



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE CIENCIAS

**EVALUACIÓN DE KARYOPHERINA $\alpha 2$ EN
MICROARREGLOS DE TEJIDO COMO POTENCIAL
MARCADOR CON VALOR PREDICTIVO EN EL
CARCINOMA MAMARIO**

REPORTE DE INVESTIGACIÓN

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

B I Ó L O G A

P R E S E N T A:

NURIA NOVELL MONROY



**TUTOR:
M. en C. HÉCTOR AQUILES MALDONADO MARTÍNEZ**

2011



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

1. Datos del alumno
Novell
Monroy
Nuria
045 442 380 48 31
Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad de Ciencias
Biología
076274718
2. Datos del tutor
M en C
Héctor Aquiles
Maldonado
Martínez
3. Datos del sinodal 1
Dra
Arcelia
Mora
Tiscareño
4. Datos del sinodal 2
Dra
María Sandra
Cabrera
Benítez
5. Datos del sinodal 3
Dr
Jesús
Ramírez
Santos
6. Datos del sinodal 4
Biól
Javier
Delgado
Tello
7. Datos del trabajo escrito
Evaluación de karyopherina $\alpha 2$ en microarreglos de tejido como potencial marcador
con valor predictivo en el carcinoma mamario
60 p
2011

DEDICATORIA

A todas las mujeres con cáncer de mama y, en especial, a las sesenta y dos mujeres que formaron parte del presente trabajo y a quienes por fortuna tuve la oportunidad de conocer a través de sus historias clínicas.

A mis padres Enrique y Elizabeth, quienes con su amor y pasión por la vida y el conocimiento alentaron a cada momento mi formación humana y profesional.

A mi abuela Teresa, por compartir conmigo sus conocimientos empíricos acerca de la naturaleza y motivar en mí la reflexión acerca de la salud en todo ser vivo.

A mis hermanos, Judith, Jorge y Noemí, por su solidaridad en los momentos difíciles y compartir con ejemplo la responsabilidad en su vida profesional así como su gran calidad humana.

A mis cuñados, Fernando y Gerardo, con cariño y agradecimiento por ser un gran apoyo en los momentos cruciales de mi vida.

A mis sobrinos, Montserrat y Fernando, y a Nicolás, por compartir su alegría y forma de ver la vida.

A las amigas y los amigos, por todos y cada uno de los momentos compartidos.

Con amor a mis hijos Amadeo y Joaquín, por ser como son, por su incondicional solidaridad de todos los días, por ser claridad y alegría en los días nublados.

Con admiración por la gratitud con que aprecia la vida, a mi esposo, compañero y amor de mi vida, Willy.

AGRADECIMIENTOS

Al M. en C. Héctor Aquiles Maldonado Martínez, tutor del presente trabajo, por su paciencia, apoyo y dedicación profesional para compartir sus conocimientos.

A la Dra. Arcelia Mora Tiscareño, por su confianza y dedicación en mi formación inicial en el tema de la IHQ.

Al Dr. Pedro García Barrera, por su guía y orientación en todo momento.

A la Dra. María Sandra Cabrera Benítez, al Dr. Jesús Ramírez Santos y al Biól. Javier Delgado Tello, por sus aportaciones a este trabajo.

A la Dra. Leonor Oñate Ocaña, por su valiosa orientación y su impulso para iniciar este trabajo.

A la UNAM, por haberme dado la oportunidad de formarme con catedráticos ejemplares que dejaron huella en mi vida personal y profesional.

Al INCAN, por las facilidades prestadas y la oportunidad de continuar formándome.

Al personal en general de la Facultad de Ciencias de la UNAM; también al del Archivo Clínico y el Departamento de Patología del INCAN, por su servicio de calidad y trato amable durante los trámites y realización de este trabajo.

