. A. (1996). Effect of decalcification and fixation in paraffin-section Immunohistochemistry. *Appl Immunohistochem* (4), 241-248.
- Bardou, V. A. (2003). Progesterone receptor status significantly improves outcome prediction over estrogen receptor status alone for adjuvant endocrine therapy in two large breast cancer databases. *J Clin Onco*, 21 (19), 1973-1979.
- Barnes, D. y. (1992). Abnormal Expression Of Wild Type P53 Protein In Normal Cells Of A Cancer Family Patient. *Lancet* (340), 259-263.
- Battifora, H. M. (1993). "Estrogen Receptor Immunohistochemical Assay In Paraffin-Embedded Tissue". A Better Gold Standar. *Appl Immunohistochem*, 1, 39-45.
- Beahrs, O. E. (1988). "Stagittig For Carcinoma Of The Breast, In Manual For Staging Of Cancer". En B. O., *Stagittig For Carcinoma Of The Breast, In Manual For Staging Of Cance* (págs. 145-150). Philadelphia: Lippincott.
- Beatson, G. (1896). "On The Treatment Of Inoperable Cases Of Carcinoma Of The Mamma: Suggestions For A New Method Of Treatment, With Illustrative Cases". *Lancet*, 104-162.
- Bernoux, A. D.-B. (1998). "Estrogen Receptor Negative And Progesterone Receptor Positive Primary Breast Cancer: Pathological Characteristic And Clinical Outcome". *Institut Curie Breast Cancer Study Group. Breast Cancer Res Treat*, 219- 225.
- Bettuzzi, S. R.-Y. (1991). "Estrogen And Progesterone Receptor Structure And Action In Breast Cancer Cells, In Genes, Oncogenes, And Hormones: Advances In Cellular And Molecular Biology Of Breast Cancer". En S. R.-Y. Bettuzzi, "*Estrogen And Progesterone Receptor Structure And Action In Breast Cancer Cells, In Genes,*

- Oncogenes, And Hormones: Advances In Cellular And Molecular Biology Of Breast Cancer*” (págs. 301-315). Boston: Kluwer Academic Publishers.
- Bhargava, V. (2008). Critical appraisal of cytological nuclear grading in carcinoma of the breast and its correlation with ER/PR expression. *Journal of Cytology*, 25 (2), 58-61.
- Blanco, I. (Lunes 21 de Noviembre de 2011). *Oncología Clínica Básica*. (A. Ediciones, Editor, & J. G. Conde, Productor) Obtenido de <http://Www.Cancermama.Org/Doc.Php?Op=Consejo>
- Brunet J, A. M. (1994). Cáncer De Mama Hereditario: Bases Genéticas Y Características Clínicas. . *Med Clin* (103), 623-627.
- Cancer, F. E. (1977). A Variant Of Lobular Invasive Cancer. *Huam Pathol*, 8, 679-683.
- Ceriani, R. (1974). Hormones And Other Factors Controlling Growth In The Mammary Gland. A Review. *J Invest Dermatol* , 63.
- Cevallos, F. D. (2000). *Protocolo de Diagnóstico, Tratamiento y Seguimiento del Cáncer de Mama*. Recuperado el 18 de Ago de 2009, de www.solca.med.ec/htm/CancerMama.html
- Chacaltana, A. G. (2003). “Factores De Riesgo Modificables En Pacientes Con Cáncer De Mama”. *Revista De La Sociedad Peruana De Medicina Interna*, 2 (16).
- Clarke, R. D. (1992). “Hormonal Aspects Of Breast Cancer”. . *Critical Reviews In Oncology/Hematology*, 12, 1-23.
- CNI. (s.f.). *Instituto Nacional del Cancer*. Recuperado el 05 de Oct de 2009, de <http://www.cancer.gov/diccionario?cdrd=46409>
- Colimon, K.-M. (1990). “*Fundamentos De Epidemiología*”. Diaz De Santos Ediciones S.A.
- DAKO. (01 de Nov de 2007). *ER/PR pharmDx™ Interpretation Manual PATHOLOGY*. Recuperado el 10 de Nov de 2011, de ER/PR pharmDx™ Interpretation Manual PATHOLOGY: http://www.dako.com/us/ar39/p235371/prod_products.htm
- Debra, A. B.-N. (1986). Immunohistochemical Analyses of Estrogen Receptor in Endometrial Adenocarcinoma Using a Monoclonal Antibody. *CANCER RESEARCH*, 46, 5419-5425.
- DEF, D. (s.f.). *Definiciones*. Recuperado el 05 de Oct de 2009, de www.definicion.org
- DICCIOMED. (s.f.). *Universidad se Salamanca* , <http://dicciomed.eusal.es/palabra/pronostico>.
- Dickson, J. M. (1992). “Growth Factores In Breast Cancer: Mitogenesis To Transformation”. *Steroid Biochem Mol Biol.*, (1-3) (43), 69-78.
- Dickson, R. L. (1992). “Molecular Detrminants Of Growth, Angiogenesis, And Metastases In Breast Cancer”. *Seminars In Oncology*, 19 (3), 286 – 298.

- Dixon, M. (2003). Neoadjuvant anastrozole trial. *Breast Cancer Update* , 1.
- Dumitrescu, R. C. (2005). "Understanding Breast Cancer Risk – Where Do We Stand In 2005". *Journal Of Cellular Molecular Medicine*, 1 (9), 2008-221.
- Dupont, W. P. (1985). Risk Factors For Breast Cancer In Women With Proliferative Breast Disease. *N Engl J Med* (312), 146.
- Ellis, I. S.-G. (2003). Invasive Breast Carcinoma: "Pathology And Genetics Of Tumours Of The Breast And Female Genital Organs". *Lyon: Who. Iarc Press* , 13-59.
- Ensebi V. (1992). - Pleomorphic Lobular Carcinoma Of The Breast. An Aggressive Tumor Showing Apocrine Differentiation. . *Hum Pathol* , 655-662.
- Ernster V, B. L.-B. (2000). "Mortality Among Women With Ductal Carcinoma In Situ Of The Breast In The Population –Based Surveillance, Epidemiology And End Results Program". *Arch Intern Med* (160), 953-8.
- Esteban, J. K. (1993). "Improvement Of The Cuantification Of Estrogen And Progesterone Receptors In Paraffin-Embedded Tumors By Image Analysis". *Am J Clin Pathol* (99), 32-38.
- EUMED. (s.f.). *Enciclopedia y Biblioteca Virtual de las Ciencias Sociales, Económicas y Jurídicas*. (U. d. Málaga, Ed.) Recuperado el 05 de Oct de 2009, de <http://www.eumed.net/cursecon/dic/E.htm#eficiencia>
- Eynard, A. V. (2008). *Histología Y Embriología Del Ser Humano/ Histology And Embryology Of The Human Being: Bases Celulares Y Moleculares/ Cellular And Molecular Basis*. Ed. Médica Panamericana.
- Fisher, B. (1988). "Relative worth of estrogen or progesterone receptor and pathologic characteristics of differentiation as indicators of prognosis in node-negative breast cancer patients.". *Findings from National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project Protocol B-06. J Clin Oncol*, 6, 76–1087.
- Fisher, E. (1989). "Identification Of Risk Factors By Conventional Pathological And Some Ancillary Techniques In Women With Breast Cancer". *High-Risk Breast Cancer* . , 233-251.
- Fitzgibbons, P. P. (2000). Prognostic Factors in Breast Cancer. College of American Pathologist Consensus Statement 1999. *Arch Pathol Lab Med* (124), 966-978.
- Foekens, J. P.-F. (1989). "Prognostic Value Of Estrogen And Progesterone Receptors Measured By Enzyme Immunoassays In Human Breast Tumor Cytosols". *Cancer Research Protocols* (49), 5823-5828.
- Galea, M. E. (1992). "Pathologic Prognostic Factors In Breast Cancer. Ii: Histologic Type. Relationship With Survival In A Large Study With Long Term Follow-Up". *Histopathology*, 20, 479-89.

