

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR

FACULTAD DE MEDICINA

**“DETERMINACIÓN DE LA CONCORDANCIA DE EXPRESIÓN DEL
MARCADOR DE PROLIFERACIÓN CELULAR KI67 Y
ONCOSUPRESOR P53 MUTADOS EN PACIENTES FEMENINAS
CON DIAGNÓSTICO DE CARCINOMA INVASOR DE MAMA EN EL
SERVICIO DE PATOLOGÍA DEL HOSPITAL CARLOS ANDRADE
MARÍN, PERÍODO FEBRERO 2014-FEBRERO 2015”**

**DISERTACIÓN PREVIA A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE
MÉDICO CIRUJANO**

PAOLA DONOSO NARANJO

EVELYN PÁNCHEZ LÓPEZ

DIRECTOR: DR. EDISON CHAVES

DIRECTOR METODOLÓGICO: DR. LUIS ESCOBAR

QUITO - 2016

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por cada una de las bendiciones que hemos recibido.

A nuestros padres, por su sacrificio diario, su amor incondicional y por guiar siempre nuestros sueños.

A nuestros hermanos, compañeros del camino, nuestros mejores amigos.

A cada uno de nuestros maestros, por regalarnos no sólo conocimiento sino herramientas para enfrentar la vida.

A nuestra familia y amigos, por compartir con nosotros cada momento.

DEDICATORIA

A nuestros padres, por cada noche de desvelo junto a nosotras, por ser el mejor y mayor ejemplo de perseverancia.

A ustedes, porque cada triunfo nuestro es primero suyo.

Con amor,

Evelyn y Paola

CONTENIDO

LISTA DE TABLAS	IV
LISTA DE GRÁFICOS	VI
RESUMEN	1
CAPÍTULO I.....	5
INTRODUCCIÓN.....	5
CAPÍTULO II.....	7
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	7
Embriología.....	7
Anatomía.....	10
Fisiología	17
Histología	21
Cambios de la glándula mamaria durante las etapas de desarrollo	24
Embarazo y Lactancia.....	27
El Ciclo celular.....	30
Origen Molecular del Cáncer	52
CAPÍTULO III	64
MATERIALES Y MÉTODOS.....	64
Problema de Investigación	64
Por lo que nos realizamos la siguiente interrogante específica: ...	65
Objetivos.....	65
Objetivo General.....	65
Hipótesis	66
Operacionalización de Variables	67
Universo y Muestra	68
Tipo de Estudio.....	69
Procedimientos de Recolección de Información	69

Tabla de recolección de datos	69
Plan de análisis de datos	70
Aspectos Bioéticos	70
Confidencialidad de la información.....	71
CAPÍTULO IV	72
RESULTADOS	72
CAPÍTULO V	84
DISCUSIÓN.....	84
CAPÍTULO VI	90
CONCLUSIONES	90
RECOMENDACIONES	93
BIBLIOGRAFÍA.....	96
ANEXOS	101
ANEXO 1	101

LISTA DE TABLAS

TABLA 1. Fases evolutivas del crecimiento mamario	8
TABLA 2. Clasificación TNM Cáncer Mamario.....	40
TABLA 3. Estadíos Tumoraes.....	41
TABLA 4. Operacionalización de las Variables	53

LISTA DE GRAFICOS

Gráfico 1: Embriología de la glándula mamaria.....	6
Gráfico 2: Anatomía de la mama femenina.....	12
Gráfico 3: Edad de las pacientes estudiadas	58
Gráfico 4: Tipo de Tumor de las pacientes estudiadas	59
Gráfico 5: Porcentajes de pacientes asociado al Grado Histológico de la Lesión	60
Gráfico 6: Porcentajes de pacientes en cada estadio tumoral.....	60
Gráfico 7: Relación Edad - Expresión Ki67	61
Gráfico 8: Relación Edad- Expresión P53	62
Gráfico 9: Relación de expresión positiva marcadores neoplásicos Ki 67 y p 53 con grado histológico tumoral	63
Gráfico 10: Relación Estadío Tumoral - Expresión Ki67	64
Gráfico 11: Relación Estadío - Expresión P53	65
Gráfico 12: Relación de expresión positiva marcadores neoplásicos Ki67 y p53 con el estadio tumoral	66

RESUMEN

El carcinoma de la glándula mamaria es la principal causa de muerte en mujeres entre la tercera y la sexta décadas de vida y ocupa el segundo lugar de incidencia de tumores malignos en la población femenina, por ello es vital un diagnóstico precoz que depende fundamentalmente de reconocer las características neoplásicas de la enfermedad, particularmente su índice de proliferación tumoral.

A fin de evaluar esto se realizó un estudio de tipo descriptivo retrospectivo comparativo para establecer el grado de concordancia en la expresión del Ki67 y el p53 por técnica de inmunohistoquímica (IHQ). El Universo incluyó historias clínicas, informes histopatológicos y de IHQ de los marcadores tumorales Ki67 y p53 de pacientes femeninas diagnosticadas con carcinoma invasor de mama en el periodo febrero 2014 a febrero del 2015. Fueron consideradas como variables de estudio: tipo y grado histológico, estadiaje de la lesión tumoral, grado de expresión del Ki67, grado de expresión del p53, la edad y el tratamiento quimioterápico o quirúrgico previo. Luego de obtener la información de cada variable, se recopilaron los datos a través de una matriz elaborada para su efecto (Anexo 1), a partir de la cual se procedió al análisis en SPSS v23.0.

Para el estudio se utilizó el universo completo compuesto por pacientes con diagnóstico histopatológico y clínico positivo a carcinoma invasor de mama (206). En los resultados obtenidos se encontró que el 62,6% (129) de las pacientes estudiadas corresponden al rango de edad mayor de 50 años. El tipo de neoplasia mamaria predominante encontrada dentro del estudio fue ductal infiltrante, presente en el 85,4% (176). El grado histológico más representativo fue el moderadamente diferenciado que representa el 65,5% del total de casos (135). Los estadios tumorales con mayor número de casos fueron IIA, I, IIB y IIIA que corresponden al 76,7% del total de casos (158).

Se encontró que el 98,1% (202) expresan el marcador Ki67 y el 40,30% (83) expresan el marcador p53. Un hallazgo importante del estudio es que la expresión del marcador P53 es menor que la expresión del marcador Ki67 en todas las variables comparadas con estos oncogenes y oncosupresores: edad, estadios neoplásicos y tipo histológico de tumor demostrando así su concordancia.

ABSTRACT

Mammary Glands carcinoma is the main cause of death in women between third and sixth decade of life and it is also the second most common malignant tumor in the female population, there for it is vital to get an early diagnosis which depends on recognizing the malignancy characteristics of the disease, particularly its proliferative tumoral index.

In order to assess this, a descriptive retrospective comparative study was applied to establish the level of concordance on the expression of Ki67 and p53 tumor markers by an immunohistochemistry (IHC) technique. The universe included health records, histopathological reports, and IHC of the tumoral markers Ki67 and p53 on female patients diagnosed with invasive mammary carcinoma on the period between February 2014 and February 2015. The variables considered in this study were: type and histological degree, staging of the tumoral lesion, degree of expression of the Ki67, degree of expression of the ps53, the age of the patient and the previous chemotherapy or surgical treatments. After gathering the information from each variable, the data was introduced into a matrix developed for this effect (Attechment1), from which the data was analyzed on the statistical software SPSS v23.0.

The whole universe was analyzed in this study, was composed by patients with a positive histopathological and clinical diagnosis of invasive mammary tumor (206). The results showed that 62.6% (129) of the studied patients belong to a range of age over 50 years. The type of predominant mammary malignancy was ductal infiltrating present in 85.4% (176) of the cases. The most relevant histological degree was the moderate differentiated which represented 65.5% of the studied cases (135). The tumoral stages with the highest number of cases were IIA, I, IIB and IIIA which represent 76, 7% of the total numbers (158).

It was found that 98.1% (202) of the patients expressed the Ki67 marker and 40.30% (83) expressed the p53 marker. An important find in this study is that the expression of the p53 marker is lower than the expression of the Ki67 marker in all of the compared variables with these oncogenes and oncosuppressors: age, neoplastic stages and tumor histologic type, demonstrating its concordance.

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

El carcinoma de glándula mamaria es la patología neoplásica maligna más frecuente en pacientes femeninas en el mundo. Actualmente el 31% de los casos se presentan en países en vías de desarrollo. Durante el 2012, fueron reportados 408000 casos en el continente americano con 92000 pacientes fallecidas. Según el "National Cancer Institute" en el 2016 se encontró 246660 casos, de esta cifra 14,6% representan los casos nuevos. Según los últimos datos del 2014 de la OPS para el año 2020 se estima 525000 fallecimientos a nivel mundial. El cáncer de mama junto con el cáncer uterino es la principal causa de muerte en mujeres en América Latina.

En Ecuador se calculan 10200 casos nuevos cada año, ocupando el segundo lugar en incidencia luego del cáncer de cuello uterino y situando al país en el puesto 56 de frecuencia con respecto a otros países de Latinoamérica. En Quito, para el año 2005 la tasa de incidencia fue 35,8 por 100.000. (1)

Esta enfermedad es posible de ser tratada a través de un diagnóstico y tratamiento precoces, esto depende fundamentalmente del adecuado conocimiento del origen, estructura y función de la glándula mamaria, así como de los mecanismos que alteran al ciclo celular asociados a la actividad de oncogenes y oncosupresores que determinan el inicio del proceso neoplásico.

CAPÍTULO II

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Embriología

El desarrollo de la glándula mamaria se inicia a partir de la quinta semana de la fase embrionaria, donde se forman las crestas mamarias que son engrosamientos epidérmicos bilaterales que se extienden a lo largo del tronco desde la región axilar hasta la ingle, constituido por una sola capa de células (2). Durante la sexta semana, estas estructuras proliferan en ciertas regiones, formando esbozos mamarios (ocho en cada línea), de los cuales el cuarto formará la glándula mamaria adulta (3). Posteriormente, los dos tercios inferiores de estas crestas desaparecen y el tercio proximal se desarrolla dando origen al primordio de la glándula mamaria. Cuando este proceso no se completa en su totalidad se pueden observar pezones o tejido mamario accesorio en otras localizaciones (3).

Durante la séptima a octava semana de gestación, el desarrollo mamario ocurre en tres estadios: el primero, conocido como estadio

de elevación, en el cual se produce un engrosamiento de la mama. Luego, este engrosamiento sufre una invaginación que se conoce como estadio de disco. Por último, se da un crecimiento tridimensional conocido como estadio globular (Yema mamaria). Posteriormente, a la 12ª y 16ª semanas las células se diferenciarán en musculares lisas del pezón y de la areola. A partir de la semana 16ª los primordios ya mencionados darán origen a 16 a 24 cordones epiteliales (invaginaciones), las cuales se dividen en ramas secundarias y terciarias. Estas ramas corresponden a las estructuras de la glándula mamaria adulta, de manera que los troncos principales corresponden a los conductos galáctoforos, las ramas secundarias a los conductos de menor calibre y las ramas terciarias a los alveolos.

En el quinto mes de gestación aparecen invaginaciones sebáceas, estructuras pilosas y glándulas apócrinas (Montgomery). (3)

El tejido adiposo se origina a través de la unión de los preadipocitos que provienen de los fibroblastos especializados o de células retículo endoteliales.

Durante el octavo mes, los cordones epiteliales se canalizan en conductos galactóforos, a partir de los cuales se forman los

conductos menores, tubos glandulares y los alveolos, que son la base de la unidad ductal lobulillar.

El pezón se desarrolla a partir del tejido conectivo adiposo, el cual provoca el engrosamiento de la dermis que impulsa la piel hacia fuera, formando una prominencia con depresión central donde confluyen todos los conductos galactóforos. Posteriormente se forma una depresión conocida como fóvea mamaria que persiste hasta el nacimiento y desaparece en la infancia. (4)

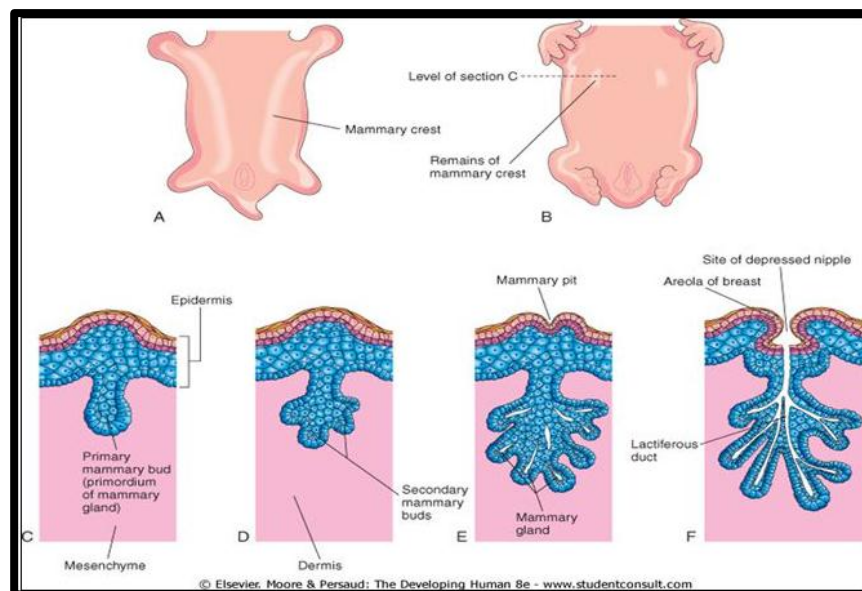


Grafico 1. Embriología de la glándula mamaria. (A) Vista ventral de un embrión de aproximadamente 28 días ilustrando las crestas mamarias. (B) Vista similar a las 6 semanas donde se observa los vestigios de las crestas mamarias. (C) Corte coronal de la cresta mamaria del botón de desarrollo. (D,F) Cortes similares que muestran los estadios sucesivos del desarrollo mamario entre la

décima segunda semana y el nacimiento. Extraído de Moore KL, Dailey AF, Agur AM. Moore Anatomía con orientación clínica. 9ª ed. Barcelona: Lippincott Williams y Wilkins; 2013.

Anatomía

Durante la infancia, las glándulas mamarias se ubican en el cuarto espacio intercostal a 10 cm de la línea media del tórax. En la pubertad, las glándulas mamarias del hombre no experimentan cambios, por otra parte las glándulas femeninas crecen alcanzando su máximo tamaño y desarrollo en la edad adulta. Así, en condiciones normales la glándula mamaria se ubica entre el segundo y sexto espacios intercostales y entre el esternón y la línea media axilar, descansa sobre el músculo pectoral mayor y el serrato anterior.

Las relaciones anatómicas de la mama corresponden a los músculos voluntarios y huesos asociados a la cavidad torácica. Para establecer estas relaciones debemos considerar que la mama tiene una cara anterior, una posterior y una circunferencia, delimitada por dos extremos laterales. La cara posterior plana se encuentra en íntima relación con músculo pectoral mayor y en un plano más profundo los espacios intercostales que constituyen la región mamaria del

segundo al sexto espacio. La cara anterior convexa delimitada por la piel que en su centro presenta la areola y el pezón. Finalmente la circunferencia que su lado interno, desde la profundidad a la superficie se relaciona con el esternón, el surco intermamario y en algunos casos la fosa gástrica. En el lado externo se encuentra delimitada en su totalidad por la axila del lado correspondiente (5).

En promedio la mama mide de 10 a 11 cm de altura, 12 a 13 cm de ancho y 5 a 6 cm de espesor. El tamaño no guarda relación con la talla general de la persona. En relación a su forma, las glándulas mamarias en una mujer joven son casi hemisféricas, la mitad inferior es normalmente más redondeada (6).

La escala utilizada para determinar el desarrollo morfológico de la glándula mamaria en diferentes estadios fue descrita por el pediatra británico James Tanner en el año de 1961, la cual considera las siguientes características morfológicas.

TABLA 1. Fases evolutivas del crecimiento mamario

Fase I	Preadolescente: elevación de papila únicamente
Fase II	Fase del botón o brote mamario: elevación de mama y papila, que forma un bulto pequeño. Agrandamiento del diámetro areolar.
Fase III	Mayor agrandamiento y elevación de mama y aréola, sin separación de sus contornos.
Fase IV	Proyección de aréola y papila lo que forma un bulto secundario sobre el nivel de la mama.
Fase V	Fase madura: proyección de la papila solamente, debido a retiro de la aréola al contorno general de la mama

Extraído de Kliegman R, Behrman R, Jenson H, Stanton B. Nelson: Tratado de pediatría. 19ª ed. Barcelona: Elsevier España; 2012.

En la cara anterior de la glándula mamaria se encuentran: la areola que contiene glándulas sebáceas, las cuales se activan para protegerla del roce durante la lactancia y el pezón que protruye del centro de la areola (7). La areola es una superficie pigmentada de 4

a 5 cm de diámetro, es rosada en la mujer joven y se pigmenta durante el embarazo. La piel de la areola está formada por fibras circulares dispuestas concéntricamente y fibras radiadas. Entre estas fibras musculares se encuentran las glándulas anexas: sudoríparas y sebáceas.