ÍNDICE

ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS	7
ANTECEDENTES	8
El cáncer de mama como problema de salud mundial. Algunos datos epidemiológicos	9
Características y manifestaciones clínicas del cáncer de mama	10
Diagnóstico	12
Estadificación del American Joint Committee on Cancer (AJCC) para el cáncer de mama en el sistema internacional TNM (Tamaño del tumor/Presencia de ganglios linfáticos/Metástasis)	13
Tratamiento	17
Cirugía	18
Radioterapia	18
Quimioterapia	18
Terapia hormonal	20
Terapia dirigida a blancos moleculares	20
Marcadores en cáncer de mama	21
La karyopherina $\alpha 2$ como potencial marcador en cáncer de mama	23
OBJETIVO	25
MATERIAL Y MÉTODOS	26
Población de estudio	26
Criterios de inclusión	26
Criterios de exclusión	26
Información clínica	27
Información histopatológica	29
Microarreglos de tejido	31
Elaboración de microarreglos de tejido	31
Reacciones con la técnica de inmunohistoquímica (IHQ)	32
Evaluación histopatológica con la técnica de inmunohistoquímica (IHQ)	34
Análisis estadístico	36
ACTIVIDAD REALIZADA COMO APOYO A LA INVESTIGACIÓN	37

RESULTADOS	42
DISCUSIÓN	48
CONCLUSIONES	50
REFLEXIONES FINALES Y PERSPECTIVAS	51
GLOSARIO	53
SIGLAS, ACRÓNIMOS Y ABREVIATURAS	57
BIBLIOGRAFÍA	59

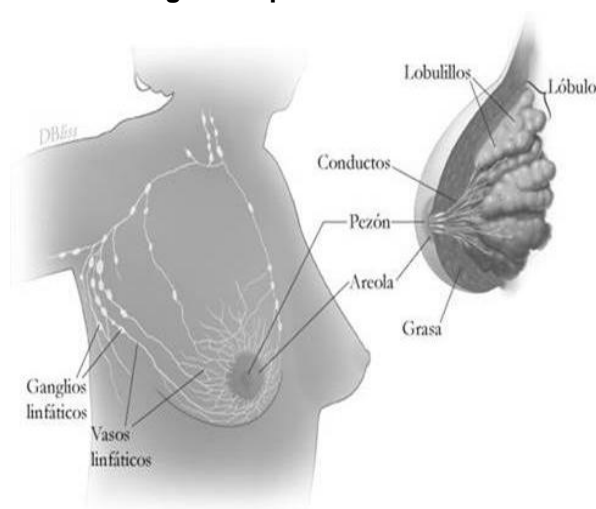
ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS

Fig. 1: Esquema de la mama.....	8
Tabla 1: TNM (Tamaño del tumor/Presencia de ganglios linfáticos/Metástasis)	15
Tabla 2: Estadío clínico	16
Tabla 3: Escala de Scarff-Bloom-Richardson (SBR)	30
Fig. 2: Fotografía de un microarreglo	31
Fig. 3: Laminillas de las reacciones de inmunohistoquímica	33
Fig. 4: Control negativo de KPNA2.....	33
Fig. 5: Control positivo de KPNA2	33
Fig. 6: Reacción de IHQ en un cilindro de tejido correspondiente a uno de los casos	34
Fig. 7: Evaluación de las reacciones de IHQ.....	35
Fig. 8: Gráfica comparativa de los datos generales considerados relevantes en los 59 casos de estudio.....	44
Tabla 4: Comparación de los factores de riesgo para recurrencia entre las pacientes con y sin respuesta a la quimioterapia (QT)	45
Fig. 9: Gráficas comparativas de los factores de riesgo para recurrencia entre las pacientes con y sin respuesta a la quimioterapia (QT)	46
Fig. 10: Expresión de KPNA2 en pacientes con y sin respuesta a QT	47