- Ginarte, M. G.-C. (2000). Expression Of Growth Hormone Receptor In Bening And Malignant Cutaneous Proliferative Entities. *J. Cutan. Pathol* (27), 276-282.
- Goldstein, N. F. (2003). Minimum fixation time for consistent estrogen receptor immunohistochemical staining of invasive breast carcinoma. *Am J Clin Pathol.*, 120, 86-92.
- Gown, A. (2008). Current issues in ER and HER2 testing by IHC in breast cancer. *Mod Pathol.* (21), S8-S15.
- Grases, P. F. (2003). *Patología Ginecológica: Bases Para El Diagnóstico Morfológico*. (Primera ed.). España: Elsevier.
- Green, S. W.-M. (1986). "Human Estrogen Receptor Cdna: Sequence, Expression And Homology To V-Erb-A" . *Nature*, 320 (13), 134-139.
- Gunther, J. S. (2005). *Factores de Riesgo y Factores Pronósticos en Cáncer de Mama*. INSTITUTO Nacional de cancerología .
- Hamilton, A. . (2000). The Contribution Of Molecular Markers To The Prediction Of Response In The Treatment Of Breast Cancer: A Review Of The Literature On Her-2, P-53 And Bcl2. *Ann Oncol*, 11, 647-63.
- Harvey, J. C. (1999). Estrogen receptor status by immunohistochemistry is superior to the ligand-binding assay for predicting response to adjuvant endocrine therapy in breast cancer. *J Clin Oncol* (17), 1474-81.
- Hernández, G. B. (1998). *Cáncer De Mama*. Caracas, Venezuela: Mcgraw-Hill Interamericana.
- Hieken, T. H. (2001). Correlating Sonography, Mammography, And Pathology In The Assessment Of Breast Cancer Size. . *Am J Surg.*, 182 (4), 351-4.
- Hilsenbeck, S. (1998). Time-dependence of hazard ratios for prognostic factors in primary breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* (52), 227-237.
- Horwitz, K. A. (1975). "Specific Progesterone Receptors In Human Breast Cáncer". *Steroid*, 4 (25), 497-505.
- Host, H. a. (1986). Age as a prognostic factor in breast cancer. *Cancer*, 57, 2217-2221.
- IARC. (2007). El Tratamiento Y Seguimiento Del Cáncer De Mama En Los Países De Recursos Limitados: Detección Temprana Y Acceso A La Asistencia. *The Breast Journal*, 13(1) (16).
- INEC. (2001). Anuario De Estadísticas Vitales: Nacimientos Y Defunciones. En I. N. Censos. Quito, Ecuador.
- King, R. (1990). "Receptors, Growth Factors And Steroid Insensitivity Of Tumours". *Endocrinol*, 24, 179-181.

- Kinsel, L. S. (1989). Inmunohistochemical Análisis Of Estrogen Receptors As A Predictor Of Prognosis In Breast Cancer Patients: Comparison With Quantitative Biochemical Methods. *Cancer Res* (49), 1052-1056.
- Kollias, J. C. (1997). Early-onset breast cancer - histopathological and prognostic considerations. *British Journal of Cancer*, 75 (9), 1318-1323.
- Kumar, V. ... (2005). *Patología estructural y Funcional*. España: Elsevier.
- Lesser, M. K. (1985). Breast Carcinoma At The Extremes Of Age: A Comparison Of Patients Younger Than 35 Years And Older Than 75 Years. *J Surg Oncol*, 28, 90-6.
- Li Fp, F. J. (1988). A Cancer Family Syndrome In Twenty-Four Kindreds. *Cancer Res* (48), 5358-5362.
- Li Liu, M. (Noviembre de 2001). *Clasificación Histológica del Cáncer del Seno*. Recuperado el 16 de Oct de 2010, de OncoLink: <http://es.oncolink.org/types/article.cfm?c=3&s=5&ss=35&id=1724>
- Lluch, A. A. (1987). "Estrogen And Progesterone Receptors In Cancer Of The Breast". *Med Clin* (89), 456-459.
- Loyeux, O. R. (1989). "Progestin Increases Gene Transcription And Messenger Ribonucleic Acid Stability Of Fatty Acid Synthetase In Breast Cancer Cells". *Mol Endocrinol*, 4, 681-686.
- Mc Guirre, W. (1992). Prognostic factors and treatment decisions in axillary node negative breast cancer. *N Engl J Med*, 326, 1756-1761.
- McCarty, K. J. (1985). Estrogen receptor analyses: correlation of biochemical and immunohistochemical methods using monoclonal antireceptor antibodies. *Arch Pathol Lab Med* (190), 716-721.
- Mcguire, W. C. (1992). "Prognostic Factors And Treatment Decision In Node Negative Breast Cancer". *New Engl J Med* (326), 1756-1761.
- Milgrom, E. A. (1972). "Progesterone In Uterus And Plasma". Vi. Uterine Progesterone Receptors During The Estrus Cycle And Implantation In The Guinea Pig. . *Endocrinology* (90), 1071- 1078.
- Mohammed, R. (1986). *Estrogen and progesterone receptors in human breast cancer: correlation with histologic subtype and degree of differentiation.*, 58, 1076-1081.
- Mohsin, S. (2005). ER expression is not bimodal in breast cancer. *Am J Clin Pathol* (124), 474-475.
- Molina, M. (Octubre de 2001). "Receptores De Estrógeno Y Progesterona En Cáncer De Mama. Asociación Con Variables Clinicopatológicas". (P. Periódicas, Ed.) Recuperado el 28 de Agosto de 2009, de Uviversidad de Carabobo: <http://servicio.bc.uc.edu.ve/fcs/vol5n3/7est.pdf>