El pezón mamario mide 1 cm de ancho y de altura, es de forma cónica o cilíndrica y en su superficie posee surcos y aberturas que son los orificios de los conductos lactíferos. Los pezones no tienen grasa, pelo ni glándulas sudoríparas. La disposición de las fibras musculares lisas es circular lo que permite la compresión de los conductos galactóforos durante la lactancia y la erección en respuesta a estímulos (6). Existen diferentes tipos de pezones entre los que encontramos el pezón umbilicado que se encuentra en el interior de una depresión de la glándula mamaria, pezón aplanado, pezón invertido, pezones unilaterales, etc.

Para su valoración, la mama se divide en cuatro cuadrantes dispuestos en: cuadrante inferior externo, inferior interno, superior interno y superior externo (7).

La irrigación de la glándula mamaria procede de tres arterias principalmente: la arteria axilar y sus ramas, la arteria torácica interna y las arterias intercostales. Las ramas de la arteria axilar son: rama torácica de la toracoacromial, arteria torácica superior, arteria subescapular y arteria torácica lateral, estas irrigan la superficie lateral e inferior de la mama. De todas las ramas la más importante es la mamaria lateral principal (7).

La zona media de la mama se encuentra irrigada por ramas perforantes de la torácica interna, que atraviesan los espacios intercostales (2º, 3º y 4º), la mamaria medial principal es la que atraviesa el 2do espacio intercostal.

La cara superficial de la glándula mamaria está irrigada por las ramas perforantes de las arterias intercostales las cuales forman una red que envía arteriolas hacia la piel, hacia los lóbulos y los lobulillos.

El drenaje venoso proviene principalmente de la vena axilar que se forma de la unión de la vena basílica y braquial, a su vez drena en la vena subclavia la cual se une con vena yugular interna y forman el tronco venoso braquiocefálico que desemboca en la vena cava superior. La sangre venosa drena también en la vena torácica interna y en las intercostales posteriores. La importancia de la irrigación arterial y el drenaje venoso radica en la posibilidad de

convertirse en una ruta directa para metástasis pulmonares, a través de émbolos que llegan al corazón y pueden pasar a la red capilar pulmonar. Las ramas intercostales posteriores poseen comunicaciones con los plexos venosos vertebrales, formando una vía de diseminación hacia los cuerpos de las vértebras y al sistema nervioso central. (12)

Se considera que aproximadamente el 75% de la linfa que proviene de las mamas drena en los nódulos linfáticos axilares específicamente a los nódulos pectorales. Sin embargo, el drenaje también puede ser directo hacia los nódulos axilares, o incluso los interpectoriales, supraclaviculares, deltopectoriales y cervicales profundos inferiores. En cambio, los nódulos linfáticos paraesternales drenan la linfa de los cuadrantes mamarios mediales opuestos. La linfa de los cuadrantes inferiores pasa directamente a los nódulos abdominales entre los que se encuentran: los frénicos y los subdiafragmáticos. Los nódulos linfáticos axilares, cervicales profundos, infraclaviculares y paraesternales, también recogen la linfa que proviene de la piel mamaria, excepto de la areola y el pezón. El tronco linfático subclavio recibe la linfa que proviene de los nódulos claviculares. Estos a su vez recogen la linfa de los nódulos axilares. No obstante, la linfa que proviene de los nódulos

paraesternales drena en el tronco linfático mediastínico, donde también se recibe el producto linfático de las vísceras abdominales. Finalmente el drenaje final llega al conducto torácico izquierdo a través de un pequeño conducto linfático derecho. También, puede ocurrir un drenaje independiente, en el que los troncos desembocan en los ángulos venosos derechos e izquierdos que concluirán en las venas braquiocefálicas. El conocimiento del drenaje linfático es de gran importancia en el estudio de la mama, pues juega un papel de gran relevancia en las metástasis de células cancerosas.

La mama se encuentra inervada por ramos cutáneos anteriores y laterales de los nervios cuarto, quinto y sexto intercostal. Es importante destacar que el pezón presenta abundante inervación sensorial. Los ganglios simpáticos torácicos proveen axones y fibras sensitivas que acompañan las fibras musculares lisas de los vasos, los conductos lactíferos y el pezón (6).

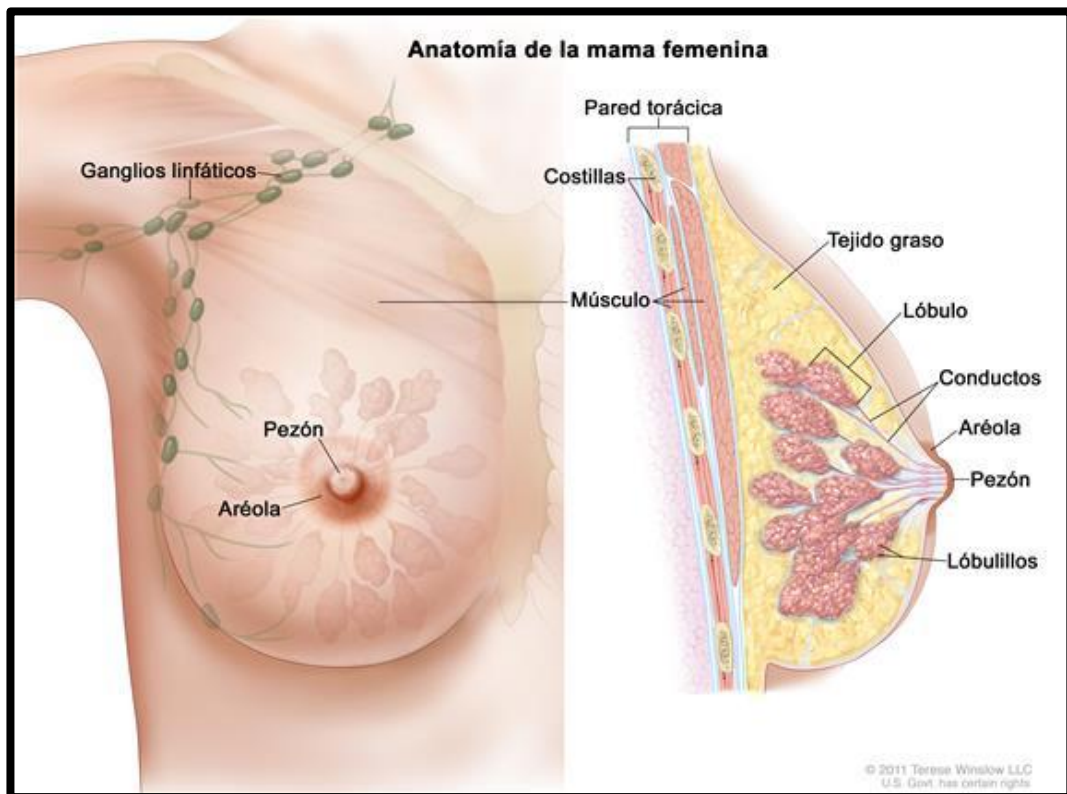


Grafico 2. Anatomía de la mama femenina. Se muestran el pezón y la aréola en la parte externa de la mama. También se muestran los ganglios linfáticos, los lóbulos, los lobulillos, los conductos y otras partes internas de la mama. Extraído de Sardiñas R. Autoexamen de mama: un importante instrumento de prevención del cáncer de mama en atención primaria de salud. Rev Haban Cienc Méd. [serie en Internet]. 2009 jul-sep. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/cgi-bin/wxis.exe/iah/>

Fisiología

El control de la reproducción humana se constituye jerárquicamente por el eje hipotálamo-hipófisis-gonadal. (9) Este eje también interviene en la función y crecimiento de la mama, a través de un conjunto de hormonas, entre las que encontramos: Hormona liberadora de Gonadotropina (GnRH), Hormona Luteinizante (LH),

Hormona Foliculoestimulante (FSH), estrógenos, prolactina, oxitocina, cortisol y hormonas tiroideas. Los niveles de estas hormonas, varían durante cada etapa del ciclo fértil femenino y alrededor de las distintas etapas de desarrollo de la mujer.

La GnRH producida por el hipotálamo permite que la Adenohipófisis, secrete LH y FSH. Estas dos hormonas promueven el crecimiento de un folículo ovárico durante los ciclos menstruales. Para que se dé la ovulación es necesario un pico periovulatorio de mayor magnitud de LH. Cada folículo produce estrógenos y progesterona que permite la proliferación del endometrio para la recepción del óvulo fecundado. Las hormonas ováricas producen un proceso de retroalimentación negativo en la secreción de LH, FSH y GnRH. (10)

Durante la infancia existe el crecimiento de tejido mamario de acuerdo al crecimiento corporal, sin embargo, no influyen los niveles hormonales ni el sexo genético. (13)

A nivel mamario durante la pubertad existe una mayor sensibilidad hormonal en la unidad lobular ductal terminal (ULDT), que está formada por el ducto terminal y los alvéolos. Durante el ciclo fértil

femenino los alveolos mamarios crecen y se vuelven más complejos durante la fase luteínica para sufrir una regresión durante la menstruación. En la ULDT empieza la síntesis de DNA, es decir la multiplicación celular, motivo por el cual con cada ciclo la mama crece gradualmente. El crecimiento del tejido adiposo sucede posteriormente por el estímulo de esteroides ováricos, los mismos que también intervienen en la pigmentación del pezón y la aréola. (14).

Existen diversos factores que intervendrán en el tamaño, densidad y forma de la glándula mamaria, entre ellos encontramos: genéticos, nutricionales y condicionantes.

El estradiol, estrona y estriol forman el grupo de los estrógenos que intervienen en varias funciones. En los ductos lobulares promueven crecimiento y diferenciación del epitelio, multiplicación de células mioepiteliales y estromales del parénquima. En la circulación de la glándula promueven vasodilatación. La acción de los estrógenos muchas veces es indirecta al estimular la producción de factor de crecimiento epidérmico.

Por otro lado, la progesterona actúa mediante receptores citosólicos que no existen en el estroma. Este esteroide promueve el desarrollo lóbulo-alveolar y aumenta la producción de otros factores tróficos (14). Conjuntamente permiten la formación de los acinos secretorios y a partir de la menarquia inducen formación de lobulillos. De igual manera permiten la proliferación de tejido conectivo, el cual reemplaza al tejido adiposo.

Durante el embarazo y la lactancia, existe un crecimiento del epitelio glandular y la proliferación de la unidad lobular ductal terminal. En el cuarto mes de embarazo, la arquitectura ductal de la mama, cambia a una estructura lóbulo-alveolar. La prolactina interviene en la ramificación lateral de los ductos, la regresión de los fondos de saco terminales y también en el desarrollo lóbulo-alveolar. El estradiol estimula la formación de prolactina y el crecimiento de los lactótrofos. La prolactina se produce en diversos lugares como: adenohipófisis, cerebelo, miometrio, placenta y su liberación es estimulada por la oxitocina.

Al quinto mes de embarazo, se pueden encontrar grandes racimos glandulares con pequeñas cantidades de fluidos secretorios. Sin embargo, los niveles circulantes de progesterona y estrógenos

mantienen la producción de prolactina en niveles bajos, deteniendo la producción masiva de calostro y leche materna. Luego del parto, cuando disminuyen las hormonas sexuales el número de receptores de prolactina puede aumentar hasta veinte veces (14).

Durante la lactancia, la oxitocina es secretada en respuesta a la succión del pezón, esto estimula a las células mioepiteliales que se localizan en los alveolos. Las señales viajan por la médula espinal hasta el hipotálamo quien permite la secreción de oxitocina la cual viaja por la sangre hasta las células mioepiteliales. Estas al contraerse crean una presión positiva de 10-20 mmHg, lo que facilita la eyección de leche. Las neuronas del hipotálamo pueden activarse por terminales de centros cerebrales superiores, es por esto que el llanto del niño puede permitir la eyección de leche. Otra función importante de la oxitocina es mantener la multiplicación alveolar necesaria para reponer las células epiteliales que se pierden durante la lactancia (9,11).

Histología

Las características histológicas de la mama corresponden a la de una glándula alveolar. Se encuentra dispuesta en número de 10 a 20

lóbulos, separados entre sí por tejido adiposo y tejido interlobulillar denso. Los lóbulos contienen lobulillos, que a su vez se disponen en alveolos constituyendo porciones secretoras. Estructuralmente se forman de epitelio cilíndrico simple, epitelio glandular, una capa de células mioepiteliales ramificadas y la membrana basal. Cada unidad posee su propio conducto galactóforo, formado de epitelio estratificado plano, que se transforma en epitelio estratificado cilíndrico a nivel de la areola. Las ramificaciones de estos conductos conforman una red interlobulillar excretora de epitelio cilíndrico simple. Cada conducto terminal se divide en múltiples conductillos intralobulillares de epitelio cilíndrico simple bajo. La unión de los lobulillos con los conductos terminales forma la unidad funcional de la glándula mamaria (12).

Todas las estructuras desde los alveolos hasta los lóbulos se encuentran separadas entre sí por tejido conectivo con distintas variaciones de acuerdo a su ubicación. Así, el tejido conectivo interlobulillar tiene fibras colágenas abundantes, pocas células y adipocitos uniloculares, también podemos encontrar en su disposición vasos sanguíneos y linfáticos grandes, que en conjunto forman tejido conectivo denso. En cambio, el tejido conectivo intralobulillar es laxo al tener pocas fibras, una gran cantidad de

proteoglucanos, muchas células y abundantes vasos sanguíneos pequeños (13, 14).

Existen bandas de tejido conectivo denso, denominadas ligamentos de Cooper, las mismas que provienen de una condensación de tejido conectivo, que se denomina fascia profunda de la mama. Estos ligamentos suspensorios, se encuentran mejor desarrollados en la porción superior de la glándula, siendo las estructuras de sostén principal de lóbulos y lobulillos (13,14).

La areola y el pezón están formados por células de músculo liso, que pueden contraerse por estimulación mecánica. Junto a estas células se encuentran tendones elásticos finos ramificados los cuales se encuentran fijados a la dermis y epidermis formando un sistema elástico muscular (12). Alrededor de la aréola se encuentran glándulas odoríferas apócrinas (Glándulas de Montgomery), en su porción secretora poseen células mioepiteliales basales y células epiteliales secretoras. Su porción excretora posee epitelio biestratificado cúbico. También podemos encontrar, glándulas sebáceas pequeñas y sudoríparas, entre ellas melanocitos y queratinocitos (13).

Cambios de la glándula mamaria durante las etapas de desarrollo

Durante la infancia el desarrollo mamario es muy limitado. La mama inmadura tiene conductos y alveolos separados por una capa basal cuboidal y una capa superficial aplanada. En la pubertad, gracias al influjo de varias hormonas como: estrógenos, progesterona, hormonas esteroideas y péptidos como el factor de crecimiento de tipo insulínico 1; se logra un crecimiento adecuado de la glándula mamaria. La progesterona y los estrógenos, promueven el crecimiento y la ramificación del tejido lóbulo-alveolar. Mientras que el crecimiento del tejido estromal y graso, conjuntamente con la proliferación del tejido conectivo periductal, se dan gracias al gran influjo estrogénico. Es necesario que la exposición hormonal sea de carácter cíclico, es decir en primer lugar los estrógenos y luego la progesterona, ya que esta última promueve el crecimiento lóbulo acinar y de tejido conectivo (15).

Los lóbulos mamarios se desarrollan en tres etapas. El tipo 1 o virginal, está constituido por 11 yemas alveolares, limitadas por una bicapa de epitelio, estos se desarrollan justo antes de la menarquia.

El tipo 2 y 3 resultan del brote de nuevas yemas alveolares y predominan en mujeres multíparas y premenopáusicas. Durante el embarazo y la lactancia se observa una modificación de las características anteriores constituyendo el lóbulo tipo 4. Existen 3 tipos de células alveolares, las células A superficiales que se encuentran en la luz, son oscuras y ricas en ribosomas. Las células B o también llamadas células jefe predominan en el epitelio mamario, son claras, con núcleo ovoide sin nucleolo. Por último las células mioepiteliales, son de forma estrellada y poseen miofilamentos, se encuentran alrededor de los alveolos y los conductos excretores, generalmente son estimulados por prolactina y oxitocina (14,15).

Durante la vida fértil la glándula de una mujer que no está embarazada ni amamanta, toma el nombre de mama en reposo. Histológicamente muestra una disposición mayoritaria de tejido conectivo denso interlobulillar. El estroma de la mama en reposo, posee células epiteliales cuboidales y columnares, con citoplasma pálido y núcleos ovalados. Existe una capa externa de células mioepiteliales, ya descrita anteriormente, y un tercer tipo celular denominados células progenitoras o madre, que pueden diferenciarse en epiteliales o mioepiteliales. Por fuera de la capa

mioepitelial, se encuentra la lámina basal, formada de colágeno tipo 4, cuya función es limitar el sistema ductal lobular del estroma. Por fuera de la lámina basal, se encuentran fibroblastos y capilares (12,15).

En las distintas fases del ciclo menstrual, los cambios histológicos se presentan de la siguiente manera:

-Durante la fase folicular temprana, se observa un epitelio con células pequeñas poligonales, sin secreción y carentes de mitosis, además de ausencia de células mioepiteliales. La luz acinar se encuentra cerrada, y el estroma es de tipo denso con fibroblastos grandes.