ANTECEDENTES

Se puede decir que el cáncer se origina como consecuencia de alteraciones en la estructura y función de los genes que llevan a una proliferación en forma acelerada y no controlada (desordenada) de un grupo de células en un tejido, y en última instancia a la formación de una masa anormal o tumor que puede diseminarse invadiendo tejidos vecinos o dando lugar a otras formaciones tumorales lejanas al sitio de su origen (metástasis). El cáncer de mama, en particular, es una neoplasia maligna en la que el proceso proliferativo afecta las células parenquimatosas de ese órgano (que constituyen los lóbulos y conductos mamarios). Como todos los órganos, la mama cuenta con vasos sanguíneos y vasos linfáticos, y es a través de ellos que se produce la diseminación a distancia de las células tumorales originando las metástasis. Los vasos linfáticos transportan y conducen la linfa a órganos pequeños que se llaman ganglios linfáticos. Existen racimos de ganglios linfáticos cerca de la mama, en la axila (debajo del brazo), por encima de la clavícula y detrás del esternón (1) (véase la Figura 1). El principal y primer sitio de metástasis del cáncer de mama suelen ser los ganglios linfáticos axilares. Otros sitios de metástasis a distancia frecuentes son hueso, pulmón y cerebro. En estos casos la diseminación del tumor ocurre a través de los vasos sanguíneos.

Fig. 1: Esquema de la mama



Esquema de la anatomía de la mama que muestra los ganglios linfáticos y los vasos linfáticos.

Fuente: National Cancer Institute, Cáncer de seno (mama). Obtenido el 06/12/2010, desde <http://www.cancer.gov/español/pdq/tratamiento/seno/Patient>.

El cáncer de mama como problema de salud mundial. Algunos datos epidemiológicos

A la fecha, el carcinoma mamario es un problema de salud pública mundial, en el cual muchos países han enfocado sus esfuerzos, empleando diferentes estrategias, entre ellas el trabajo en líneas de investigación dirigidas a optimizar la prevención y el diagnóstico que permitan elegir los tratamientos ideales para lograr mejores tasas de curación, tiempos de supervivencia más prolongados o brindar una mejor calidad de vida a las pacientes.

El carcinoma mamario es la neoplasia más frecuentemente diagnosticada en la mujer occidental. A nivel global, para el año 2002 se presentaban 1'151,298 nuevos casos anuales de cáncer de mama, 410,712 defunciones y una prevalencia de más de 4.4 millones de mujeres afectadas (2). Es la primera causa de defunción por cáncer en mujeres. Su incidencia y mortalidad aumentan con la edad y alcanzan su mayor porcentaje en mujeres que se encuentran entre los 35 y los 54 años.

En México, el cáncer de mama ocupa el segundo lugar de las neoplasias malignas, con un 10.9% de todos los casos de cáncer, sólo superado por el carcinoma cervicouterino (3).

En el orden de salud pública, entre las prioridades se encuentra el reto de incrementar las capacidades de las instituciones de salud para proveer servicios apropiados, así como equipar y desarrollar los centros de tercer nivel para convertirlos en centros de excelencia (4).

No obstante, se requiere seguir desarrollando y promoviendo diferentes estrategias para reducir la incidencia, mortalidad y morbilidad del cáncer. Estas estrategias comprenden la prevención, la detección precoz, el tratamiento y los cuidados paliativos (1).

Características y manifestaciones clínicas del cáncer de mama

El cáncer de mama es una enfermedad multifactorial, en la cual se han identificado algunos indicadores de riesgo. Clínicamente, entre los antecedentes de salud que pueden incrementar el riesgo de padecer cáncer de mama se encuentran los siguientes (3):

- Menarca a temprana edad (antes de los 12 años).
- Edad avanzada en el primer parto.
- Menopausia tardía (después de los 50 años de edad).
- Raza caucásica (más recurrente que en la negra u oriental).
- Nuliparidad.
- Tratamientos hormonales, anticonceptivos.
- Consumo frecuente de bebidas alcohólicas.
- Género (99% en mujeres).
- Triadas de obesidad, hipertensión y diabetes (3/1).
- Ingestión elevada de grasas en la dieta (3/1).
- Cáncer endometrial.
- Antecedentes familiares, madre o hermanas con cáncer de mama.