- Nadji, M. G.-F.-A. (2005). Immunohistochemistry of estrogen and progesterone receptors reconsidered: experience with 5,993 breast cancers. *Am J Clin Pathol.* , 21-7.
- Narod S, y. C. (1991). Familial Breast-Ovarian Cancer Locus On Chromosome 17q12-23. *Lancet* , 82-83.
- Neville, M. (2001). Anatomy And Physiology Of Lactation. *Ped Clin North Amer*, 1 (13), 48.
- Neville, M. (1999). Physiology Of Lactation. *Clin Perinatol* , 26:253.
- Osakidetza. (2009). *Técnicos Especialista Enen Anatomía Patológica Del Servicio Vasco Dede Salud*.(Mad-Eduforma, Ed.) Madrid, España.
- Osborne, C. Y. (1980). The Value Of Estrogen And Progesterone Receptors In The Treatment Of Breast Cancer. *Cancer*, 46 (12), 2884-2888.
- Oyama, T. I. (2007). The effects of fixation, processing and evaluation criteria on immunohistochemical detection of hormone receptors in breast cancer. *Breast Cancer* (14), 182-188.
- PAP. (2004). *7º Congreso de atención Primaria - "Cáncer de Mama y Herencia"*. (P. d. Mamario, Ed.) Obtenido de <http://pap.mendoza.gov.ar/modules.php?name=News&file=article&sid=14>
- Pardo, M. (1996). *Anatomía Patológica*. España: Elsevier .
- Parkin, D. (2002). Global Cancer Statistics. *Ca Cancer J Clin*, 55 (2), 74–108.
- Patchefsky, A. P. (1989). "Heterogeneity Of Intraductal Carcinoma Of The Breast". *Cancer* (63), 721-741.
- Pechoux, C. C. (1994). Localization Of Thrombospondin , Cd36 And Cd51 During Prenatal Development Of The Human Mammary Gland. *Differentiation* , 57-133.
- Percy, B. B. (1999). Percy Bellido B., "Receptores A Estrógenos Y Progesterona". *Ginecología Y Obstetricia - Ginecol Obstet*, 45 (1), 9-13.
- Petersen, O. H. (1987). Frequency And Distribution Of Estrogen Receptor- Positive Cells In Normal, Nonlactating Human Breast Tissue. *Cancer Res* (47), 5748-5751.
- Pfizer. (1 de Enero de 2009). *La adherencia al tratamiento: Cumplimiento y constancia para mejorar la calidad de vida*. Recuperado el 5 de Junio de 2012, de https://www.pfizer.es/salud/servicios/publicaciones/adherencia_tratamiento_cumplimiento_constancia_mejorar_calidad_vida.html
- Pinto, A. A. (2001). C-Erb-2 Oncoprotein Overesxpression Identifiesoncoprotein Overesxpression Identifies A Subgroup Of Strogen Receptor Positive (Er +) Breast Cancer Patients With Poor Prognosis. *Ann Oncol*, 14 (2), 525-533.

- Polit, P. M. (31 de Julio de 2009). *Estadísticas de cáncer. Conceptos, definiciones, resultados y análisis*. Recuperado el 13 de Mayo de 2012, de http://www.cancerteam.com.ar/poli168_estadisticas_cancer_analisis.html
- Prieto, V. J. (2010). Balcells. La Clínica Y El Laboratorio + Web. Interpretación De Análisis Y Pruebas Funcionales. Exploración De Los Síndromes. Cuadro Biológico De Las Enfermedades. En J. Y. J.M. Prieto Valtueña, & J. P. Valtueña (Ed.). España: Elsevier España.
- Puig, X. D. (2000). *Receptores Hormonales En El Carcinoma De Mama* . Recuperado el 17 de Ago de 2009, de <http://www.histopat.es/>
- Quiroz, G. (1985). *Anatomía Humana* (26va. ed.). México, D. F.: Editorial Porrua S.A.
- Ramos, F. V.-S. (1998). "Determinación De Receptores Estrogénicos En Cáncer De Mama: Comparación Del Método Bioquímico Frente Al Método Inmunohistoquímico En Biopsia Y Citología". *Oncología* (20), 169-177.
- RNT. (2004). *Registro Nacional De Tumores*. Quito.
- Robins S., C. R. (2000). *Patología Estructural Y Funcional* (6ta Edición ed.). Madrid: Interamericana- Mcgraw-Hill.
- Rosai, J. A. (1996). *Surgical Pathology. Breast* (8va. Edición ed.). New York.: Mosby.
- Rosen, P. P. (19 de Oct de 2006). *Breast Pathology: Diagnosis By Needle Core Biopsy. Prevalencia Del Cáncer De Mama En América Latina* . Recuperado el 2009 de Nov de 02, de http://www.dequate.com/salud/article_5127.shtml
- Saxe, A. P. (2001). Role Of Samples Adequacy In Fine Needle Aspiration Biopsy Of Palpable Breast Lesions. *A J Surg* .
- Schwartz, G. F. (1992). Subclinical Ductal Carcinoma In Situ Of The Breast. Treatment By Local Excision And Surveillance Alone. *Cancer* (70), 2468- 74.
- Shousha, S. (2008). Oestrogen receptor status of breast carcinoma: Allred/H score conversion table. En *Histopathology* (págs. 346-347).
- Silvestrini, R. D. (1979). "Relationship Between Proliferative Activity And Estrogen Receptors In Breast Cancer" . *Cancer*, 44, 665-670.
- Singletary, S. (2003). "Rating The Risk Factors For Breast Cancer". *Annals Of Surgery*, 4 (273), 474-482.
- Skolnick M Y Col., S. M.-A. (1990). Inheritance Of Proliferative Breast Disease In Breast Cancer Kindreds. *Science* (250), 1715-1720.
- Smith, R. M.-S. (2005). "La Iniciativa Global De Salud De La Mama.
- Stenkuist, B. B. (1982). Predicting Breast Cáncer Recurrence. *Cancer* (50), 2884- 93.

- Tapia, F. L. (2008). *Citología Del Tracto Genital Femenino Y De La Glándula Mamaria*. Vértice.
- Thull, D. I., V. V. (2004). "Recognition And Management Of Hereditary Breast Cancer Syndromes.". *The Oncologist*, 1 (9), 13-24.
- Torres, F. (2007). "Correlación Entre Parámetros Morfológicos Y Expresión Inmunohistoquímica De Factores Pronósticos En El Carcinoma Ductal Invasor De Mama". *Esp Patol*, 40 (4), 217-223.
- Tretham-Dietz, A. N. (Dec de 2006). "Breast Cancer Risk Factors And Second Primary Malignancies Among Women With Breast Cancer". *Breast Cancer Research And Treatment*, 21.
- Turbin, D. L. (2008). Automated quantitative analysis of estrogen receptor expression in breast carcinoma does not differ from expert pathologist scoring: a tissue microarray study of 3,484 cases. *Breast Cancer Res Treat.* (110), 417-42.
- Valdés, V. P. (1994). *Fisiología De La Glándula Mamaria*. En: *Lactancia Para La Madre Y El Niño*. Santiago Mediterraneo.
- Viale, G. R. (2007). Prognostic and predictive value of centrally reviewed expression of estrogen and progesterone receptors in a randomized trial comparing letrozole and tamoxifen adjuvant therapy for postmenopausal early breast cancer: BIG 1-98. *J Clin Oncol* (25), 3846-52.
- Weidner, N. F. (1992). "Tumor Angiogenesis: A New Significant And Independent Prognostic Indicator In Primary Breast Carcinoma". *J Natl Cancer Inst*, 84, 1875-1887.
- Welsch, U. (2009). *Histología* (Vol. 2). España: Médica Panamericana.
- WIKIPEDIA. (s.f.). *WIKIPEDIA*. Recuperado el 06 de Oct de 2009, de <http://es.wikipedia.org/wiki/Farmacolog%C3%ADa>
- Wilbur, D. W. J. (1982). Estrogen and progesterone receptor detection in archival formalin-fixed paraffin-embedded tissue from breast carcinomas: A comparison of immunohistochemical with the dextran coated charcoal assay. *Mod Pathol*, 5, 79-85.
- Yaziji, H. T. (2008). Consensus recommendations on estrogen receptor testing in breast cancer by immunohistochemistry. *Appl Immunohistochem Mol Morphol.* (16), 513-520.
- Zacuemien, I. L. (1990). "Distribution Of Estrogen and Progesterone Receptors In Healthy Tissue Adjacent To Breast Lesions At Various Stages- Immunohistochemical Study Of 107 Cases". *Breast Cancer Res Treat* (15), 109-117.