-En la etapa folicular tardía y en la lútea temprana, el epitelio, tiene 3 tipos de células: basófilas luminales, células intermedias y células mioepiteliales. Sin embargo, se diferencian en que en la primera fase, no existe secreción, mientras que la segunda presenta una leve secreción. Otra diferencia radica en el estroma, en la fase lútea el estroma es laxo mientras que en la folicular tardía es menos celular que en la fase temprana.

-En la fase lútea tardía, encontramos los 3 tipos celulares de la mama adulta, una gran secreción apócrina y un pico de actividad

mitótica. El tejido estromal característico es laxo edematoso y con vasos sanguíneos congestivos.

-Por último, durante la fase menstrual, se observa solo 2 tipos de células, las basófilas y las células mioepiteliales, en las que no se diferencian mitosis y la secreción se encuentra en proceso de reabsorción. (15)

El pezón y la areola están cubiertos por epitelio escamoso estratificado queratinizado. En la capa epidérmica encontramos queratinocitos claros, hacia la dermis del pezón llegan los conductos del sistema ductal mamario, los cuales tienen un estroma con células musculares lisas circulares y longitudinales. El pezón y la areola carecen de unidades pilo-sebáceas y pelos, excepto en la periferia de la areola. (13)

Embarazo y Lactancia

La glándula mamaria humana completa su desarrollo durante el embarazo. En las primeras 3 a 4 semanas del embarazo, existe un aumento en la proliferación de las células epiteliales, ramificación de los ductos y una proliferación excesiva de unidades acinares dentro

de cada lóbulo. Estos cambios ocurren bajo la influencia adicional de las hormonas del embarazo: esteroides del cuerpo lúteo y de la placenta, lactógeno placentario, prolactina y gonadotropina coriónica. (12)

En la quinta a octava semana, hay un crecimiento mamario marcado, dilatación de las venas superficiales y aumento de la pigmentación del pezón y la areola. Durante el segundo trimestre, existe un crecimiento de los lóbulos y unidades acinares por la influencia de la progesterona. Además las células epiteliales, presentan un citoplasma vacuolado secretor. A partir del quinto mes, existe un aumento del tamaño de la glándula mamaria, que no es producto de la hipertrofia de las células epiteliales, si no de la dilatación de los alveolos por la reserva acumulada de calostro y el crecimiento de células mioepiteliales, aumento de tejido conectivo y grasa (16,14).

Al inicio del segundo trimestre, los alvéolos mamarios pierden la capa de células superficiales, la monocapa resultante se diferencia posteriormente en una capa de células de calostro acumulando células plasmáticas, eosinofílicas y leucocitos. En el calostro acumulado dentro de los alveolos, se observan los corpúsculos de Donné, formado por células alveolares fagocíticas descamadas, linfocitos y células redondas (15).

Durante la lactancia, existe una distensión de los acinos lobulares por la secreción acumulada y la vacuolización de las células epiteliales, las cuales tienen un aspecto vulvoso y protruyen a la luz del acino. Se puede visualizar, áreas de infarto.

Una vez que la lactancia ha finalizado, los lóbulos involucionan y regresan a su aspecto normal. Durante este proceso, su contorno es irregular y tienen en su interior linfocitos y células plasmáticas. La secreción de los alvéolos y conductos se reabsorbe en pocos días y estos colapsan. Las células epiteliales, son fagocitadas por los macrófagos del tejido conectivo. El tejido glandular, disminuye poco a poco, mientras que el tejido conectivo y adiposo aumenta.

Luego del cese de los ciclos menstruales existe una involución y atrofia de la unidad lóbulo ductal terminal, disminuye el tamaño y complejidad del acino con pérdida del estroma intralobular. Los conductos se pueden volver ectásicos y el tejido glandular es reemplazado por tejido adiposo y tejido conectivo hialinizado. (13)

El Ciclo celular

El ciclo celular es un conjunto de etapas definidas que experimentan las células en división, ya sea en el interior del cuerpo o en una placa de cultivo. En los organismos unicelulares la división celular sería ya una reproducción, por otro lado en los organismos multicelulares se requieren muchas más secuencias de divisiones celulares para crear un nuevo individuo. Se divide en dos fases: la fase M y la interfase (17).

La primera consta de dos etapas: 1) la mitosis en la cual se producen dos células hijas con igual número de cromosomas que la célula madre y 2) la citocinesis, proceso por el que una célula en división se separa en dos, el citoplasma se divide en dos paquetes celulares. La segunda, conocida como interfase, es un período en el cual la célula experimenta muchos procesos metabólicos y aumenta de tamaño preparándose para ingresar en la mitosis. La interfase consta de 3 etapas: G1, S y G2 (18).

Durante la fase M se llevará a cabo la mitosis en la cual la célula utiliza toda su energía para la separación cromosómica. La mitosis

se divide en cinco etapas: profase, prometafase, metafase, anafase y telofase.

- En la etapa inicial de la profase los cromosomas se compactan gracias a la acción de la condensina. Para que las cromátides hermanas permanezcan unidas también es necesario de otra proteína llama cohesina. Los centrosomas se separan entre si y forman el huso mitótico. Al final de la profase sucede la rotura de la envoltura nuclear lo que posibilita la interacción entre cromosomas – huso mitótico, de manera que cada neo célula reciba la mitad del original (19).
- La prometafase inicia cuando desaparece la envoltura nuclear y los microtúbulos inician la búsqueda del cromosoma al cual se unirán por medio del cinetocoro, una cromátide conectada con los microtúbulos de un polo y la otra cromátide con los del polo contrario. Mediante el proceso de congresión los cromosomas se mueven hacia el centro del huso mitótico (17,19).
- Durante la metafase los cromosomas se alinean en el medio formando la placa de metafase, los microtúbulos se encuentran en estado dinámico pues se incorporan y se pierden subunidades.

Entre esta fase y la siguiente se encuentra un punto de verificación del proceso del ciclo celular, el objetivo es verificar que todos los cromosomas se alineen en la placa de metafase. Cuando un cinetocoro no está unido se expresan las "Proteínas de detención mitótica deficiente 2" (Mad2) que envían una señal de "stop".

Otra anomalía cromosómica puede suceder cuando los dos cinetocoros de las cromátides hermanas se unen a los microtúbulos del mismo lado, lo que se conoce como adherencia sintética. En muchas ocasiones esta falla es detectada por la célula al haber falta de tensión en los cinetocoros al tirar de ellos (20).

- La anafase inicia cuando las cromátides hermanas se separan y migran hacia su respectivo polo. El complejo promotor de la anafase (APC), ocasiona la destrucción de la securina y la liberación de la separasa. Esta proteasa actúa sobre la molécula de cohesina y produce la fragmentación de las cromátides hermanas y su migración hacia los polos opuestos.
- En la etapa final o telofase termina la migración de los cromosomas hijos a su polo correspondiente, el huso mitótico desaparece,

reaparece la membrana nuclear y los cromosomas se desenrollan, posteriormente comienza la citocinesis (17).

La citocinesis, segunda etapa de la fase M, muestra su primer indicio en la anafase pues se forma una indentación en la superficie celular a la altura de la placa ecuatorial. Este surco se profundiza progresivamente. La teoría del anillo contráctil postula que la fuerza para dividir la célula se logra por la presencia de una banda de citoplasma junto a miosina y actina.

La interfase comienza con la fase G1 que inicia con el final de la mitosis hasta que se duplica el ADN. Es un período de crecimiento general y de formación de orgánulos citoplasmáticos. En esta etapa se sintetizan numerosas proteínas necesarias para el crecimiento. Su duración es muy variable, depende del tipo celular. En esta etapa se localiza el punto R o punto de no retorno, una vez que la célula lo alcanza no puede dar marcha atrás y tiene que continuar el proceso. Algunas células durante la fase G1 entran en un estado de reposo especial, llamado fase G0, en él pueden permanecer días, semanas o años, algunas células muy especializadas (neuronas, fibras musculares) permanecen en esta fase de forma indefinida, a estas células se las denomina quiescentes (19).

Durante la fase S se duplica el ADN e igualmente se sintetizan las proteínas histonas con las que el ADN se asocia. Por lo tanto cada cromosoma se duplica formándose las dos cromátidas que se mantendrán unidas por el centrómero, su tiempo de duración es de 9 horas.

Antes de la mitosis sucede la fase G2. Esta fase dura 4 horas y en ella la célula se prepara para la división, en esta fase se transcriben y traducen ciertos genes que codifican proteínas necesarias para la división, se duplican los centriolos (17).

Control del ciclo celular

El control del Ciclo Celular se lleva a cabo gracias a un conjunto de proteínas que trabajan conjuntamente para evitar errores durante el proceso. El sistema de control del ciclo celular está basado en dos familias claves de proteínas. La primera es la familia de las proteínas cinasas dependientes de ciclinas (cdc, en humanos p34), las cuales sufren fosforilación sobre sus aminoácidos (serinas y treoninas). La segunda familia son las ciclinas (cdc, en humanos p45) las cuales son de dos tipos: las primeras llamadas "mitóticas" que se unen a las cdc y controlan sus reacciones de fosforilación. Otro tipo de ciclinas son las G1, las cuales se unen a las cinasas durante G1 e

inducen el paso de esta a fase S. Este es el primer punto de transición y se los conoce como START, una vez que se pasó este punto, la célula irrevocablemente replicará su DNA. Estas dos familias de proteínas forman FPM (factor promotor de maduración) que inicia la Fase M (18).

El inicio de la mitosis necesita de un proceso que inicia con la fosforilación de un residuo treonina por una cinasa (CAK), otra cinasa (Wee1) fosforila la tirosina, esto sucede en las células normales manteniendo inactiva a la kdc hasta el final de la G2. Al final de G2 una fosfatasa Cdc25 elimina un fosfato y cambia el complejo ciclina-kdc al estado activo (19).

También existen inhibidores del proceso, entre ellos encontramos la degradación por la vía ubiquitina-proteasoma. Existen dos complejos que actúan como ligasas de ubiquitinas pues reconocen las proteínas que es necesario destruir y las unen a cadenas de ubiquitina. El complejo SCF media la destrucción de ciclinas G1, inhibidores de kdc y otras proteínas y el complejo APC actúa en la mitosis degradando varias proteínas claves, otro posible inhibidor es la proteína Sic1 que inhibe a las kdc durante G1 (19).

Otro mecanismo de inhibición es el bloqueo de la acumulación nuclear de ciclina, este acopio se produce por las fosforilaciones de los residuos serínicos evitando que la ciclina vuelva al citoplasma.

Cuando el DNA está dañado, existen complejos que se pueden unir para fosforilar a varias proteínas que intervienen en la reparación y verificación. Una de estos complejos es el ATR, que detiene el ciclo en G2. Esta cinasa fosforila en el punto Chk1, que fosforila CDC 25 lo que la convierte en receptora de una proteína adaptadora que la inhibe y por lo tanto no puede entrar en el núcleo (17,19).

Cuando hay alguna rotura de DNA, el complejo proteínico formado por las molécula MRE11, RAD50 Y NBS1 (MRN) recluta al "Complejo mutado ataxia-telangiectasia ATM que fosforila y activa a la Chk2, la cual fosforila un factor de transcripción p53 que transcribe el gen p21 y por lo tanto inhibe las kdc. El 50% de tumores muestra indicios de mutaciones en el gen que codifica p53. Si no se logra reparar la lesión del DNA, la proteínas p53 inducirá la activación de genes promotores de la apoptosis como lo son el bax y el IGF-BP3 (18,19).

En el proceso celular neoplásico, existen 2 alteraciones fundamentales: la falla en el proceso de inhibición (genes supresores

tumorales) y el exceso de proliferación (oncogenes). Estas proteínas supresoras, forman un sistema organizado de control, que identifican las alteraciones celulares impidiendo el proceso de proliferación celular.

El gen TP53 que origina la proteína p53 se localiza en el cromosoma 17 p13.1. La importancia de este gen radica, en que alrededor de 50% de los carcinomas más importantes (pulmón, colon y mama) contienen alguna alteración genética. Este gen produce la proteína p53, que es un factor de transcripción que a su vez, activa otros genes que intervienen en el ciclo, celular y la apoptosis (21). La vida media del p53 es de 20 minutos, debido a que se une al regulador negativo "Murine Doble Minute" (MDM2). Cuando el ADN celular sufre un daño, el p53, se libera del MDM2 (23). La mayoría de las mutaciones son adquiridas, sin embargo, existe un pequeño porcentaje de alteraciones heredadas que aumentan en 25 veces más la probabilidad de presentar carcinomas. Además la función del p53 puede ser inactivada, por la expresión de otros genes que regulan indirectamente la función de esta proteína, ocasionando su degradación, incluso la exposición a agentes virales podría causar daños irreparables. Generalmente, estas mutaciones se dan en el dominio de unión al ADN de la proteína.

En condiciones normales, el p53 impide la formación y multiplicación de células neoplásicas a través de 3 funciones principales: quiescencia (estado de latencia del ciclo celular), senescencia (estado terminal en el que la célula concluye su división luego de alcanzar su capacidad limitada de divisiones) y apoptosis (muerte celular programada). Este proceso, se da de la siguiente manera, al existir un daño del DNA aumenta la expresión del p53 que incrementa la síntesis de inhibidores de las cinasas - dependientes de ciclinas (p21). Esta última inactiva los complejos cinasa dependiente de ciclinas, lo que ocasiona una detención de la célula en la fase G1/S. Al detenerse en este punto, existe la posibilidad de corregir las mutaciones en el material genético y reiniciar el ciclo o entrar en apoptosis. El p53 también interviene en la síntesis del "Factor de detención del crecimiento y daño del ADN" (GADD45), que regula la reparación del ADN.

Si el daño celular es superado mediante la reparación, el p53 regula la síntesis de MDM2 y por lo tanto su autodestrucción.

Cuando existe un daño celular importante, el p53 induce un estado de detención permanente o senescencia. Para llevar a cabo este proceso, se requiere de la activación de mediadores del ciclo celular como los inhibidores de CDK y en algunos casos la expresión

permanente del p53. Estos cambios incluyen procesos epigenéticos, que involucran la inclusión de heterocromatina en distintos sitios del loci.

Cuando el daño celular es irreversible y se han agotado todos los mecanismos de reparación de material genético, el p53 induce la producción de genes proapoptóticos como: el Bcl-2 asociado a la proteína X (BAX) y el regulador positivo de la apoptosis (PUMA).

Por otro lado, dentro de los factores de proliferación encontramos la proteína KI67 que proviene del gen MKI67, localizado en el cromosoma 10q25-qter. Es un anticuerpo específico de un antígeno nuclear que se expresa en las células en proliferación tanto normales como anormales, pero no las que se encuentran en fase G0 (1).

La expresión del KI67 oscila durante el ciclo celular, no se expresa en G0, ni en la etapa temprana de G1. Comienza su expresión en G1, aumenta durante la fase S y alcanza su pico máximo en la metafase, mientras que en anafase y telofase su función decrece. La localización del KI67 dentro de la célula varía de acuerdo a las diferentes fases del ciclo celular. Durante la mitosis el Ki67, previamente localizado en el nucleoplasma finalmente se entrelaza

con la cromatina para formar parte de capa pericromosomal de los cromosomas mitóticos, junto a proteínas de la matriz celular, proteínas nucleolares, proteínas ribosomales y RNA nuclear pequeño (24).

Cuando la célula ha cumplido su fase de división, la expresión de KI67 disminuye y con ella su tasa de proliferación. Sin embargo, en las células que sufren depleción total del KI67, existen cambios drásticos en la morfología nuclear posterior al proceso mitótico, que conllevan un aumento de la apoptosis.

Otra función del KI67 es intervenir en las primeras etapas de síntesis del RNA ribosomal y por lo tanto permitir la formación de distintas clases de proteínas necesarias para la célula. Durante la mitosis el KI67, estabiliza la formación del huso mitótico, mediante el reclutamiento de la "Proteína humana similar a quinesina 2" (Hk1p2) que actúa ensamblando y manteniendo la bipolaridad del huso (25). La localización cromosomal se encuentra completamente abolida en células que tienen el KI67 silenciado.

El KI67 está relacionado con los parámetros histopatológicos del carcinoma de la glándula mamaria. Los estadios avanzados y la

extensión ganglionar están relacionados con altos porcentajes de expresión, esta misma relación se observa en carcinomas metastásicos en relación con tumores primarios.

El Ki67, también es utilizado para medir la respuesta a tratamientos coadyuvantes. Por lo tanto, su utilidad radica en la determinación del pronóstico de determinados tratamientos, así, por ejemplo niveles altos de este marcador indican una mejor respuesta a la quimioterapia (26).

La expresión del Ki67, es inversamente proporcional a la expresión de los receptores de estrógenos (HER2-negativos). Por este motivo, pacientes que presentan porcentajes elevados de Ki67, no serían tributarias para recibir tratamiento hormonal.