El cáncer de mama puede presentarse incluso en ausencia de factores de riesgo: una de cada nueve mujeres puede desarrollar cáncer de mama a lo largo de su vida, de allí que actualmente se valoren y enfatizen las campañas de autoexploración mamaria y el uso de métodos de escrutinio (2). Entre estas

estrategias se encuentra la exploración de la mama, que debe incluir la inspección y palpación de toda la glándula, así como la exploración de ganglios axilares y supraclaviculares. Otra herramienta importante de tamizaje es la mastografía, que puede detectar tumores antes de que sean palpables y que, aplicada a la población general, puede reducir entre 25 y 35% la mortalidad. La ayuda diagnóstica que brinda la mastografía está directamente relacionada con la edad de la paciente; por ejemplo, en mujeres menores de 40 años sólo es de utilidad en casos de cáncer de mama familiar, ya que la densidad del tejido mamario impide su detección y es más eficaz, entonces, utilizar ultrasonografía mamaria.

En la mayoría de los casos de cáncer de mama, las pacientes notan la presencia de una masa palpable en la mama, o bien secreción por el pezón. Otros signos y síntomas del cáncer de mama que se relacionan con el tamaño del tumor son:

- Tumor en la glándula mamaria, en la axila o en la región supraclavicular, generalmente indoloro.
- Retracción de la piel o del pezón.
- Asimetría de las glándulas mamarias.
- Erosión de la piel del pezón.
- Enrojecimiento e induración generalizada de la glándula mamaria.

En pacientes asintomáticas y sin lesiones palpables es mediante los métodos de escrutinio ya comentados que se identifica el cáncer de mama.

Diagnóstico

El diagnóstico inicial se hace, generalmente y en primera instancia, por medio de la exploración física, seguido de mastografía o ultrasonido y de una biopsia para su análisis patológico, el cual continúa siendo la piedra angular del diagnóstico ya que es, hasta la fecha, el único medio para corroborar en forma definitiva la existencia de un carcinoma mamario. Existen diversos tipos de biopsia; de manera general podemos clasificarlas en tres grupos por su forma de obtención: con aguja de corte, por aspiración con aguja fina y por incisión o escisión (2). Ya en el diagnóstico patológico, se valora de rutina: tamaño del tumor, tipo histológico, pleomorfismo celular y nuclear, índice mitótico, presencia de necrosis, invasión vascular, así como el estado de los receptores hormonales y de los ganglios linfáticos axilares. Se evalúan todos estos parámetros dada su importancia en el pronóstico y en la elección de terapia para las pacientes, como en el caso de los receptores hormonales (4,5).

De los diferentes tipos histológicos de cáncer mamario que existen, el más común es el carcinoma ductal, que —como su nombre lo indica— comienza en las células de los conductos, seguido por el carcinoma lobular, el cual empieza en los lóbulos y lobulillos de la mama (6).

Estadificación del American Joint Committee on Cancer (AJCC) para el cáncer de mama en el sistema internacional TNM (Tamaño del tumor/Presencia de ganglios linfáticos/Metástasis)

Dependiendo de la diseminación de la enfermedad al momento del diagnóstico, las pacientes con cáncer de mama presentan un mayor o menor riesgo de recurrencia. Por ejemplo, las pacientes con ganglios positivos (ganglios linfáticos con metástasis) tienen mayor riesgo de recurrencia y muerte comparadas con las pacientes con ganglios negativos. La evidencia demuestra que el riesgo de recurrencia puede ser estratificado con base en el número de ganglios linfáticos positivos. En mujeres con 1 a 3 ganglios positivos, la supervivencia a los 10 años es de entre un 40 y un 60%, mientras que en mujeres con más de 4 ganglios positivos es del 25% (7). Así, valorar el grado de diseminación de la neoplasia es un aspecto importante en el manejo de los pacientes con carcinoma mamario.