ANEXOS

ANEXO 1

GLOSARIO

Adherencia al Tratamiento Como el cumplimiento del mismo; es decir, tomar la medicación de acuerdo con la dosificación y el programa prescrito; y la persistencia, tomar la medicación a lo largo del tiempo de tratamiento indicado. (Pfizer, 2009).

Carcinoma Ductal Invasor Carcinoma invasor que se origina en el epitelio de revestimiento ductal. Se distinguen un tipo convencional (clásico), con numerosas variantes del mismo, y otros tipos especiales. (Grases, 2003)

Efecto Terapéutico Es el fenómeno por el cual los síntomas de un paciente pueden mejorar mediante un tratamiento con una sustancia placebo, es decir, una sustancia inerte a los fines de lo que estaría causando (etiología, conocida o no) los síntomas del paciente en un primer lugar. (WIKIPEDIA)

Eficacia Capacidad de un sistema para obtener resultados, sin preocuparse por los recursos que deba invertir para ello. (EUMED)

Eficiencia Es la relación entre los resultados que logra y el costo de los recursos necesarios. (EUMED)

Especificidad Es la capacidad de una prueba para descartar al exento de la enfermedad investigada evitando la presencia de falsos positivos. (Colimon, 1990)

Evolución Desfavorable Sobrevida refleja la proporción de personas vivas a un tiempo pre-especificado luego del diagnóstico de la enfermedad en cuestión. Usualmente, y por convención, este tiempo es de 5 años. (Polit, 2009)

Índice Allred Es un método de valoración microscópica para la identificación de receptores de estrógenos y progesterona, que debe transmitir la proporción estimada y la intensidad de las células tumorales positivos (rango 0-8). (Dixon, 2003)

Índice H Es un método de valoración microscópica para la identificación de receptores de estrógenos y progesterona y se obtiene al multiplicar el porcentaje de células tumorales por el factor de intensidad de coloración: 1 para los débiles, 2 para los

moderados, y 3 para los intensos. La puntuación final se sitúa entre 0 y 300. (Rosen, 2006)

Índice Número con que se representa convencionalmente el grado o intensidad de una determinada cualidad o fenómeno. (DEF)

Inmunohistoquímica Técnicas basadas en el uso de anticuerpos marcados que permiten asociar la visualización microscópica de detalles tisulares y celulares, con la detección de moléculas concretas en la muestra. (Osakidetza, 2009)

Pronóstico Juicio que forma el médico respecto a los cambios que pueden sobrevenir durante el curso de una enfermedad, y sobre su duración y terminación. (DICCIONED)

Receptor de Estrógeno Proteína que se encuentra en el interior de las células del tejido reproductor femenino, en algunos otros tipos de tejidos y en algunas células cancerosas. La hormona estrógeno se unirá a los receptores dentro de las células y puede hacer que las células crezcan. También se llama RE. (CNI)

Receptor de Progesterona Proteína que se encuentra en el interior de las células del tejido reproductor femenino, algunos otros tipos de tejido y algunas células cancerosas. La hormona progesterona se une a los receptores del interior de las células y puede hacer que las células crezcan. También se llama RP. (CNI)

Reproducibilidad Debe permitir la repetición del fenómeno en varias condiciones de persona, tiempo y espacio.(Colimon, 1990)

Sensibilidad Es la capacidad de una prueba para detectar a los enfermos evitando la presencia de falsos negativos.(Colimon, 1990)

Valor predictivo negativo Es su capacidad para dar un resultado negativo a los realmente exentos de la enfermedad, evitando así la inclusión de falsos negativos. Es la estimación de la probabilidad de ausencia de la enfermedad cuando el test es negativo. (Colimon, 1990)

Valor predictivo positivo Es la capacidad del test de dar un resultado positivo a los realmente enfermos, evitando así la inclusión de falsos positivos. Es la estimación de la probabilidad de estar enfermo cuando el test es positivo. (Colimon, 1990)

ANEXO 2
ESCALA DE SCARF-BLOOM-RICHARDSON (SBR)

Formación de Túbulos	Pleomorfismo Nuclear	Mitosis
Generalizada (1)	Débil (1)	0 -1
Aislada (2)	Moderado (2)	2
Ausente (3)	Intenso (3)	3 o mas

Pronóstico Favorable: 3, 4 o 5

Pronóstico Moderado: 6, 7

Pronóstico Desfavorable: 8, 9

(Gunther, 2005)

ANEXO 3

CLASIFICACIÓN TNM DEL CÁNCER DE MAMA

N = Linfonodos regionales

Nx : No pueden ser evaluados por falta de datos

N0 : Ausencia de adenopatías palpables

N1 : Metástasis axilares homolaterales móviles palpables

N2 : Metástasis axilares homolaterales fijas o metástasis en mamaria interna homolaterales detectables por imágenes (salvolinfocintigrafía) o por examen clínico, en ausencia clínica de metástasis en axila.

N2a : Metástasis axilares homolaterales fijas entre sí o a otras estructuras.

N2b : Metástasis en cadena mamaria interna homolateral en ausencia clínica de metástasis axilares.

N3 : Metástasis infraclaviculares homolaterales o en mamaria interna homolaterales detectadas por imágenes o clínica y presencia de metástasis axilares; supraclaviculares homolaterales con o sin compromiso de linfonodos de axila o mamaria interna.