De acuerdo, al último consenso realizado en el 2013 (St Gallen Consensus), se clasificó a los estadios tempranos de carcinoma mamario en tumores tipo luminal A Y luminal B (HER2-negativos), según el porcentaje de Ki67, este punto de corte, se estableció entre 20 y 25%. Los tumores tipo luminal A se benefician de un tratamiento adyuvante endócrino y los tipos luminal B, de quimioterapia adyuvante.

Existe una asociación entre la expresión de Ki67, el riesgo de recidiva de enfermedad, la disminución de la supervivencia libre de enfermedad y la disminución de la supervivencia global.

Características de las neoplasias

Los procesos patológicos neoplásicos están asociados a una proliferación anormal debido a las alteraciones genéticas que se transmiten a las nuevas generaciones celulares neoplásicas (21). Así, las neoplasias pueden ser diferenciadas entre benignas y malignas, estas últimas se caracterizan por ser irreversibles y tener un crecimiento independiente de los estímulos fisiológicos.

El proceso neoplásico puede afectar al parénquima y estroma de los tejido de los órganos. La neoplasia que afecta al parénquima está formado por células neoplásicas clonales (poblaciones celulares que se originan a partir de una célula genéticamente alterada), las mismas que determinan el comportamiento de la neoplasia así como del estroma (tejido conjuntivo, vasos sanguíneos, macrófagos y linfocitos), las cuales determinan su crecimiento y evolución posterior.

Existen características que permiten diferenciar las neoplasias benignas de las malignas: diferenciación/anaplasia, tasa de crecimiento tumoral, invasión y metástasis, siendo estas últimas características de las neoplasias malignas.

Para nombrar las neoplasias malignas y benignas se emplea una nomenclatura especial donde se establece si el proceso neoplásico afecta al componente epitelial o estromal. Así tenemos que en neoplasias benignas se usa el sufijo OMA cuando el tumor es de células mesenquimatosas, por otro lado cuando los tumores están compuestos de células epiteliales pueden ser: adenoma (de origen glandular), papilomas (con proyecciones digitiformes o verrugosas) y cistoadenomas (masas quísticas).

A diferencia de las anteriores, las neoplasias malignas se caracterizan por su capacidad de invasión y diseminación (metástasis). Los tumores malignos de origen mesenquimatoso se denominan sarcomas y los de origen epitelial superficial carcinomas y de provenir de epitelios glandulares reciben el nombre de adenocarcinomas.

La diferenciación “se refiere al grado en que las células parenquimatosas neoplásicas, se asemejan a las células parenquimatosas normales” (21). Generalmente, los tumores benignos son bien diferenciados, mientras que las neoplasias malignas son indiferenciadas o anaplásicas. Considerando las características morfológicas, las células anaplásicas presentan pleomorfismo celular y nuclear anormal, presencia de figuras mitóticas anormales y pérdida de polaridad del núcleo. El pleomorfismo hace referencia a los cambios en forma y tamaño de las células y los núcleos, esto último se asocia a cambios en el color y la cantidad de cromatina nuclear. Por lo tanto, los núcleos toman un color más oscuro (hipercromático) y su tamaño aumenta, lo que da como resultado una relación núcleo citoplasma 1:1, a diferencia de la relación normal 1: 4 o 1:6. En ocasiones se aprecia nucléolos y estos también aumentan de tamaño (22). Las mitosis en células neoplásicas son frecuentes, atípicas y numerosas. Así, la división celular pierde la organización habitual, tomando formas anárquicas que involucran husos mitóticos tripolares, cuadripolares o multipolares, incluso, con pérdida de polaridad normal. Sin embargo, se debe considerar también que existen muchos tejidos normales, que presentan recambios celulares rápidos.

Los procesos previamente expuestos provocan una proliferación desorganizada alterando la estructura normal de parénquima y estroma de los tejidos, lo que se conoce con el nombre de displasia; lo cual se aprecia en particular en la estructura de los epitelios de los órganos. Así, cuando los cambios displásicos afectan a todo el espesor del epitelio, aparece un proceso neoplásico maligno que se define como carcinoma *in situ*, y cuando sobrepasa la membrana basal se inicia el proceso invasivo neoplásico. Las displasias leves o moderadas pueden ser reversibles cuando se elimina el posible agente causal que originó la alteración celular.

Una característica importante en la proliferación celular es la velocidad con la que esta se lleva a cabo. Para que una masa se clínicamente visible, es necesario que hayan al menos 30 duplicaciones de la población, pero para que esta misma masa alcance el mínimo tamaño compatible con la vida, sólo se requiere 10 ciclos de duplicación más, lo que nos lleva a destacar la importancia de la detección precoz. Esta velocidad se determina por 3 factores: el tiempo de duplicación de las células tumorales (que en ocasiones suele ser igual, que el tiempo de las células normales), la fracción de crecimiento, la velocidad de apoptosis.

La fracción de crecimiento se define como el número de células tumorales que están en el fondo común replicativo y que se encuentran en proceso de división. En estadios iniciales del cáncer, la mayoría de células se encuentran en este fondo, pero a medida que avanza la enfermedad dejan este espacio. En los tumores de lento crecimiento el porcentaje que se encuentra en el fondo es menor, pero la respuesta al tratamiento es baja pues los fármacos antineoplásicos actúan en las células en división. Por otra parte, las neoplasias que presentan un gran fondo común responden bien al tratamiento quimioterápico pero su crecimiento es rápido. Existen factores que determinan la velocidad de crecimiento entre ellos encontramos: la estimulación hormonal y la adecuada irrigación sanguínea (21).

Los tumores benignos permanecen localizados en su lugar de origen, por lo tanto, no tiene la capacidad de infiltrar, invadir o metastatizar, por lo que desarrollan una cápsula fibrosa que les da las características de ser limitados, fácilmente palpables y móviles. La mayoría de tumores malignos están poco delimitados, lo que impide en la mayoría de los casos, su resección quirúrgica.

Las metástasis son implantes tumorales sin continuidad con el tumor primario, esta característica es propia de la malignidad. La mayoría de los tumores malignos metastatizan, excepto los gliomas y los carcinomas de células basales. Las vías de diseminación de los cánceres son las siguientes: extensión hematológica, siembra directa y extensión linfática.

Las metástasis hematológicas son típicas de los sarcomas. Las células malignas invaden normalmente capilares y vénulas, mientras que las arterias por tener un endotelio más grueso son más resistentes. Sin embargo, existen tres formas para que la diseminación arterial se produzca: la primera es que las células tumorales pasen a través de los lechos pulmonares capilares, la otra depende de las derivaciones arteriovenosas pulmonares y en último caso cuando las metástasis pulmonares forman émbolos pulmonares. La invasión venosa, depende de la dirección que toma el flujo venoso de la neoplasia primaria. Por este motivo, todo el drenaje abdominal, del área porta desemboca en el hígado, mientras que las venas cavas superior e inferior desembocan en los pulmones. No obstante, algunas células tumorales pueden sobrevivir el paso a la microcirculación pulmonar y alcanzar el cerebro y los huesos. No siempre la anatomía y las vías naturales de drenaje determinan el lugar de metástasis, por ejemplo

en el cáncer de mama cuya diseminación preferente es el hueso. El segundo tipo de metástasis se refiere a la inoculación en cavidades, esto ocurre cuando las células malignas penetran en una cavidad sin límites demarcados completamente, esto ocurre en el peritoneo, cavidad pleural, pericárdica, etc. Este tipo de metástasis encontramos en el cáncer de ovario.

La diseminación linfática es la más frecuente forma de metástasis de los carcinomas. A pesar de que los tumores no poseen sus propios conductos linfáticos, son suficientes los vasos que se encuentran alrededor de los mismos para producir la diseminación. Los carcinomas de mama súperoexternos se diseminan primero a los ganglios linfáticos axilares y los ubicados en cuadrantes internos drenan a los ganglios infra y supraclaviculares a través de las arterias mamarias internas. Para evitar la extracción completa de todos los ganglios es necesario realizar biopsia del ganglio centinela o corte intraoperatorio. Este ganglio es el primero de un colector linfático regional que recibe el flujo linfático del tumor primario y su detección es clave para el manejo individualizado de cada tumor.

Clasificación de la patología mamaria

El estudio de todas las características tumorales antes mencionadas, es necesario para comprender los sistemas de clasificación de la patología mamaria. Los más utilizados son: la Clasificación Patológica de los Tumores y la Clasificación Clínica TNM.

- Cáncer no invasivo In Situ (Intraepitelial), se clasifica en dos: Cáncer lobulillar y Cáncer ductal
- Cáncer invasivo o infiltrante: Carcinoma Ductal , Carcinoma Tubular, Carcinoma lobulillar(originado en los lobulillos), Carcinoma Papilar , Carcinoma Medular, Carcinoma con Metaplasia, Carcinoma escamoso, Carcinoma Mucinoso, Carcinoma Apocrino, Carcinoma de Células Pequeñas en Avena , Carcinoma Secretor . (Rosen, PP;2009).
- Clasificación TNM, se basa en el tamaño del tumor (T), si el tumor se ha diseminado a los ganglios linfáticos (N), y si el tumor se ha metastatizado (M).

TABLA 2. Clasificación TNM del Cáncer Mamario

<p>T= Tumor</p> <p>Tx: Tumor desconocido</p> <p>To: Sin evidencias de tumor primario</p> <p>Tis: Carcinoma in situ</p> <p>T1: Tumor de 2cm o menos en su diámetro mayor</p> <p> T1 mic: microinvasión menor de 0,5 cm en su diámetro mayor.</p> <p> T1a: Tumor de 0,5 cm o menos</p> <p> T1b: Tumor mayor de 0,5 cm y hasta 1 cm</p> <p> T1c: Tumor mayor de 1 cm y hasta 2cm</p> <p>T2: Tumor mayor de 2 cm y hasta 5 cm</p> <p>T3: Tumor mayor de 5 cm</p> <p>T4: Tumor de cualquier tamaño con extensión a pared torácica o a piel</p> <p> T4a: Extensión a pared torácica</p> <p> T4b: Piel con edema, ulceración o nódulos satélites en la mama</p> <p> T4c: suma de a+b</p> <p> T4d: Cáncer inflamatorio</p>
<p>N= Linfonodos regionales</p> <p>Nx: No pueden ser evaluados por falta de datos</p> <p>N0 : Ausencia de adenopatías palpables</p>

N1 : Metástasis axilares homolaterales móviles palpables

N2 : Metástasis axilares homolaterales fijas o metástasis en mamaria interna homolaterales detectables por imágenes (salvo linfocintigrafía) 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; o 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

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.

TABLA 3. Estadíos Tumorales

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, N2	M0
Estadio III B		
T4	N0, N1, N2	M0
Estadio III C		
Cualquier T	N3	M0
Estadio IV		
Cualquier T	Cualquier N	M1
T* incluye T1mic		

Rosen, PP. (2001). Patología Mamaria de Rosen. Estados Unidos: AMDLCA.

Origen Molecular del Cáncer

El proceso de carcinogénesis se desencadena por distintos estímulos (ambientales, hereditarios, espontáneos y aleatorios) que generan daño genético. Cuando se producen variaciones en la secuencia del

ADN que no se relacionan con enfermedades conocidas, se denominan polimorfismos, por otro lado si estos cambios contribuyen a la enfermedad se conocen como mutaciones. Si se originan mutaciones en suficiente cantidad para escapar del control de los mecanismos de proliferación celular, se produce la invasión local y por último la diseminación. El daño genético está dirigido hacia cuatro tipos de genes: los protooncogenes, encargados de promover el crecimiento y proporcionar cambios exagerados de las funciones celulares; los genes supresores tumorales, encargados de inhibir el crecimiento mediante la pérdida de la función, cuando este proceso se da en un solo alelo se llama haploinsuficiencia; los genes que regulan la muerte celular programada y por último los genes encargados de la reparación del ADN, actúan indirectamente en la carcinogénesis al no permitir el reconocimiento y reparación del daño genético de otros genes. Todas estas alteraciones genéticas aceleradas conforman un fenotipo mutador. La primera mutación que inicia el proceso de malignidad se conoce como iniciadora, la cual necesita de múltiples mutaciones conductoras para producir una transformación. También existen mutaciones pasajeras que generan una inestabilidad genómica y aumentan la probabilidad de contraer mutaciones conductoras.

Todas las neoplasias poseen ocho cambios fundamentales en la fisiología celular, que determinan su comportamiento. La primera es la autosuficiencia en las señales de crecimiento, controlada por los oncogenes (protooncogenes mutados), cuya función es promover el crecimiento celular en ausencia de señales de crecimiento normales. Los productos de estos genes no tendrán los elementos reguladores interno, por lo que el crecimiento celular se vuelve autónomo, libre de puntos de control y de la dependencia de señales externas.

La proliferación celular normal consta de los siguientes pasos: unión de un factor de crecimiento a su receptor específico, activación de factores de crecimiento que activan proteínas transductoras de señal, las mismas que son transducidas desde el citosol al núcleo mediante segundos mensajeros o por cascadas de transducción de señal, inducción y activación de factores reguladores nucleares que inician la transcripción del ADN , lo que le permite a la célula entrar en ciclo celular y por tanto dividirse.

Los protooncogenes darán origen a distintos tipos de proteínas que regulan la proliferación celular, entre los que encontramos: factores de crecimiento y sus receptores, proteínas transductores de señal, oncogen RAS, factores de transcripción el oncogen MYC, las ciclinas y

cinastas dependientes de ciclinas. Así, los factores de crecimiento en las células normales tienen una acción parácrina al actuar sobre las células vecinas. Por otro lado las células neoplásicas sintetizan factores con acción autócrina, que actúan sobre la misma célula.

En condiciones normales, los receptores de factores de crecimiento se activan transitoriamente con la posterior dimerización del receptor; en su variante oncogénica estos procesos son constitutivos sin unión a un factor. Esta activación responde a mutaciones, redistribuciones genéticas y sobreexpresión.

Dentro de las proteínas transductoras de señal, la más estudiada es la familia RAS, cuyo daño genético es la anomalía más frecuente de los protooncogenes en neoplasias humanas. En células neoplásicas esta proteína permanece activa, provocando una estimulación continua de la vía MAP cinasa y por lo tanto transmite señales de crecimiento.

Otra vía para mantener una activación continua, son las alteraciones de tiroxinas cinastas sin receptor, las cuales se forman a partir de translocaciones o reordenamientos cromosómicos.

Las alteraciones de los factores de transcripción, cuya función es unirse al ADN y permitir la transcripción de genes, pueden producir una unión indefinida. Un ejemplo de factor de transcripción es el protooncogen MYC (oncogen de la mielocitomatosis), el que se encarga de la acetilación de histonas, reducción de la adhesión celular, aumento de la motilidad celular, aumento de la actividad telomerasa, aumento de la síntesis de proteínas, disminución de la actividad proteinasa, todos estos procesos favorecen a una mayor división celular.

La progresión a través del ciclo celular está dirigida por las cinasas dependientes de ciclinas, que aparecen y desaparecen durante las fases del ciclo. Existen 15 tipos de ciclinas, las más importantes son las D, E, A, I, B. Las alteraciones en la expresión de la ciclina D, se observa en las siguientes neoplasias: mama, hígado y esófago. También encontramos una variante de inhibición de las ciclinas (CDKI), que se encargan de impedir el progreso del ciclo celular.

Otro cambio fundamental en la fisiología celular es la mutación en los antioncogenes (genes encargados de la inhibición tumoral), cuyo objetivo es controlar negativamente el crecimiento celular, deteniendo la formación de neoplasias. (22) A nivel molecular, se

requiere el daño en ambos alelos para que se desarrolle un proceso tumoral, constituyendo un proceso autosómico dominante. Entre los genes de supresión celular más estudiados, encontramos el gen del retinoblastoma (Rb) y el gen p53 que ya ha sido abordado en este estudio. (21) La proteína resultante del gen Rb es la encargada de frenar el paso de la fase G1 a S en el ciclo celular mediante 2 mecanismos. En primer lugar esta proteína en su estado hipofosforilado se une a los factores de transcripción de la familia E2F (proveniente del complejo ECDK-2), impidiendo la transcripción de la ciclina E y por lo tanto bloquea la transcripción. El otro mecanismo, involucra la acción del Rb para incorporar enzimas que al unirse a la cromatina cambian su forma inhibiendo el paso a la siguiente fase del ciclo celular. (17) (21).

El tercer cambio fundamental se refiere a las alteraciones metabólicas, entre las que podemos mencionar el efecto "Warburg" que se caracteriza por la capacidad de las células neoplásicas para captar gran cantidad de glucosa y transformarla en lactosa por una vía alterna glucolítica. A pesar de que esta vía solo proporciona dos moléculas de ATP, tiene la capacidad de proporcionar otros metabolitos necesarios para la célula neoplásica. Esta sustitución de la vía oxidativa tradicional, es el resultado de las alteraciones en los

protooncogenes. Este proceso se encuentra normalmente en células no neoplásicas de crecimiento rápido, pero se autolimita al término del desarrollo. Sin embargo, en las células neoplásicas persiste indefinidamente. (21) Además encontramos la autofagia (proceso celular fisiológico) que es el estado en el que la célula se autodigiere para no detener su crecimiento cuando no posee los nutrientes necesarios, si a pesar de esto no logra sobrevivir ocurre la muerte celular. Las células neoplásicas, pueden adaptarse a condiciones precarias, sin necesidad de recurrir a este mecanismo.