Los casos de cáncer de mama se pueden dividir con base en su grado de diseminación en diferentes estadios, los cuales se definen de acuerdo a tres parámetros (3):

T= tamaño del tumor.

N= presencia de ganglios linfáticos (clínicos y patológicos).

M= metástasis.

Cada uno de estos parámetros se evalúa de acuerdo a los lineamientos citados en la Tabla 1, para posteriormente determinar el estadio mediante una combinación de los valores asignados de T, N y M, siguiendo lo indicado en la Tabla 2.

Por ejemplo, a una paciente con un tumor de 3 cm de diámetro mayor, con metástasis en un ganglio axilar que al palpase no está adherido a la pared costal u otros tejidos adyacentes a la axila, y sin evidencia de metástasis en órganos distantes en los estudios de imagen, se le asignarían:

Tamaño del tumor: T2.

Estatus ganglionar: N1.

Estatus de las metástasis: M0.

Con base en estos datos y de acuerdo a la Tabla 2, esta paciente tendría un estadio IIB.

Tabla 1: TNM (Tamaño del tumor/Presencia de ganglios linfáticos/Metástasis)

T (Nomenclatura)	Tamaño del tumor
TX	El tumor primario no puede evaluarse.
T0	No hay evidencia de tumor primario.
Tis	Carcinoma in situ: forma no invasora donde las células anormales revisten el conducto o lóbulo de la mama sin salirse de los mismos.
T1	Lesión < 2 cm en su diámetro mayor.
T1a	Lesión < 0.5 centímetros.
T1b	Lesión de 0.5 a 1 centímetro.
T1c	Lesión de 1 a 2 centímetros.
T2	Lesión de 2 a 5 centímetros.
T3	Lesión mayor a 5 centímetros.
T4	Tumor con invasión a pared torácica o a piel.
T4a	Extensión a la pared torácica; incluye parrilla costal, músculos intercostales y serratos anteriores, pero no los pectorales.
T4b	Edema (piel de naranja), ulceración de la piel o lesiones satélites, o ambas.
T4c	Ambos (T4a + T4b).
T4d	Carcinoma inflamatorio.

Clasificación	Condición de los ganglios
N0	No pueden evaluarse los ganglios linfáticos.
N1	Metástasis a ganglios linfáticos ipsolaterales móviles.
N2	Metástasis a ganglios linfáticos ipsolaterales fijos.
N3	Metástasis a ganglios linfáticos de la cadena mamaria interna ipsolateral.

Clasificación	Condición de la metástasis
M0	No hay evidencia de metástasis a distancia.
M1	Metástasis a distancia incluidos ganglios linfáticos supraclaviculares.

**Tomado de Maldonado, H., (2010) Evaluación en tejido de biomarcadores potenciales con valor predictivo en el carcinoma mamario. Apuntes de investigación doctoral, México.*

Tabla 2: Estadio clínico

TNM	ESTADIO CLÍNICO
T1,N0,M0	0
T0,N1,M0	I
T0,N1,M0	IIA
T1,N1,M0	
T2,N0,M0	
T2,N1,M0	IIB
T3,N0,M0	
T0,N2,M0	
T1,N2,M0	IIIA
T2,N2,M0	
T3,N1,M0	
T3,N1,M0	
T4,cN,M0	
CT,N3,M0	IIIB
CT,cN,M1	IV

**Tomado de Maldonado, H., (2010) Evaluación en tejido de biomarcadores potenciales con valor predictivo en el carcinoma mamario. Apuntes de investigación doctoral, México.*