N3a : Metástasis en linfonodos infraclaviculares homolaterales y en axilares

N3b : Metástasis en linfonodos de mamaria interna homolaterales y en axilares

N3c : Metástasis en linfonodos supraclaviculares

T = Tumor

Tx : Tumor desconocido

To : Sin evidencias de tumor primario

Tis : Carcinoma in situ (CDIS - CLIS - Paget no asociado tumor)

T1 : Tumor de 2 cm o menos en su diámetro mayor

T1 mic: Microinvasión menor de 0,1cm en su diámetro mayor

T1a : Tumor de 0,5 cm o menos

T1b : Tumor mayor de 0,5 cm y hasta 1 cm

T1c : Tumor mayor de 1 cm y hasta 2 cm

T2 : Tumor mayor de 2 cm y hasta 5 cm

T3 : Tumor mayor de 5 cm

T4 : Tumor de cualquier tamaño con extensión a pared torácica o a piel

T4a : Extensión a pared torácica

T4b : Piel con edema, ulceración o nódulos satélites en la mama

T4c : Suma de a + b

T4d : Cáncer inflamatorio

M = Metástasis a distancia

Mx : No hay datos

M0 : Sin metástasis sistémicas demostrables

M1 : Metástasis sistémicas presentes

Es importante saber que esta nueva clasificación incorpora los Tmic y a la cadena mamaria interna dentro de N.

(AJCC, 2004)

ESTADIFICACIÓN TNM

Estadio 0	=	Tis	N0	M0
Estadio I	=	T1	N0	M0
Estadio II A	=	T0	N1	M0
		T1	N1	M0
		T2	N0	M0
Estadio II B	=	T2	N1	M0
		T3	N0	M0
Estadio III A	=	T0	N2	M0
		T1	N2	M0
		T2	N2	M0
		T3	N1	M0
		T3	N2	M0
Estadio III A	=	T4	N0	M0
		T4	N1	M0
		T4	N2	M0
Estadio III B	=	Cualquier T N3 M0		
Estadio IV	=	Cualquier T + cualquier N + M1		

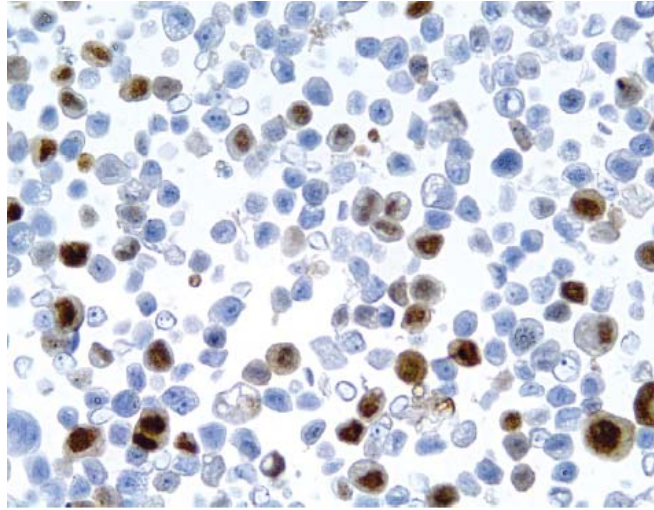
Estadio I y II	: Tempranos y curativos.
Estadio III	: Locorregionalmente avanzado.
Estadio IV	: Diseminado y se considera incurable.

(AJCC, 2004)

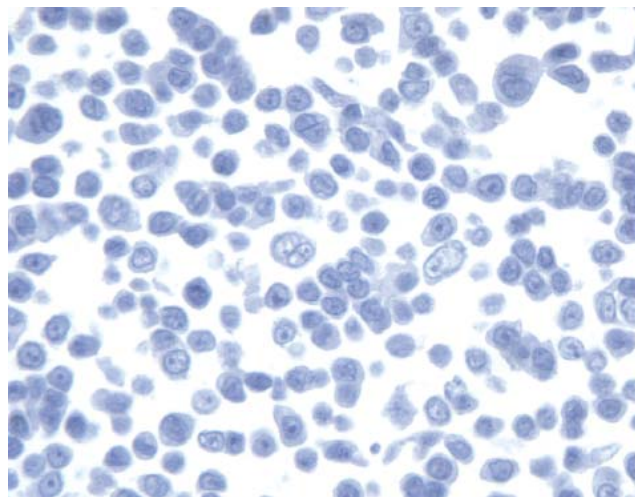
OBSERVADOR 1																		
ESTROGENOS										PROGESTERONA								
# informe	<i>Indice H</i>	Positividad	Tiempo	Uso de Farmaco	<i>Indice Allred</i>	IS	PS	Tiempo	Uso de Farmaco	<i>Indice H</i>	Positividad	Tiempo	Uso de Farmaco	<i>Indice Allred</i>	IS	PS	Tiempo	Uso de Farmaco

ANEXO 4

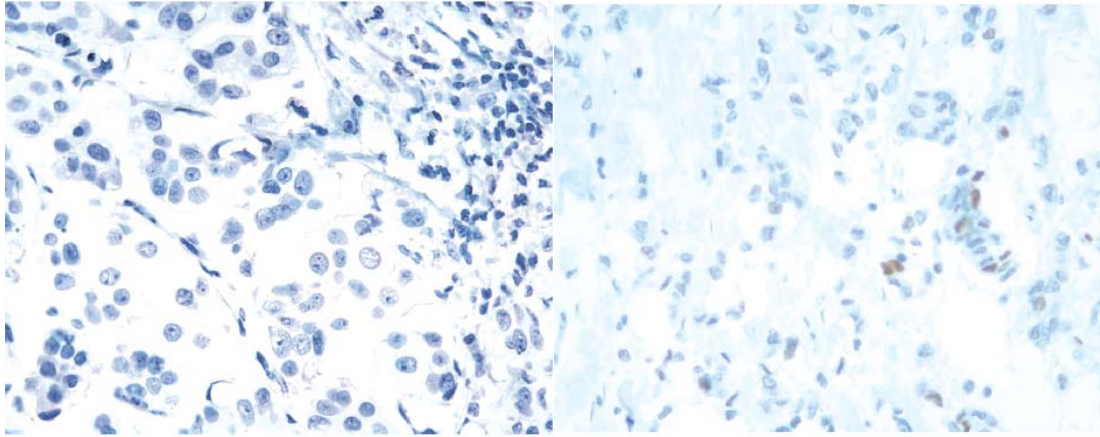
ANEXO 5
RECEPTOR DE PROGESTERONA
INDICE DE ALLRED