La apoptosis, mecanismo indispensable para la proliferación celular controlada también se ve afectado en las neoplasias. La vía que con mayor frecuencia se altera es la intrínseca, la misma que inicia con la activación del p53 (gen proapoptótico anteriormente mencionado), y que en procesos neoplásicos presenta pérdida de su función. Otro de los mecanismos alterados, es la sobreexpresión del factor antiapoptótico Bcl2 (Linfoma de células B 2) que conduce a la inhibición de la muerte celular programada, en la mayoría de los casos esto se debe a una translocación en la cadena pesada de esta inmunoglobulina. Como resultado de esta alteración, existe una disminución en la salida de citocromo C, elemento importante para la activación del Factor Proteico Activador de las caspasas (APAF-1)

que normalmente se encarga de la activación de la caspasa 9, caspasa 3, que altera las cadenas de ADN causando la muerte celular (21). Otra alteración que se da en la vía intrínseca, es el aumento de los inhibidores de la apoptosis (IAP) cuya función es frenar la actividad de las caspasas.

Por otro lado la vía extrínseca, es la menos afectada en los procesos neoplásicos. Cuando está alterada inhibe la apoptosis mediante la disminución de la primera señal de apoptosis/CD95 (CD95/FAS) y mediante la inactivación del dominio de muerte asociado a FAS (FADD) (27).

La inmortalidad de las células neoplásicas se debe a la proliferación ilimitada que adquieren mediante 3 mecanismos: capacidad de autoregeneración, evasión de la senescencia y evasión de las crisis mitóticas. La autoregeneración es el proceso mediante el cual cada vez que la célula madre se divide por lo menos una de las dos células hijas sigue siendo una célula madre. Cuando las dos células hijas mantienen las propiedades de la célula madre se denomina división simétrica. En cambio, cuando solo una de las células hijas continúa siendo célula madre lleva el nombre de división asimétrica (21).

La senescencia se define como la pérdida de la capacidad de cada célula para continuar el ciclo mitótico una vez que ha alcanzado el número máximo de divisiones programadas, los agentes reguladores de este proceso son Rb y p53. Las células neoplásicas evaden este proceso fisiológico.

Las células neoplásicas pueden evadir la crisis mitótica debido a que no poseen un p53 funcional que se encargue de llevar a la célula a la senescencia. Estas células, continúan con un proceso de reparación no exitoso que termina en muerte celular. Sin embargo, en la mayoría de células neoplásicas se observa altos niveles de telomerasa otorgándoles la capacidad de sobrevivir esta crisis mediante el acoplamiento de ácidos nucleicos a los extremos de ADN. Lamentablemente existirá una población celular defectuosa (22).

Otra propiedad fisiológica indispensable para el desarrollo de neoplasias es la angiogenia. Cada tumor estimula la formación de nuevos vasos a partir de los ya existentes, con lo que se logra una perfusión adecuada y por otro lado estimula la liberación de factores de crecimiento. El p53 estimula la expresión de trombospondina 1 (molécula antiangiogénica), en células neoplásicas el p53 no produce

este tipo de moléculas que inhiben a los genes proangiogénicos como el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) (21).

El proceso de metástasis y diseminación constituye una de las propiedades neoplásicas más importantes. Este proceso se compone de 2 fases: invasión de la matriz extracelular y diseminación vascular, alojamiento de células tumorales y colonización. La invasión de la matriz celular se lleva a cabo en cuatro etapas, la primera es la separación entre células tumorales por la alteración de las moléculas de adhesión (caderinas E), esto permite que las células migren de sus localizaciones primarias a lugares vecinos.

La segunda etapa es la degradación de la matriz extracelular por medio de proteasas (metaloproteinasas matriciales MMP, catepsina D, activador del plasminógeno) que además de remodelar componentes de la membrana y la matriz intersticial, generarán factores de crecimiento, además en esta etapa se reclutan células inflamatorias que cumplen la misma función. Posteriormente, las células neoplásicas desarrollan mecanismos de adhesión a la matriz extracelular en los sitios de unión generados por la degradación proteica, promoviendo la invasión y la metástasis.

El proceso finaliza con la migración de las células neoplásicas gracias a su citoesqueleto de actina el cual es estimulado por diversos factores de motilidad producidos por la propia célula. Existen factores quimiotácticos que junto con los componentes estromales (fibroblastos, proteasas, factores de crecimiento, células inmunitarias) interactúan y favorecen la locomoción.

Las células neoplásicas necesitan vencer muchos mecanismos de defensa que se encuentran en la circulación como: la tensión mecánica, la apoptosis por pérdida de adhesión y la inmunidad propia del huésped. Uno de los mecanismos de protección es la adhesión a plaquetas y la formación de émbolos mediante la unión a factores de coagulación. El CD44 (ubicado en células tumorales) juega un papel fundamental en la migración hacia los nódulos linfáticos.

El sitio de propagación de las células tumorales depende de los ligandos expresados por los órganos preferentes de cada neoplasia, quimiocinas y receptores correspondientes.

Todo individuo posee una vigilancia inmunitaria que se caracteriza por examinar en diferentes momentos las células del organismo, con

el fin de detectar anomalías. La evasión a esta defensa es la última propiedad de todas las neoplasias, mediante los siguientes mecanismos: la proliferación de células tumorales que no expresan antígenos o los expresan de forma discreta, disminución de la expresión de moléculas del complejo de inmunohistocompatibilidad, la activación de las vías inmunoreguladoras, secreción de factores inmunodepresores y la inducción de linfocitos T reguladores.

Una forma de inhibir la inmunidad humoral es disminuyendo los factores que intervienen en la presentación de antígenos, estimulando el receptor inhibitor del antígeno 4 del linfocito B citotóxico (CTLA4), lo que mantiene al tumor en estadio refractario y evita el proceso de sensibilización, mediado normalmente por las células dendríticas.

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

Problema de Investigación

Una de las patologías ginecológicas con mayor prevalencia e incidencia en el mundo occidental es el carcinoma de glándula mamaria. Las cifras mundiales reflejan la creciente necesidad de destinar mayores recursos para el diagnóstico precoz de esta enfermedad pues a pesar de los avances científicos y terapéuticos, el 25% de las pacientes con esta neoplasia fallecen.

Por lo antes propuesto, es fundamental desarrollar terapias personalizadas dependiendo de las variadas características del tumor que hoy se conocen, lo que permite alcanzar una mayor efectividad en el tratamiento e indirectamente mejorar la expectativa de vida en la población afectada. Para lograr este objetivo es imperativo conocer la biología molecular del carcinoma de la glándula mamaria que incluye la participación de oncogenes y oncosupresores.

Además, muchas neoplasias curiosamente muestran una expresión de los factores de proliferación y supresión celular mutados de forma simultánea, por ello hemos analizado las características de evolución del carcinoma invasor de mama, donde se busquen marcadores representativos de ambos grupos que el personal médico inicial pueda interpretar con facilidad y destreza.

Por lo que nos realizamos la siguiente interrogante específica:

¿Cuál es el grado de Concordancia entre la expresión del Ki67 y el p53 por Inmunohistoquímica, en pacientes con diagnóstico de carcinoma invasor de mama en el Hospital Carlos Andrade Marín?

Objetivos

Objetivo General

- Establecer el grado de concordancia entre la expresión del marcador de proliferación celular Ki67 con el oncosupresor p53 mutados en pacientes femeninas con diagnóstico de carcinoma invasor de mama en el Servicio de patología del HCAM (Hospital Carlos Andrade Marín) período febrero 2014- febrero 2015.

Objetivos Específicos

- Determinar el grado de expresión del Ki67 y p53, en pacientes femeninas con diagnóstico de carcinoma invasor de mama.
- Determinar el rango de edad de las pacientes con diagnóstico de carcinoma invasor de mama.
- Determinar el tipo y grado de diferenciación tumoral del carcinoma invasor de mama predominante

Hipótesis

Existe concordancia de expresión entre el marcador de proliferación celular Ki67 y oncosupresor p53 mutados en pacientes femeninas con diagnóstico de carcinoma invasor de mama en el Servicio de patología del HCAM , periodo febrero 2014- febrero 2015.

Operacionalización de Variables

TABLA 4 : Operacionalización de las Variables

Variable	Tipo de variable	Definición	Indicador	Escala
Edad	Moderador a	Tiempo transcurrido a partir del nacimiento de un individuo	HCL	20 – 35 36 – 50 Mayores de 51
Tratamiento asociado	Moderador a	Conjunto de medios que se aplican para curar o aliviar una enfermedad a una persona conjuntamente a otros que persiguen el mismo objetivo	Tto quirúrgico Tto quimioterapico	Si ____ No ____ Si ____ No ____
Estadía de la lesión tumoral	Moderador a	Método de evaluación que mide la extensión del tumor	Escala TNM	Tumor Nódulos linfáticos regionales Metástasis Distantes
Tipo de tumor	Independiente	Tipos histopatológicos de las neoplasias mamarias	Tipo histopatológico	Intraductal Ductal Lobulillar Papilar Medular Secretor

Elaborado por: Paola Donoso Naranjo y Evelyn Pánchez López

Grado Histológico	Moderada	Características celulares de la neoplasias comparada con los tejidos normales	Escala de especialidad histopatológica Scarff Bloom Richardson	Bien diferenciado Moderadamente diferenciado Pobre diferenciado
Grado de expresión del Ki67	Dependiente	Expresión del Ki67	Inmunohistoquímica	Presente Ausente
Grado de expresión del p53	Dependiente	Expresión del p53	Inmunohistoquímica	Presente Ausente

Universo y Muestra

Para el estudio se utilizará todo el universo, el cual estará conformado por los informes histopatológicos de IHQ del Ki - 67 y el p53 de 206 pacientes femeninas con tumores mamarios malignos, del Servicio de Patología del Hospital Carlos Andrade Marín de la ciudad de Quito, periodo febrero 2014- febrero 2015.

Se tendrán en cuenta como criterios de inclusión: muestras tipo mastectomías, muestras tipo tumorectomías, historias clínicas completas, informes histopatológicos y de inmunohistoquímica completos de las pacientes con diagnóstico de carcinoma invasor de mama. Se consideran criterios exclusión: pacientes sin historias clínicas histopatológicas y de IHQ incompletas; pacientes con

tratamiento de quimioterapia, radioterapia o cirugía previa, pacientes que únicamente tengan muestras pequeñas (biopsias de la masa tumoral).

Tipo de Estudio

Se realizará un estudio descriptivo de tipo retrospectivo con la finalidad de establecer el grado de concordancia en la expresividad del Ki67 y el p53 por técnica de Inmunohistoquímica en el carcinoma invasor de mama.

Procedimientos de Recolección de Información

La información requerida será recopilada en un cuestionario específico desarrollado para el efecto, en base a las historias clínicas de las pacientes obtenidas de los registros de las pruebas de Inmunohistoquímica del Servicio de Patología del Hospital "Carlos Andrade Marín".

Tabla de recolección de datos

Para esto se utilizó el formato que se adjunta en el anexo 1.

Plan de análisis de datos

Se establecerá relaciones entre la edad de las pacientes y el tipo de tumor más común, el grado histológico y el estadiaje tumoral, lo que se obtendrá de acuerdo a las frecuencias obtenidas y se expresará mediante gráficos de columnas que incluirán porcentajes.

Por otro lado se establecerá la presencia o ausencia en la expresión de los marcadores tumorales Ki67 y P53 en relación a las diferentes variables expuestas, se realizaran gráficos con el objetivo de realizar un análisis comparativo.

Aspectos Bioéticos

Considerando que el estudio es de tipo retrospectivo no fue necesaria la obtención del consentimiento informado. Para la recolección de datos únicamente se revisó la base de datos de las pruebas de Inmunohistoquímica del Servicio de Patología del Hospital "Carlos Andrade Marín" y las historias clínicas electrónicas de las pacientes

obtenidas del Sistema as400, durante el período febrero 2014-febrero 2015.

Confidencialidad de la información

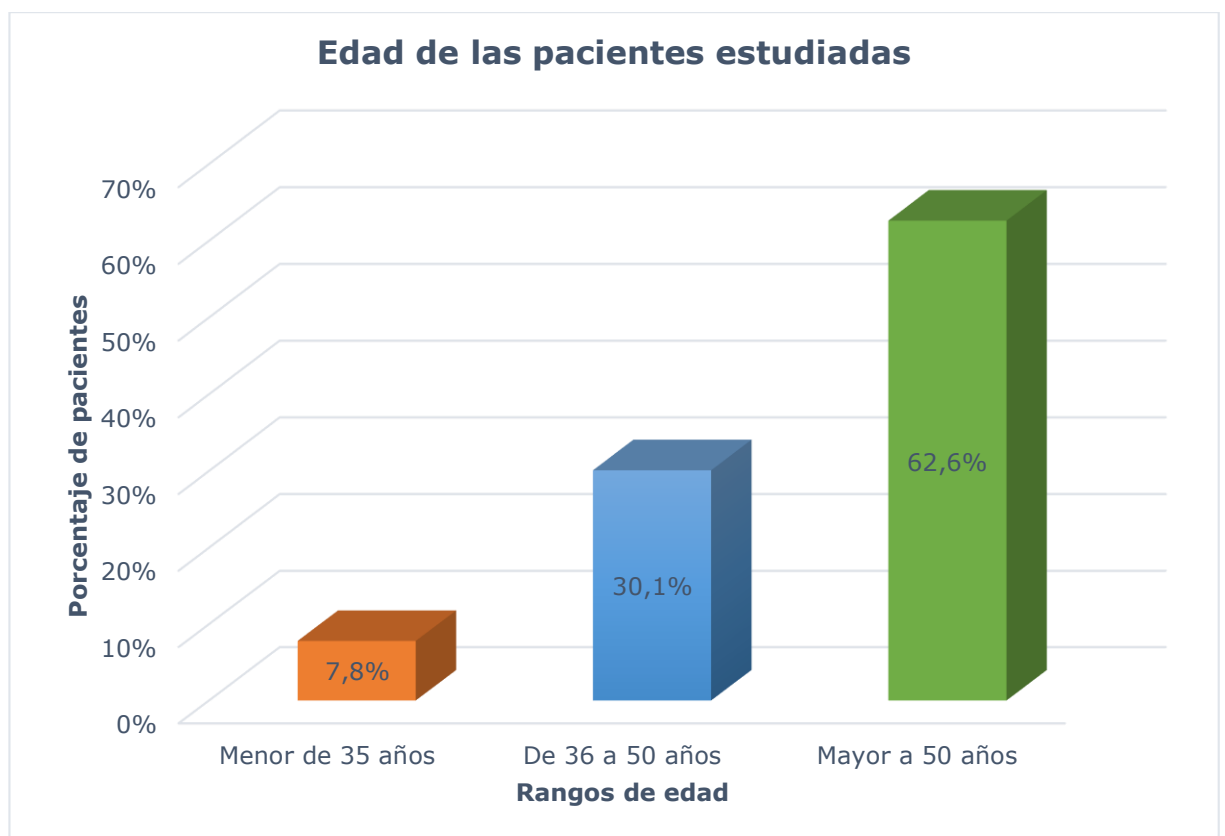
Según la Declaración de Ginebra que es una actualización del juramento hipocrático propuesto por la Asamblea General de la Asociación Médica Mundial realizada en septiembre de 1948, todo el personal involucrado en esta investigación se compromete a guardar y respetar la información obtenida para el desarrollo de este trabajo previo a la obtención del título como Médico Cirujano.

Para la recolección de la información se contó con la aprobación del Servicio de Patología del Hospital "Carlos Andrade Marín".

CAPÍTULO IV

RESULTADOS

Gráfico 3



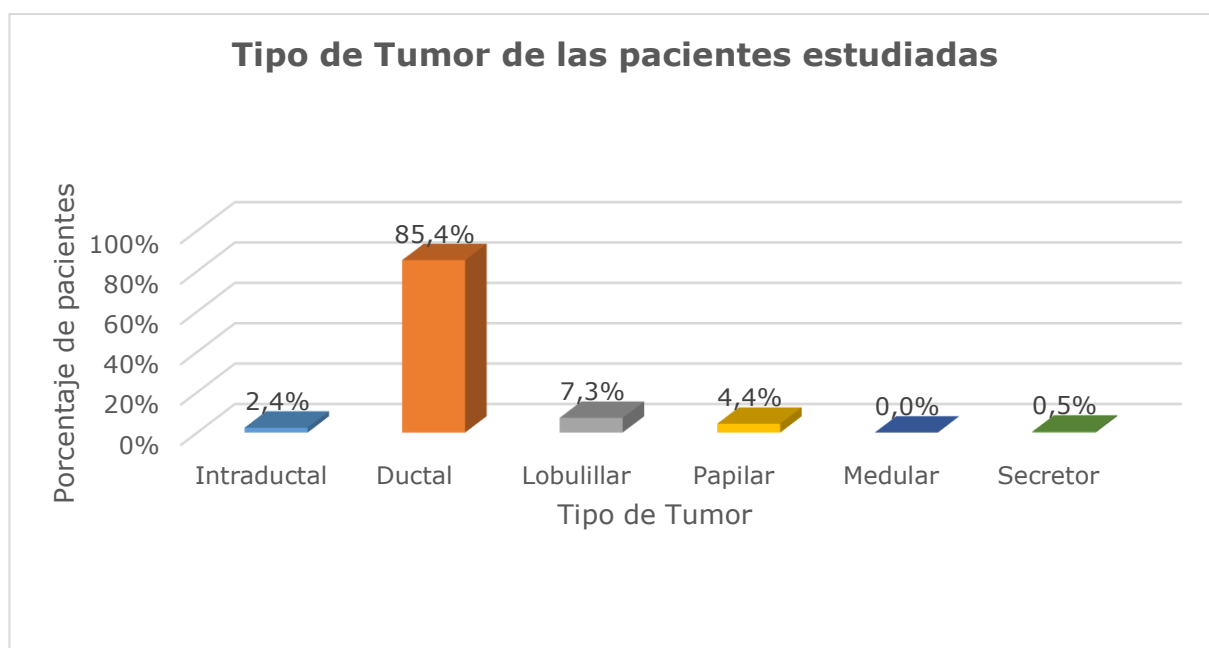
Fuente: Servicio de Patología Hospital "Carlos Andrade Marín".

Elaborado por: Paola Donoso Naranjo y Evelyn Pánchez López

Del 100% de casos estudiados de pacientes con diagnóstico histopatológico y clínico positivo a carcinoma invasor de mama

(206), el 7,8% (15) corresponden al rango de edad menor de 35 años, el 30,1 % (62) al rango de 36 – 50 años y el 62,6% (129) al rango mayor de 50 años.

Gráfico 4



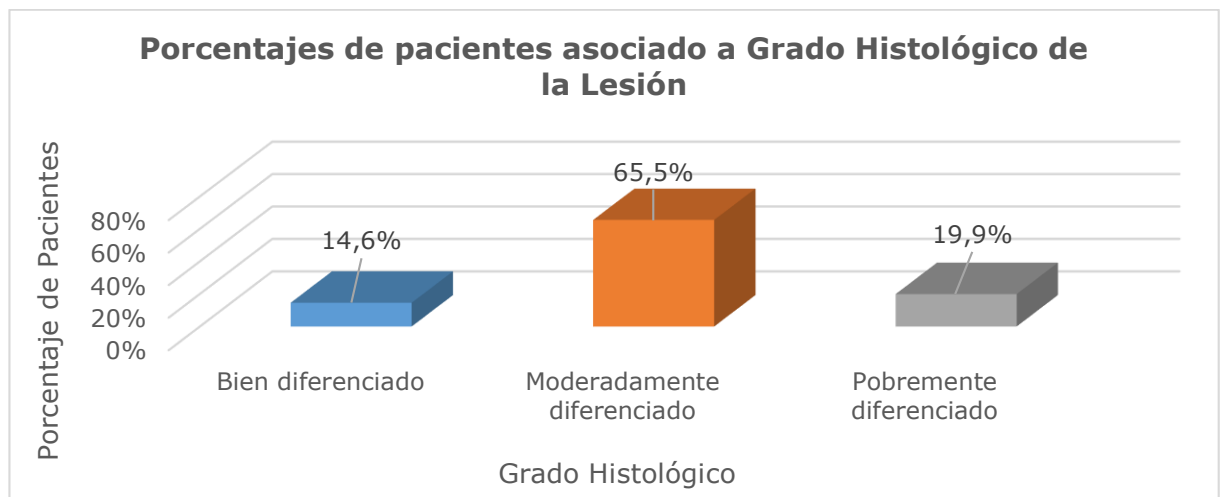
Fuente: Servicio de Patología Hospital "Carlos Andrade Marín".

Elaborado por: Paola Donoso Naranjo y Evelyn Pánchez López

Del 100% de casos estudiados de pacientes con diagnóstico histopatológico y clínico positivo a carcinoma invasor de mama (206), el 2,4% (5) presentan patrón histopatológico de carcinoma intraductal, el 85,4% (176) carcinoma ductal, el 7,3% (15) carcinoma lobulillar, el 4,4% (9) carcinoma papilar y el 0,5 % (1)

carcinoma secretor. No se encontró pacientes con carcinoma de tipo medular entre el universo estudiado.

Gráfico 5

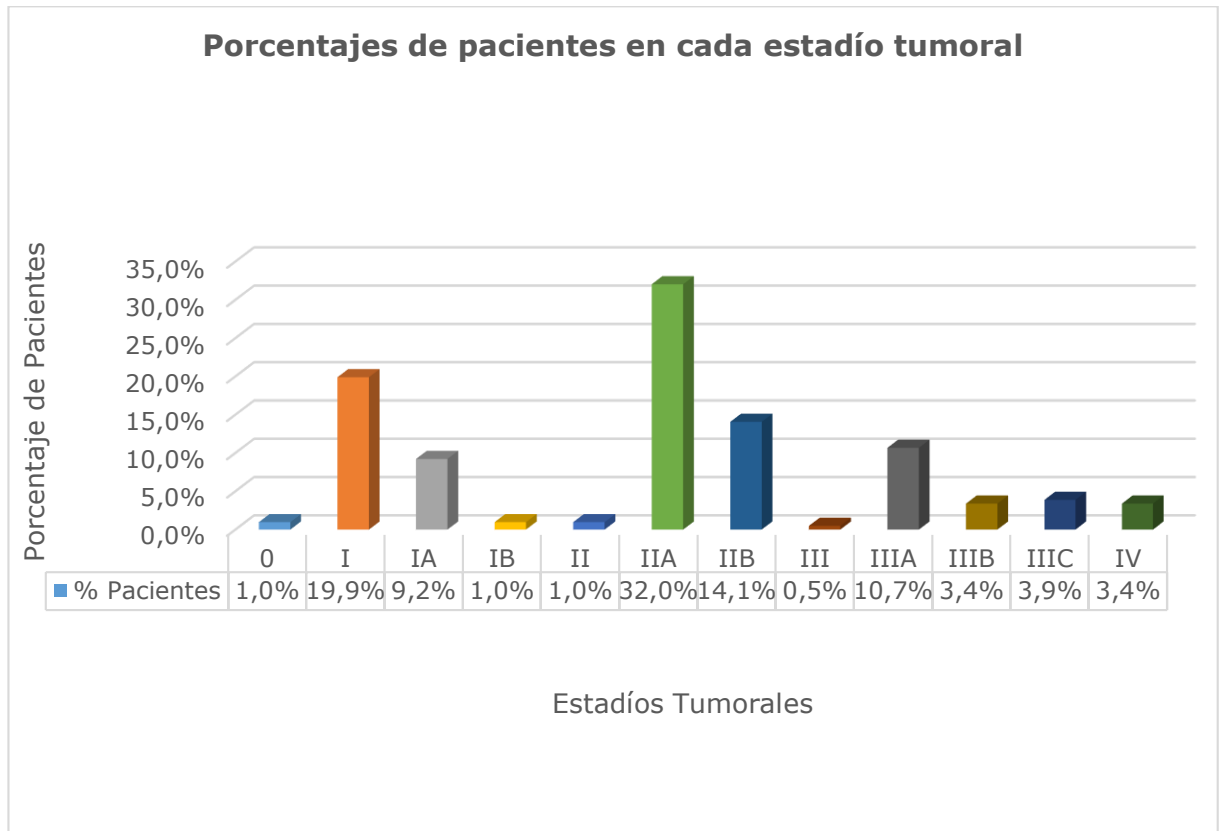


Fuente: Servicio de Patología Hospital "Carlos Andrade Marín".

Elaborado por: Paola Donoso Naranjo y Evelyn Pánchez López

Del 100% de casos estudiados de pacientes con diagnóstico histopatológico y clínico positivo a carcinoma invasor de mama (206), el 14,6% (30) presentan carcinoma invasor de mama bien diferenciado, el 65,5% (135) presentan carcinoma invasor de mama moderadamente diferenciado y el 19,9% (41) presentan carcinoma invasor de mama pobremente diferenciado.

Gráfico 6

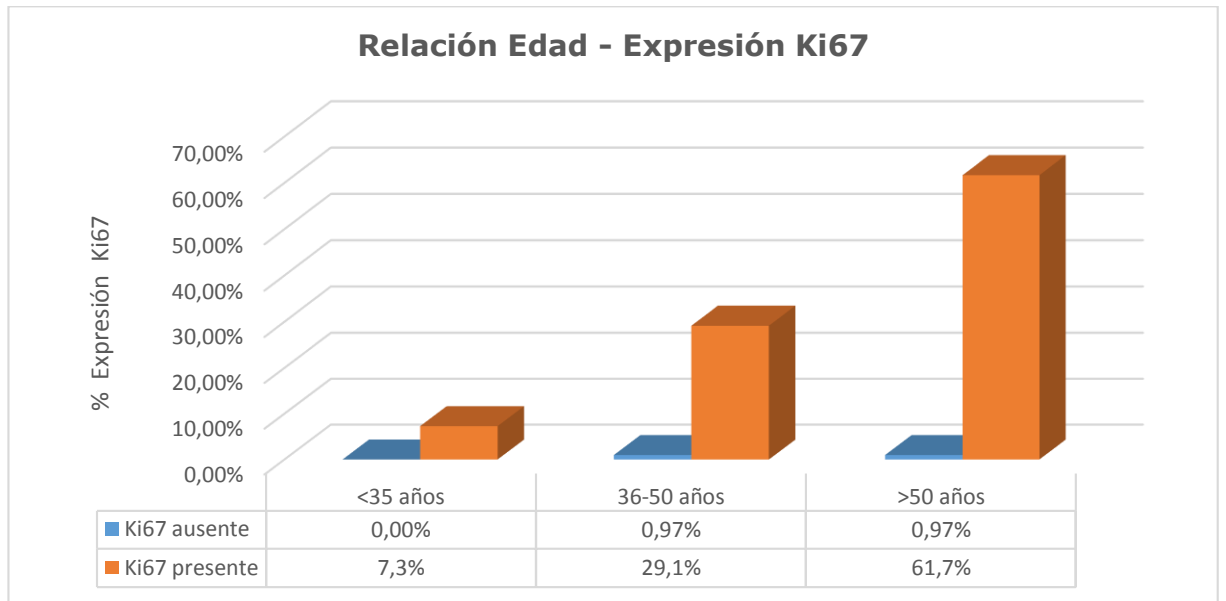


Fuente: Servicio de Patología Hospital "Carlos Andrade Marín".

Elaborado por: Paola Donoso Naranjo y Evelyn Pánchez López

Del 100% de casos estudiados de pacientes con diagnóstico histopatológico y clínico positivo a carcinoma invasor de mama (206), los estadios 0, IB y II representan el 1% (2) cada uno. El 19,9 % (41) en estadio I, el 9,2% (19) en estadio IA, el 32 % (66) a estadio IIA, el 14,1 % (29) en estadio IIB, el 0,5 % (1) carcinoma en estadio III, el 10,7% (22) en estadio IIIA, los estadios IIIB y IV representan respectivamente 3,4% (7) del total de casos estudiados y el estadio IIIC 3,9% (8).

Gráfico 7

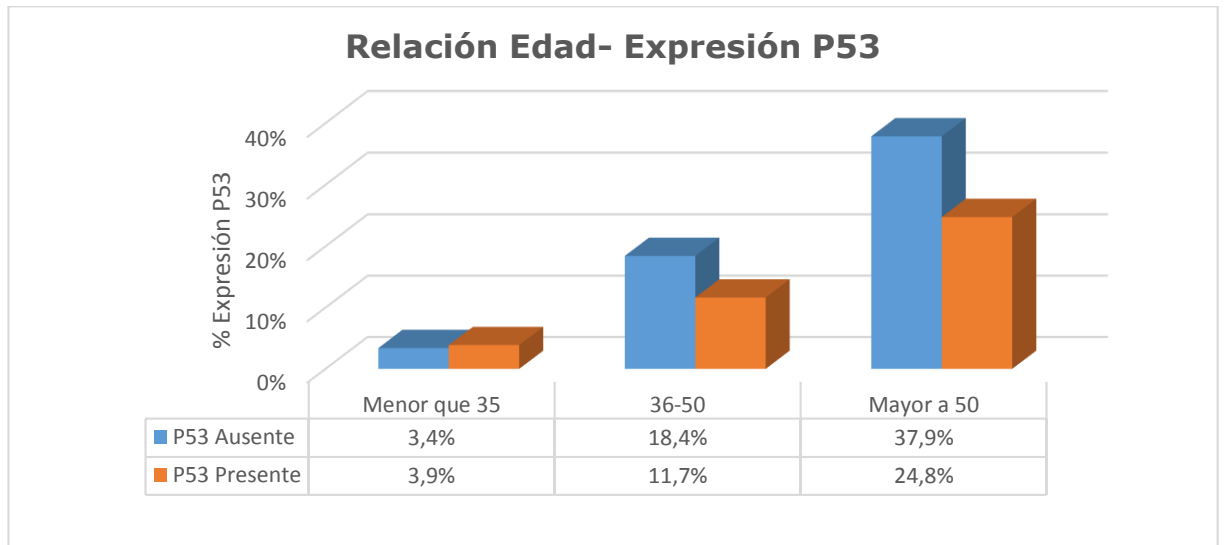


Fuente: Servicio de Patología Hospital "Carlos Andrade Marín".

Elaborado por: Paola Donoso Naranjo y Evelyn Pánchez López

Del 100% de casos estudiados de pacientes con diagnóstico histopatológico y clínico positivo a carcinoma invasor de mama (206), el 1,94% (4) no expresan el marcador Ki67 que corresponde a los casos estudiados de pacientes mayores de 36 años de edad (grupos de edad de 36-50 años y mayores de 50 años), mientras que el 98,1% (202) sí lo expresan (en los tres grupos de edad de pacientes estudiados), divididos en 7,3%(15) menores de 35 años, el 29,1% (60) entre 36 a 50 años y el 61,7% (127) en el rango de edad mayor a 50.

Gráfico 8

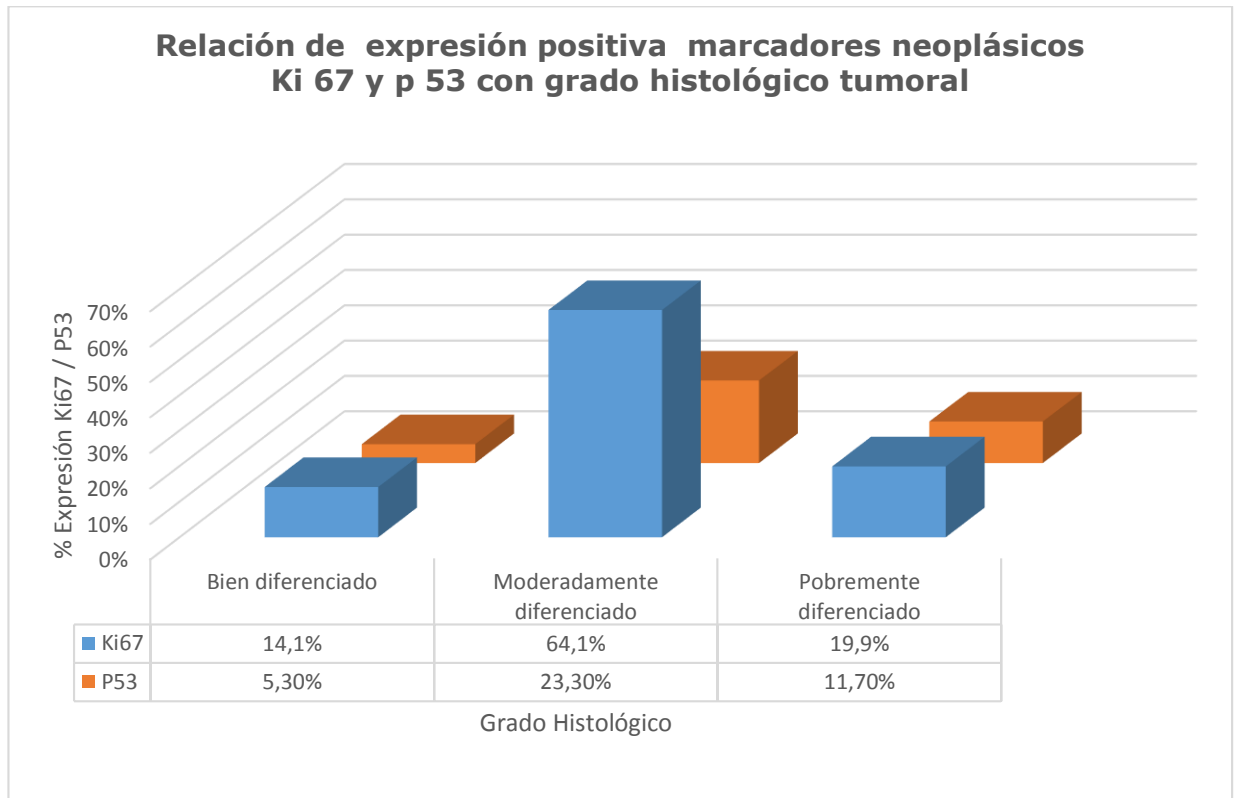


Fuente: Servicio de Patología Hospital "Carlos Andrade Marín".