Células positivas teñidas con la línea de control PR. 40x

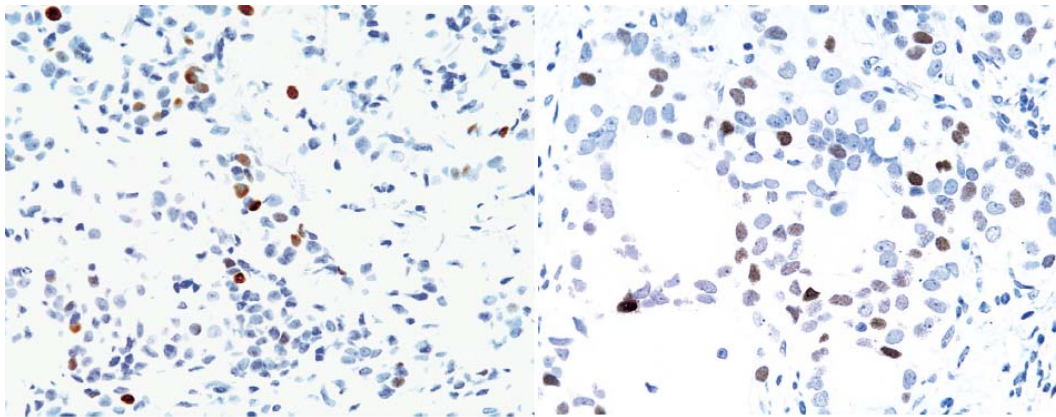


Células negativas teñidas con la línea de control PR. 40x



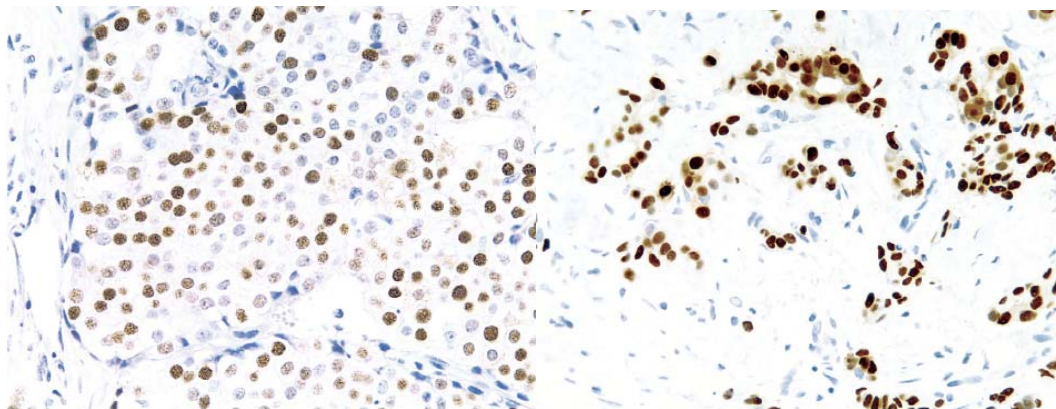
$(PS\ 0) + (0) = 0 \rightarrow$ TS negativo

$(PS\ 1) + (ES\ 1) = TS\ 2 \rightarrow$ negativo



$(PS\ 1) + (ES\ 2) = 3 \rightarrow$ TS positivo

$(PS\ 3) + (ES\ 1) = 4 \rightarrow$ TS positivo

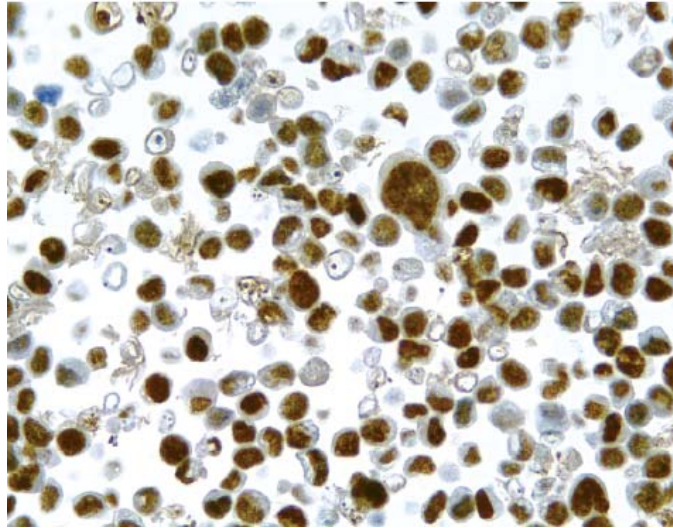


$(PS\ 4) + (ES\ 1) = TS\ 5 \rightarrow$ positivo

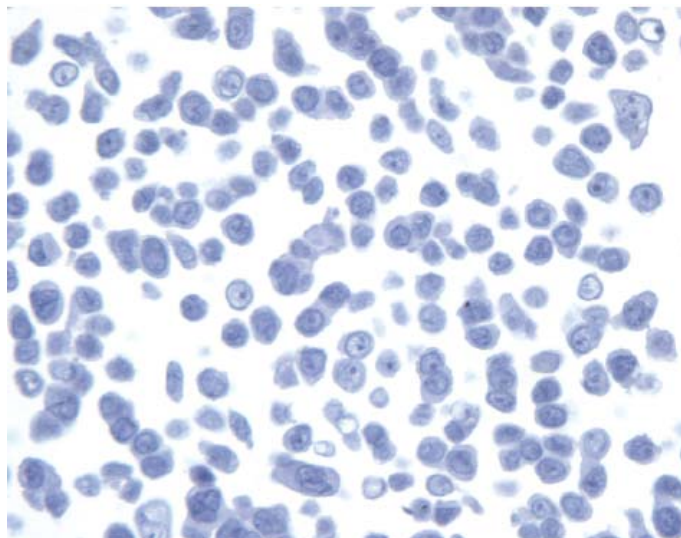
$(PS\ 5) + (ES\ 3) = TS\ 8 \rightarrow$ positivo

ANEXO 6

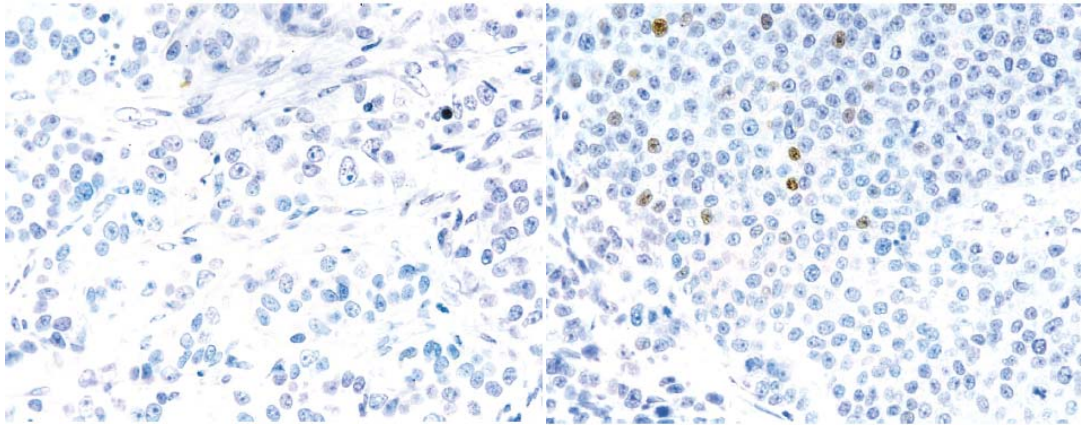
RECEPTOR DE ESTROGENOS ÍNDICE DE ALLRED



Células positivas teñidas con la línea de control ER. 40x

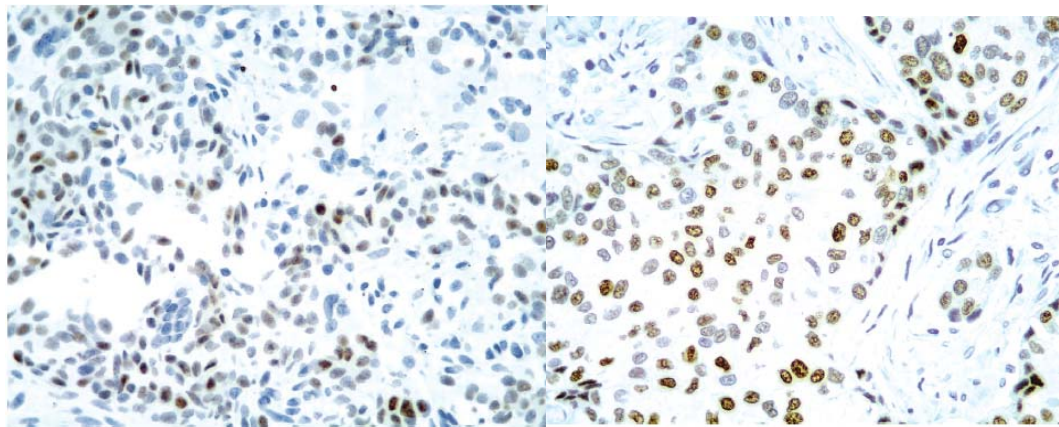


Células negativas teñidas con la línea de control ER. 40x



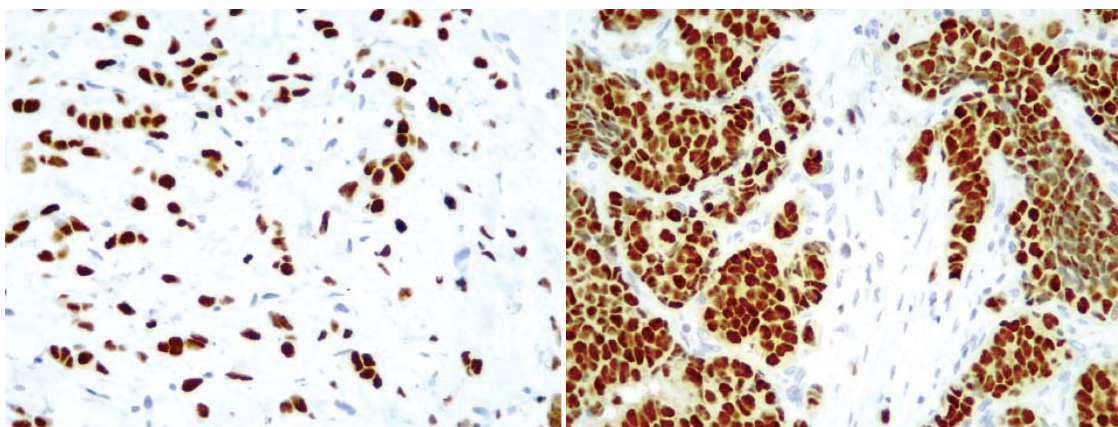
(PS 0) + (ES 0) = 0 → TS negativo

(PS 1) + (ES 1) = TS 2 → negativo



(PS 3) + (ES 1) = 4 → TS positivo

(PS 5) + (ES 1) = 6 → TS positivo



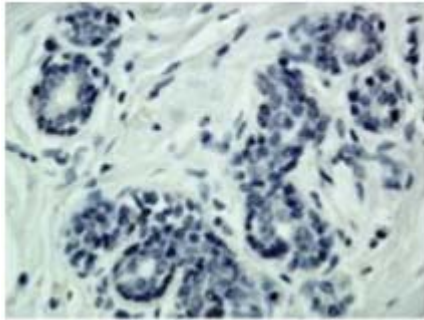
(PS 5) + (ES 2) = 7 → TS positivo

(PS 5) + (ES 3) = TS 8 → positivo

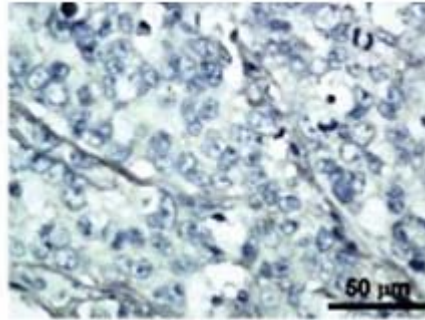
ANEXO 7

ÍNDICE H

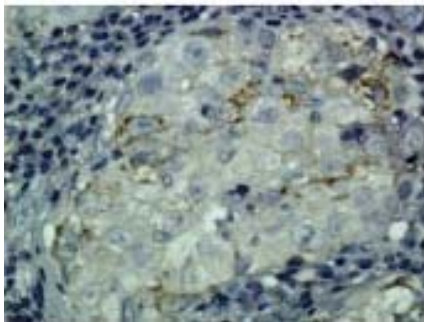
Tejido Normal



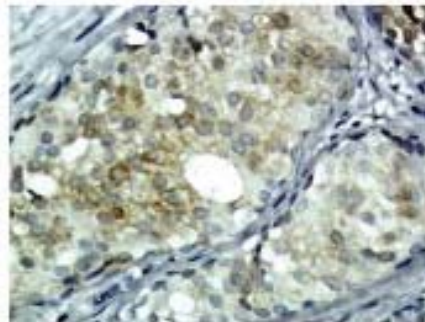
Control Negativo



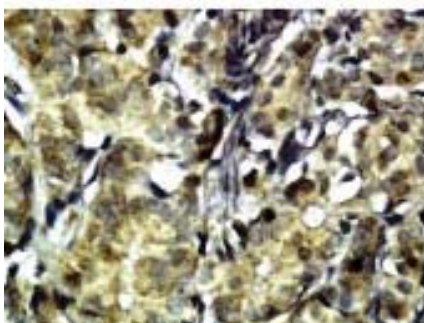
Score 1



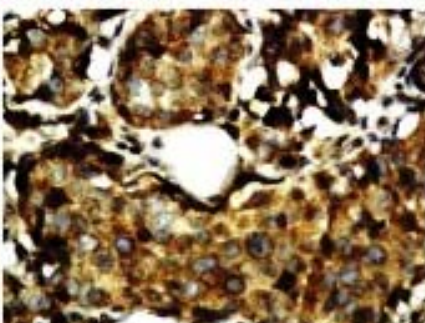
Score 2



Score 3



Score 4



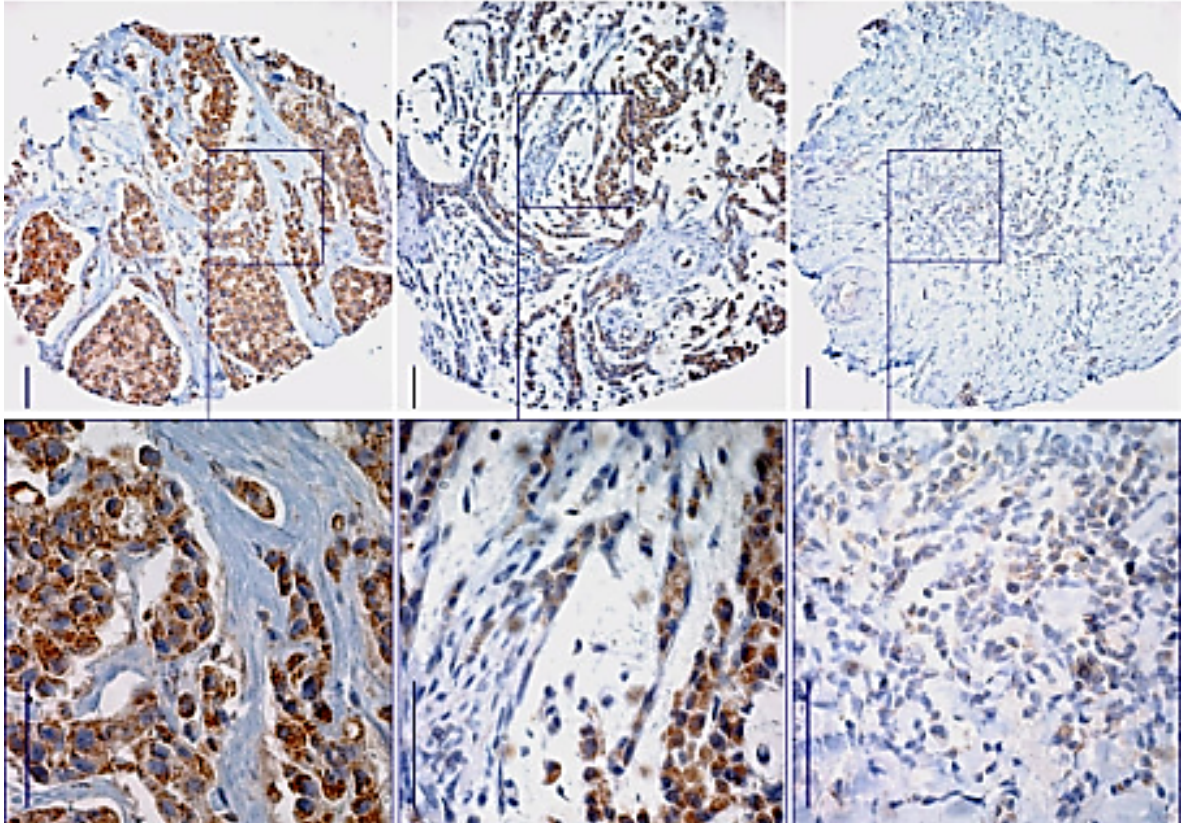
ANEXO 8

INDICE H

H-score: 180

H-score: 80

H-score: 20



ANEXO 9

TABLA No. 1

RECEPTOR DE ESTRÓGENOS

		ÍNDICE H		
		Positivo	Negativo	
ÍNDICE ALLRED	Positivo	56	3	$T = 59$
		a	b	
	Negativo	6	25	$T = 31$
		c	d	

Sensibilidad

$$S = \frac{a}{a + b}$$

$$S = \frac{56}{56 + 3}$$

$$S = \frac{56}{59}$$

$$S = 0.94$$

$$S = 0.94 \times 100 = 94\%$$

Especificidad

$$E = \frac{d}{c + d}$$

$$E = \frac{25}{6 + 25}$$

$$E = \frac{25}{31}$$

$$E = 0.806$$

$$E = 0.806 \times 100 = 80.6\%$$

Valor Predictivo Positivo

$$V_{pp} = \frac{a}{a + c}$$

$$V_{pp} = \frac{56}{56 + 6}$$

$$V_{pp} = \frac{56}{62}$$

$$V_{pp} = 0.90$$

$$V_{pp} = 0.90 \times 100 = 90\%$$

Valor Predictivo Negativo

$$V_{pn} = \frac{d}{b + d}$$

$$V_{pn} = \frac{25}{3 + 25}$$

$$V_{pn} = \frac{25}{28}$$

$$V_{pn} = 0.89$$

$$V_{pn} = 0.89 \times 100 = 89\%$$