Elaborado por: Paola Donoso Naranjo y Evelyn Pánchez López

Del 100% de casos estudiados de pacientes con diagnóstico histopatológico y clínico positivo a carcinoma invasor de mama (206), el 59,7% (123) no expresan el marcador P53 y el 40,3% (83) sí lo expresan dentro de los tres grupos de edad estudiados. De los casos con expresión negativa a la marcador, 3,4% (7) se encuentran en el rango de edad menor de 35 años, el 18,4% (38) en el rango de edad entre 36 a 50 años y el 37,9% (78) en el rango de edad mayor a 50. De las pacientes que presentan positividad para la expresión del marcador P53, el 3,9% (8) se encuentran en el rango de edad menor de 35 años, el 11,7% (24) en el rango de edad entre 36 a 50 años y el 24,8% (51) en el rango de edad mayor a 50.

Gráfico 9



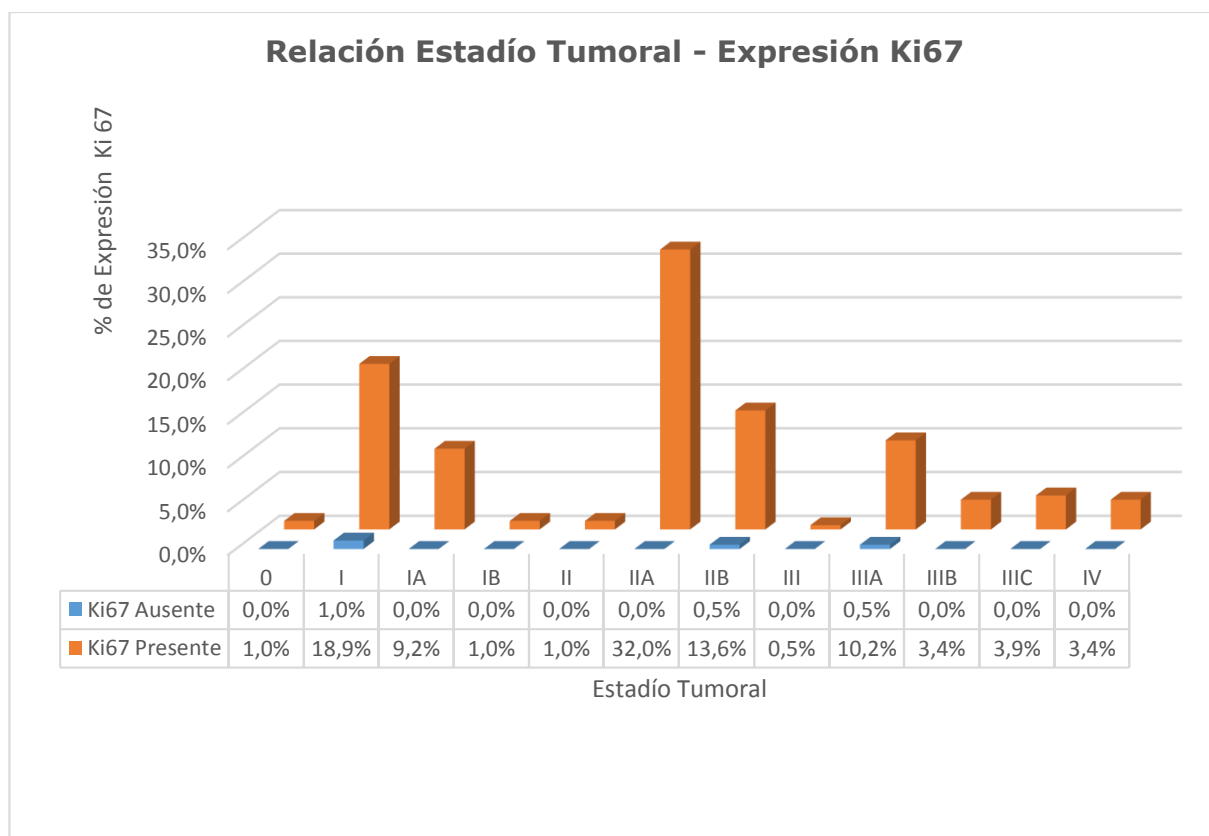
Fuente: Servicio de Patología Hospital "Carlos Andrade Marín"

Elaborado por: Paola Donoso Naranjo y Evelyn Pánchez López

Del 100% de casos estudiados de pacientes con diagnóstico histopatológico y clínico positivo a carcinoma invasor de mama (206), el 98,1% (202) expresan el marcador Ki67 y el 40,30% (83) expresan el marcador P53. El grado histológico "bien diferenciado" presenta 14,1% (29) con expresión de Ki67 y 5,30% (11) con expresión de P53. Para el grado histológico "moderadamente diferenciado" se observa 64,1% (132) con expresión de Ki67 y

23,30% (48) con expresión de P53. El grado histológico “pobremente diferenciado” presenta 19,9% (41) que expresan Ki67 y 11,70% (24) que expresan P53.

Gráfico 10



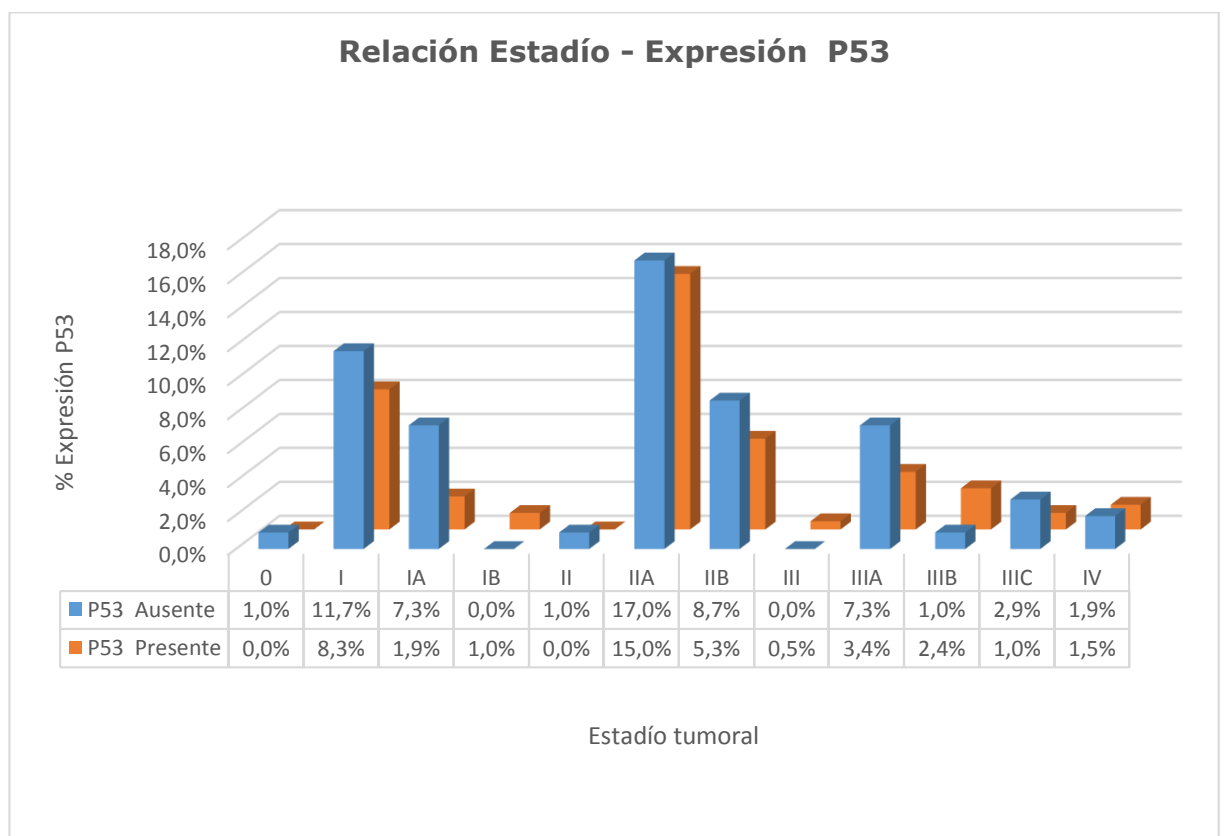
Fuente: Servicio de Patología Hospital “Carlos Andrade Marín”.

Elaborado por: Paola Donoso Naranjo y Evelyn Pánchez López

Del 100% de casos estudiados de pacientes con diagnóstico histopatológico y clínico positivo a carcinoma invasor de mama (206), el 1,94% (4) no expresan el marcador Ki67, mientras que el 98,1% (202) si lo expresan. De los casos que presentan positividad

a la expresión de Ki67, los estadíos 0, IB y II representan el 1% (2) de los casos estudiados respectivamente, el estadío I 18,9% (39), el estadío IA 9,2% (19), el estadío IIA 32% (66), el estadío IIB 13,6% (28), el estadío III 0,5% (1), el estadío IIIA 10,2% (21), el estadío IIIB 3,4% (7), el estadío IIIC 3,9% (8) y el estadío IV 3,4% (7).

Gráfico 11

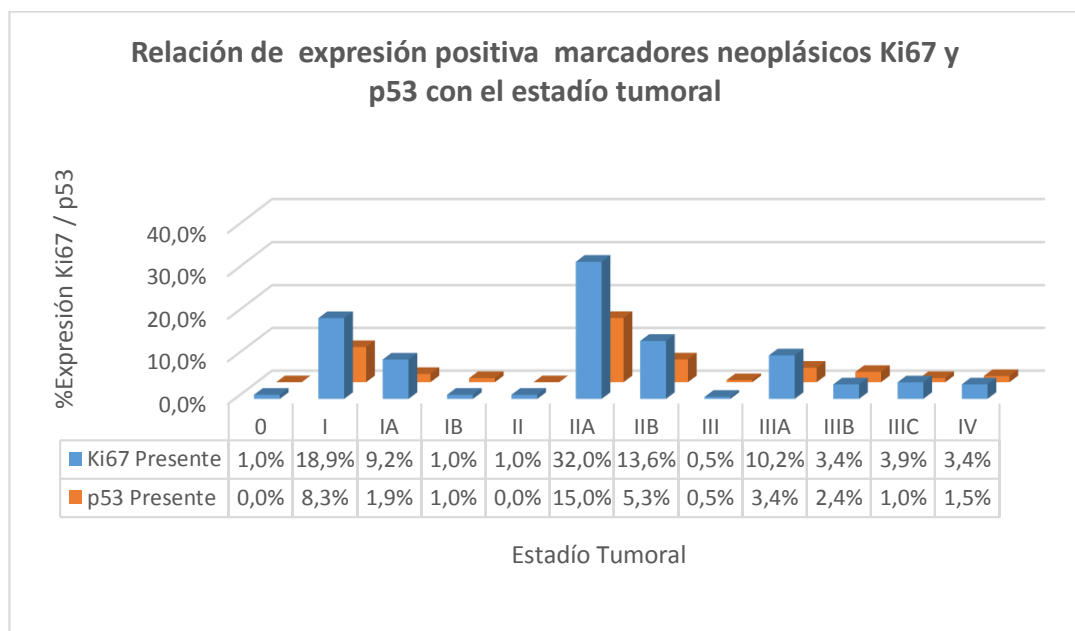


Fuente: Servicio de Patología Hospital "Carlos Andrade Marín".

Elaborado por: Paola Donoso Naranjo y Evelyn Pánchez López

Del 100% de casos estudiados de pacientes con diagnóstico histopatológico y clínico positivo a carcinoma invasor de mama (206), el 59,7% (123) no expresan el marcador p53 y el 40,3% (83) sí lo expresan. De los casos que presentan positividad a la expresión de P53, el estadio I presentan el 8,3% (17), el estadio IA 1,9% (4), el estadio IB 1% (2), el estadio IIA 15% (31), el estadio IIB 5,3% (11), el estadio III 0,5% (1), el estadio IIIA 3,4% (7), el estadio IIIB 2,4% (5), el estadio IIIC 1% (2) y el estadio IV 1,5% (3). Las pacientes que se encuentran en los estadios 0 y II no presentan expresión del marcador.

Gráfico 12



Fuente: Servicio de Patología Hospital "Carlos Andrade Marín".

Elaborado por: Paola Donoso Naranjo y Evelyn Pánchez López

El estadio 0 presenta expresión positiva del marcador neoplásico Ki67 del 1% (2), no presenta expresión del marcador neoplásico p53. El estadio I presenta expresión positiva del marcador neoplásico Ki67 en 18,9% (39) y expresión positiva del marcador neoplásico p53 en 8,3% (17). El estadio IA presenta expresión positiva del marcador neoplásico Ki67 en 9,2% (19) y expresión positiva del marcador neoplásico p53 del 1,9% (4). El estadio IB presenta expresión positiva del marcador neoplásico Ki67 en 1% (2) y expresión positiva del marcador p53 en 1% (2). El estadio II presenta expresión positiva del marcador neoplásico Ki67 en 1% (2) y no presenta expresión del marcador neoplásico p53. El estadio IIA presenta expresión positiva del marcador neoplásico Ki67 en 32% (66) y presenta expresión positiva del marcador neoplásico p53 en 15% (31). El estadio IIB presenta expresión positiva del marcador neoplásico Ki67 en 13,6% (28) y presenta expresión positiva del marcador neoplásico p53 en 5,3% (11). El estadio III presenta expresión positiva del marcador neoplásico Ki67 en 0,5% (1) y presenta expresión positiva del marcador neoplásico p53 en 0,5% (1). El estadio IIIA presenta expresión positiva del marcador neoplásico Ki67 en 10,2% (21) y presenta expresión positiva del marcador neoplásico p53 en 3,4% (7). El estadio IIIB presenta

expresión positiva del marcador neoplásico Ki67 en 3,4% (7) y presenta expresión positiva del marcador neoplásico p53 en 2,4% (5). El estadio IIIC presenta expresión positiva del marcador neoplásico Ki67 en 3,9% (8) y presenta expresión positiva del marcador neoplásico p53 en 1% (2). El estadio IV presenta expresión positiva del marcador neoplásico Ki67 en 3,4% (7) y presenta expresión positiva del marcador neoplásico p53 en 1,5% (3).

CAPÍTULO V

DISCUSIÓN

El carcinoma de glándula mamaria es la patología neoplásica maligna más frecuente en pacientes femeninas a nivel mundial. En el 2012, fueron reportados 408.000 casos en América con 92.000 pacientes fallecidas. (OPS. El cáncer de mama en las Américas, 2014). La prevalencia y mortalidad del cáncer de mama irá en aumento en los próximos años, ya que según las previsiones de la OMS, para 2025 habrá hasta de 2,5 millones de nuevos casos y hasta 800.000 muertes. En Ecuador, existen 10200 casos nuevos cada año, en el 2012 la tasa estimada de mortalidad fue del 12,2%. En Quito durante el 2008, la tasa de incidencia fue de 35,8 casos por cada 100.000 habitantes. (Registro Nacional de Tumores 2006-2010).

Del total de casos estudiados (206) de pacientes con diagnóstico de carcinoma invasor de mama, la media predominante por grupo de edad se encuentra en el rango mayor a 50 años que representa un total de 129 casos (62,6%), lo cual corresponde a la tendencia ya observada por los estudios realizados por el Registro Nacional de

Tumores SOLCA Núcleo Quito 2006-2010, donde se observa que el número de casos para carcinoma de glándula mamaria se incrementa a partir de los 36 años de edad, pero su incidencia es mayor en pacientes con edades superiores a los 50 años de edad. Otros estudios clínicos avalan estos resultados, como el presentado en el "National Cancer Institute (31) que indica que el rango de edad más susceptible a esta patología se encuentra entre los 55 y 64 años de edad, representando el 25.7% de todos los casos diagnosticados, con una edad media de diagnóstico de 62 años.

Con relación al patrón histopatológico de neoplasia mamaria, el patrón de tipo ductal infiltrante es predominante, presente en 176 casos (85,4%), mientras que los demás patrones histopatológicos representan en conjunto los 30 casos restantes (14,4%). Dentro de este último grupo, el carcinoma con mayor número de casos corresponde al patrón de tipo lobulillar con el 50 %, no obstante, solo representa el 7,3% del total de casos confirmando así el predominio del patrón ductal infiltrante. En el Registro Nacional de Tumores de SOLCA núcleo Quito (período 2006-2010), indica que el patrón principal es el ductal infiltrante que corresponde al 76% de casos y el patrón lobulillar al 4%. Estos datos coincide con el estudio realizado en México, Zacatecas, período 2006-2011 por Guzmán

Santos y Morales Cordero (32) donde se encontró que el carcinoma ductal infiltrante era el tipo morfológico predominante con un total de 2522 casos (13.1%), seguido del carcinoma lobulillar con 330 casos (1.7%) De igual forma en los resultados obtenidos por Holmes y Muss; 2003 (33) en hospitales geriátricos de EEUU donde indica que el 50% de los casos diagnosticados está representado por mujeres mayores de 50 y el 30% por mujeres mayores de 70 años, siendo el tipo ductal infiltrante el tipo morfológico predominante.