ANEXO 10

TABLA No. 2

RECEPTOR DE PROGESTERONA

		ÍNDICE H		
		Positivo	Negativo	
ÍNDICE ALLRED	Positivo	51	3	$T = 54$
	Negativo	9	27	$T = 36$
		a	b	
		c	d	

Sensibilidad

$$S = \frac{a}{a + b}$$

$$S = \frac{56}{56 + 3}$$

$$S = \frac{56}{59}$$

$$S = 0.94$$

$$S = 0.94 \times 100 = 94\%$$

Especificidad

$$E = \frac{d}{c + d}$$

$$E = \frac{25}{6 + 25}$$

$$E = \frac{25}{31}$$

$$E = 0.806$$

$$E = 0.806 \times 100 = 80.6\%$$

Valor Predictivo Positivo

$$V_{pp} = \frac{a}{a + c}$$

$$V_{pp} = \frac{56}{56 + 6}$$

$$V_{pp} = \frac{56}{62}$$

$$V_{pp} = 0.90$$

$$V_{pp} = 0.90 \times 100 = 90\%$$

Valor Predictivo Negativo

$$V_{pn} = \frac{d}{c + d}$$

$$V_{pn} = \frac{25}{6 + 25}$$

$$V_{pn} = \frac{25}{31}$$

$$V_{pn} = 0.80$$

$$V_{pn} = 0.80 \times 100 = 80\%$$

ANEXO11

TABLA No. 3

CÁLCULO REPRODUCIBILIDAD ÍNDICE DE ALLRED

		OBSERVADOR 3		
		42	6	$T = 48$
OBSERVADOR 2		<i>a</i>	<i>b</i>	
		<i>c</i>	<i>d</i>	$T = 42$
		18	24	
		$T=60$	$T=30$	

Reproducibilidad Simple

$$RS = \frac{a}{a + b}$$

$$RS = \frac{42}{42 + 6}$$

$$RS = \frac{42}{48}$$

$$RS = 0.875$$

$$RS = 0.875 \times 100 = 87.5\%$$

Reproducibilidad Compleja

$$RC = \frac{a + d}{total}$$

$$RC = \frac{42 + 24}{90}$$

$$RC = \frac{66}{90}$$

$$RC = 0.73$$

$$RC = 0.73 \times 100 = 73\%$$

CÁLCULO REPRODUCIBILIDAD INDÍCE H

		OBSERVADOR 3		
		43	6	$T = 52$
OBSERVADOR 2		a	b	
		c	d	$T = 41$
		16	25	
		$T=59$	$T= 31$	

Reproducibilidad Simple

$$RS = \frac{a}{a + b}$$

$$RS = \frac{43}{43 + 6}$$

$$RS = \frac{43}{49}$$

$$RS = 0.8775$$

$$RS = 0.8775 \times 100 = 87.75\%$$

Reproducibilidad Compleja

$$RC = \frac{a + d}{total}$$

$$RC = \frac{43 + 25}{90}$$

$$RC = \frac{68}{90}$$

$$RC = 0.75$$

$$RC = 0.75 \times 100 = 75\%$$