En relación al grado de diferenciación neoplásica observamos que el 84% de casos estudiados se asocian a grados de diferenciación de peor pronóstico (moderado y pobremente diferenciado); de estos, el grado moderadamente diferenciado representa el 76,70 %, a su vez, el grado histológico moderadamente diferenciado representa el 65,5% del total de casos (135).

Referente a los estadios tumorales predominantes se corresponden a los tipos IIA, I, IIB y IIIA que representan el 76,7% del total de casos analizados (158 de 206); a su vez, dentro de este grupo, el estadio IIA es el predominante con el 41,7% y el segundo corresponde al tipo I con 25,94% (que representa el 32% y 19,9 %

del total de casos estudiados). En el Registro Nacional de Tumores período 2006-2010, se observa igualmente un predominio de pacientes diagnosticadas con carcinoma en estadio II representado con el 43%. En segundo lugar se encuentra el estadio III con el 21%, en tercer lugar el estadio I con el 20% y por último el estadio IV con el 11%. En el estudio observacional retrospectivo realizado por Vyas, Madhavan y Sambamoorthi en Estados Unidos durante el período 2005-2009 en 39006 mujeres, se observó que dentro del grupo que se realizaba mamografía de control los estadios I y II eran los que presentaban mayor prevalencia con el 61,7% , seguido del estadio III con el 15,2% y el estadio IV con el 1,3%(34). Sin embargo, en estudios similares realizados en países de medio oriente, la neoplasia de la glándula mamaria se detecta en estadios más avanzados. Por ejemplo, en el estudio publicado en la revista "Iranian Red Crescent Medical Journal" titulado "Etapa de diagnóstico y retraso en la búsqueda de atención médica entre las mujeres con cáncer de mama, Delhi, India" que se realizó en 172 pacientes entre 25 y 80 años durante el período 2007-2009 demuestra que el 61,1% de mujeres se encuentran en el estadio IV al momento del diagnóstico y solo el 10% se encuentran en los estadios iniciales I y II (35).

Se observa también la expresión positiva de marcadores de IHQ Ki67 (74,7% del total de casos) y P53 (32%) en los mismos estadios prevalentes de este estudio, aunque se observa que la expresión del marcador IHQ Ki67 es mayor que al del marcador IHQ p53. Así, en el estudio realizado en Japón en el National Defense Medical College Hospital (NDMC) en 150 pacientes mastectomizadas con diagnóstico de carcinoma ductal invasor de glándula mamaria indica que la expresión de Ki67 es positiva en el 100% de casos, mientras que la expresión de p53 es positiva solo en el 14% de pacientes (36).

Esta relación de expresión positiva predominante del marcador Ki67 sobre el p53 se confirma con el análisis por grupos de edad. Así, dentro de los casos estudiados el marcador IHQ Ki67 se expresa en todos los grupos de edad. Sin embargo, su expresión se incrementa en pacientes de 36 años de edad en adelante, con el 90,8% (187 casos). A su vez, se observa que la expresión de este marcador predomina en las pacientes del grupo mayor a 50 años de edad con el 67,91% (127 casos), mientras el 32,09% (60 casos) corresponde al grupo de edad de 36-50 años.

Por su parte, el marcador IHQ P53 también se expresa en todos los grupos de edad. Se observa que su expresión predomina de igual

manera en pacientes de 36 años en adelante con el 36, 5% (75 casos). Dentro de este grupo el 68% (51 casos) en pacientes mayores a 50 años, mientras que el 32% se observa en pacientes de 36 a 50 años. No obstante, se observa que la ausencia de expresión en este marcador es muy alta; así tenemos que los casos negativos representan el 59,7 % del total de casos (123 de 206). Así, la expresión del marcador P53 es menor que la expresión del marcador Ki67 en todos los grupos de edad aunque el incremento de casos y el predominio de grupos de edad sea equivalente en ambos marcadores de IHQ.

Al evaluar la expresión de marcadores Ki67 y p53 con el grado histopatológico neoplásico; se observa que ambos marcadores se expresan en los tres grados histopatológicos con predominio de los grados moderado y pobremente diferenciados; pero, la expresión de Ki67 nuevamente es muy superior a la del marcador P53 (98,1% y 40,3% respectivamente).

CAPÍTULO VI

CONCLUSIONES

El carcinoma invasor de glándula mamaria es el proceso neoplásico maligno con mayor tasa de crecimiento y mortalidad a nivel local, regional y mundial, lo cual se aprecia tras los análisis de las distintas entidades de salud que controlan la evolución de esta enfermedad (SOLCA, OPS, OMS); así, luego de la realización de este estudio se han obtenido las siguientes conclusiones:

- En el estudio realizado en el Servicio de Anatomía Patológica del HCAM se observó que las pacientes con diagnóstico positivo a carcinoma invasor de glándula mamaria están en todos los grupos de edad analizados con incremento del número de casos sobre los 36 años de edad y en particular sobre los 50 años de edad. A nivel local, regional y mundial esta incidencia también se observa.
- De los casos estudiados, se establece que existen dos patrones predominantes de carcinoma invasor de glándula mamaria: el carcinoma ductal infiltrante y el de tipo lobulillar, donde el primero

representa el mayor número de casos (85,4% y 7,3% de casos analizados respectivamente). Esto se correlaciona con la estadística nacional (SOLCA), regional (OPS) y en estudios comparativos con poblaciones de similares características a la nuestra (México, Guzmán Santos y Morales Cordero) y con poblaciones de características diferentes (Estados Unidos de América, Holmes y Muss).

- En el estudio realizado, el carcinoma invasor de glándula mamaria presentó en mayor número de pacientes un grado de diferenciación neoplásica de moderado a pobremente diferenciado, que se relacionan con una peor evolución de esta patología neoplásica. Esto se relaciona con la expresión positiva de los marcadores neoplásicos Ki67 y p53 que se observan en los patrones histopatológicos antes mencionados (expresión del 84% y 30% respectivamente). Esto demuestra, que la relación entre la pérdida de diferenciación o anaplasia del tumor es directamente proporcional a una mayor expresión de estos dos marcadores neoplásicos.
- Se observa que los estadios tumorales predominantes son 4 (IIA, I, IIB y IIIA) con casi el 80% de casos estudiados, en todos ellos se

aprecia la expresión conjunta de los marcadores neoplásicos Ki67 y p53.

- La correlación de edad de las pacientes estudiadas con el grado de expresión de marcadores neoplásicos Ki 67 y p53 es directamente proporcional. Así, por ejemplo, las pacientes mayores de 50 años presentan un porcentaje de expresión de Ki67 del 61,7% y del p53 de 24,8% del total de casos estudiados.
- Es observable que la expresión conjunta de los marcadores Ki67 y p53 se corresponden a cada uno de los parámetros estudiados: edad, grado histológico y estadio tumoral.
- Pese a lo antes indicado, es importante señalar que la expresión de Ki67 es 2 a 3 veces superior que la expresión de p53. Por lo que se deduce que la mutación del oncogen Ki67 es más frecuente que la mutación del p53. Esto se explica debido a que la afectación del gen que codifica la proteína Ki67 es más temprana por referirse a una proteína que promueve la proliferación celular antes que la de un modulador de la regulación de dicha proliferación celular como el oncosupresor p53.

RECOMENDACIONES

- Se recomienda actualizar periódicamente los registros estadísticos nacionales de salud, haciendo hincapié en las patologías prevalentes tumorales de nuestro país, con análisis de incidencias y prevalencias a nivel de ciudad, provincia, región, país. Esta información deberá estar disponible para todo el personal de salud en ejercicio y formación.
- Incentivar ejercicios de práctica epidemiológica durante la formación de pregrado, con el objetivo de motivar a los estudiantes a la realización de proyectos investigativos en el área oncológica durante las pasantías hospitalarias.
- En base a los resultados obtenidos, recomendamos charlas en la atención primaria de salud por medio de los estudiantes de la Facultad de Medicina de la PUCE a partir de segundo nivel, con el objetivo de concientizar en la población la detección precoz de esta patología.
- En base a la información obtenida recomendamos que anatomía patología sea una materia individual orientada a la clínica y asociada

a mecanismos anatómicos patológicos universales a las enfermedades que se estudiarán posteriormente en el ABP en niveles superiores.

- Considerando la mayor prevalencia nacional y mundial del carcinoma mamario de tipo ductal infiltrante y lobulillar, recomendamos potenciar el estudio de su epidemiología, histopatología, clínica, diagnóstico y tratamiento.
- Debido al incremento alarmante de las cifras en relación a las patologías neoplásicas, sugerimos implementar rotaciones de práctica hospitalaria durante el pregrado en hospitales de tercer nivel que cuenten con los servicios de Oncología o Mastología.
- Considerando que el diagnóstico y tratamiento de las neoplasias malignas se basa en los resultados de estudios histopatológicos e inmunohistoquímicos, es necesario que los estudiantes de pregrado realicen prácticas hospitalarias en el área de Anatomía Patológica, con el fin de conocer los procedimientos básicos de diagnóstico e interpretación de enfermedades oncológicas.
- Recomendamos que dentro de la materia de biología molecular se incorpore un módulo sobre procesos moleculares del cáncer con el objetivo de comprender las bases de esta patología y el mecanismo

de acción farmacológica de los tratamientos que actualmente se emplean.

- Sugerimos que durante el internado rotativo, se realice un taller acerca de marcadores tumorales del carcinoma de glándula mamaria para poder interpretar de mejor manera los informes de histopatología desde un punto de vista clínico.
- Proponemos que los estudiantes de pregrado realicen un estudio más profundo y detallado de las actualizaciones de las guías sobre tamizaje y detección precoz del cáncer con el objetivo de mejorar la información hacia las pacientes.

BIBLIOGRAFÍA

- 1.Cueva P, Yopez J. Epidemiología del Cáncer en Quito. 15ª ed. Quito; 2014
- 2.Harris JR, Morrow M, Lippman ME, Osborne. Enfermedades de la mama. 3a ed. Madrid: Marbán Libros, S.L; 2009
- 3.Cortese G, Itala J, Lange D, Provenzano S. Enfermedades de la glándula mamaria. 1a ed. Madrid: Panamericana Sa; 2014.
- 4.Sadler TW. Lagman. Embriología Médica. 12ª ed. Barcelona: Lippincott Williams y Wildins; 2012.
- 5.Moore KL, Dailey AF, Agur AM. Moore Anatomía con orientación clínica. 9ª ed. Barcelona: Lippincott Williams y Wilkins; 2013.
- 6.Carloson BM. Embriología humana y biología del desarrollo. 4ª ed. Barcelona: Elsevier; 2009.
- 7.Rouvière H., y Delmas A. Anatomía Humana. Descriptiva, Topográfica y Funcional. 10ª edición. Masson S.A. Barcelona; 1999
- 8.Latarjet M, Liard AR. Anatomía Humana. 4ª ed. Madrid: Panamericana; 2012.
- 9.Hoffman. Williams Ginecología. 2ª ed. Mexico D.F.: McGraw-Hill; 2014.

10. Guyton AC, Hall JE. Guyton y Hall Tratado de Fisiología Médica. 12ª ed. Barcelona: S.A. Elsevier; 2011.
11. Jatoi I, Kaufmann M. Management of Breast Diseases, 1 DOI: 10.1007/978-3-540-69743-5_1, © Springer-Verlag Berlin Heidelberg; 2010.
12. Fernández J. Fisiología Humana. 4ª ed. Madrid: McGraw-Hill / Interamericana de España; 2014.
13. Geneser F, Bruel A, Christensen EI, Tranum-Jensen J, Qvortrup K. Geneser Histología. 4ª ed. Madrid: Panamericana; 2015.
14. Welsch U, Deller T. Sobotta Histología. 3ª ed. Madrid: Panamericana; 2014.
15. Arraztoa J. La Mama. 2ª ed. Santiago de Chile: Mediterráneo; 2004.
16. Mills S. Histología para patólogos. 4ª ed. Philadelphia; Lippincott Williams & Wilkins. 2015.
17. Bland KI, Copeland EM. La Mama. 3ª ed. Buenos Aires: Panamericana; 2007.
18. Lodish H, Berk A, Kaiser C. Biología Celular y Molecular. 7ª ed. Madrid: Panamericana; 2016
19. Lewin B, Krebs JE, Goldstein ES, Kilpatrick ST. Genes XI. 11ª ed. Sudbury: Jones and Bartlett Publishers; 2014.
20. Karp G. Biología celular y molecular. 6ª ed. Mexico D.F.: Mc Graw Hill; 2014.

21. Dorcas J, Fundamentos de Biología Molecular. 1ª ed. Madrid: UOC (UNIVERSITAT OBERTA DE CATALUNYA); 2012.
22. Kumar V, Abbas AK, Fausto N, Aster JC. Patología estructural y funcional Robbins, Contran. 9ª ed. Philadelphia: Elsevier; 2015.
23. Rubin E, Rubin R, Strayer DS. Rubin Patología fundamentos clinicopatológicos en medicina. 7ª ed. Philadelphia: Wolters Kluwer; 2014.
24. Rosen PP. Rosen's Breast Pathology. 3ª ed. Philadelphia: Wolters Kluwer; 2009.
25. Juríková M, Danihel L, Polák S, Varga I. Ki67, PCNA, and MCM proteins: Markers of proliferation in the diagnosis of breast cancer. Acta Histochemica. 2016 May 16.
26. Vanneste D, Masatoshi T, Naoko I, Vernos I. The role Hk1p2 in the stabilization and maintenance of spindle bipolarity. Current Biology. 2009 Nov 3; 19: 1712-1717.
27. Panal M, Herrera M, Hardisson D, Choqueneira M, Roman A, Santiago FJ. Correlación entre la expresión de Ki67 con factores clásicos pronósticos y predictivos en el cáncer de mama precoz. Sociedad Española de Senología y Patología Mamaria. 2014 Sep 27; 27(4):163-169.
28. Alberts B. Biología Molecular de la Célula. 5ª ed. Madrid: Omega; 2012.

29. Rojas W, Anaya JM, Aristizábal B, Cano L, Gómez L, Lopera D. Inmunología de Rojas. 17ª ed. Medellín: CIB; 2015
30. Craig N, Green R, Greider C, Storz G, Wolberger C. Biología Molecular. Principios de la Función Genómica. 2a ed. OUP Oxford; 2014
31. NCI: National Cancer Institute [Internet]. Nueva York: NCI; c2015 [citado 28 agosto 2016]. Female Breast Cancer. Disponible en: <http://seer.cancer.gov/statfacts/html/breast.html>
32. Guzmán K, Morales K, Hernández A, Gómez E, García F, Sánchez S. Carcinoma ductal infiltrante, el tipo de cáncer de mama más común. Archivos de Med [Internet]. 2012 [citado 28 Ago 2016]; 8(1):1-8. Disponible en: [http://www.archivosdemedicina.com/medicina-de-familia/carcinoma-ductal-infiltrante-el-tipo-de-cncer-de-mama ms-comn.pdf](http://www.archivosdemedicina.com/medicina-de-familia/carcinoma-ductal-infiltrante-el-tipo-de-cncer-de-mama-ms-comn.pdf)
33. Holmes C, Muss H. Diagnosis and Treatment of Breast Cancer in the Elderly. CA Cancer J Clin [Internet]. 2003 [citado 28 Ago 2016];53(4): 227-244. Disponible en: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.3322/canjclin.53.4.227/full>.
34. Vyas A, Madhavan S, Sambamoorthi U. Association between persistence with mammography screening and stage at diagnosis among elderly women diagnosed with breast cancer. Breast Cancer Res Treat [Internet]. 2014 [citado 28 Ago 2016] ;148(3):645-654.

Disponibile en:

<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/cncr.29911/full>

35. Pakseresht S, Ingle GK, Garg S, Sarafraz N. Stage at Diagnosis and Delay in Seeking Medical Care Among Women With Breast Cancer, Delhi, India. IRCMJ [Internet]. 2014[citado 28 Ago 2016];16(12).

Disponibile en:



<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4341328/>

36. Kobayashi T, Iwaya K, Moriya T, et al. A simple immunohistochemical panel comprising 2 conventional markers, Ki67 and p53, is a powerful tool for predicting patient outcome in luminal-type breast cancer. BMC Clin Pathol [Internet]. 2013 [citado 28 Ago 2016];13(5). Disponible en:

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3577510/>

ANEXOS

ANEXO 1

 PONTIFICA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR FACULTAD DE MEDICINA PROYECTO DE INVESTIGACIÓN HOJA DE RECOLECCIÓN DE DATOS 			
N° HCL:	N° Caso:		
Edad:	Tratamiento previo Quimioterápico	SI	NO
	Tratamiento previo Quirúrgico	SI	NO
Estadaje de la Lesión Tumoral	Tamaño del tumor	T:	
	Nódulos linfáticos regionales	N:	
	Metástasis Distantes	M:	
Tipo de tumor	Intraductal		
	Ductal		
	Lobulillar		
	Papilar		
	Medular		
	Secretor		
Grado Histológico	Bien diferenciado		
	Moderadamente diferenciado		
	Pobre diferenciado		
Expresión Ki 67	Presente		
	Ausente		
Expresión P 53	Presente		
	Ausente		
Investigadora:			