Tratamiento

Por lo general, los tratamientos de la paciente que padece cáncer de mama son efectuados por un grupo multidisciplinario que se compone de oncólogo médico clínico, cirujano oncólogo, radiólogo, psicólogo oncólogo, patólogo, cirujano reconstructor y grupos de apoyo en el área biomédica. En la actualidad existen cinco tipos de tratamiento establecidos: cirugía, radioterapia, quimioterapia, terapia hormonal y terapia dirigida a blancos moleculares. La adjudicación del tratamiento se centra en la evaluación del pronóstico y predicción del comportamiento del tipo de cáncer de la paciente (1,3). Esta evaluación se basa en el estadio TNM, los parámetros valorados en el diagnóstico patológico ya comentados, y algunos marcadores tumorales como los receptores hormonales y HER-2. Los receptores hormonales que han demostrado tener un papel relevante para la toma de decisiones terapéuticas son el receptor α de estrógenos (RE) y el receptor α de progesterona (RP) (para ambos existen receptores α y β). La expresión de estos receptores en el carcinoma mamario correlaciona con tumores de bajo grado histológico (8) y permite, además, identificar pacientes cuyos tumores responden favorablemente a la supresión de la actividad de hormonas sexuales esteroideas en el organismo mediante diferentes intervenciones terapéuticas (terapia hormonal) (9). Otro receptor muy importante en la biología del carcinoma mamario es HER-2, una de las cuatro isoformas de receptores transmembranales del factor de crecimiento epidérmico. La sobreexpresión de este receptor en el carcinoma mamario es indicativa de un pronóstico adverso en ausencia de tratamiento en comparación con carcinomas mamarios que no lo sobreexpresan (8). Por otro lado, los pacientes con tumores que sobreexpresan HER-2 son candidatos a recibir anticuerpos contra él como terapia blanco, un tratamiento que ha demostrado gran efectividad contra el cáncer de mama en tales pacientes. Asimismo, la sobreexpresión de HER-2 puede predecir resistencia a la terapia hormonal y la susceptibilidad del tumor a la quimioterapia (8).

En algunas ocasiones, cuando la investigación biomédica propone un nuevo tratamiento, las pacientes pueden participar en este ensayo clínico de prueba.

Cirugía

Tipos de cirugía:

Lumpectomía. El cirujano extirpa el tumor y una pequeña cantidad de tejido alrededor del mismo.

Mastectomía parcial o segmentaria. Se extirpa una parte de la mama que abarque completamente el tumor.

Mastectomía total o simple. Extirpación de la mama completa y, en ocasiones, uno o varios de los ganglios linfáticos de la axila ipsolateral.

Mastectomía radical modificada. El cirujano extirpa la mama, los ganglios linfáticos de la axila ipsolateral y el revestimiento de los músculos pectorales (1,3).

Radioterapia

La radioterapia está recomendada en tumores con factores de riesgo para recurrencia, tales como: tamaño grande, varios ganglios linfáticos con metástasis, tumor cercano al borde de resección quirúrgica, etc. Es un tratamiento en el cual se utilizan rayos X de alta energía u otros tipos de radiación que destruyen las células cancerosas e impiden su crecimiento (1,3).

Quimioterapia

La quimioterapia es un tratamiento para el cáncer donde se utilizan algunos fármacos citotóxicos cuya función principal es eliminar las células cancerosas; puede administrarse por vía oral, intravenosa e intramuscular.

Actualmente, entre los agentes que son utilizados con mayor frecuencia y en los cuales se basan los esquemas estándar de tratamiento del carcinoma de mama, se encuentran la ciclofosfamida, el 5-fluororacilo (5FU), las antraciclinas y los taxanos (3,4,7).

Las antraciclinas son antibióticos glicosídicos del tipo de las quinonas y tienen un potente efecto quimioterapéutico. Inhiben la actividad de la topoisomerasa II α ,

enzima indispensable en la replicación del ADN, que es a su vez un proceso crítico en la proliferación celular. Las antraciclinas más usadas son la doxorrubicina y la epirubicina (1).

Los taxanos pertenecen al grupo de los terpenos, son producidos por árboles coníferos de la familia Taxaceae (del género *Taxus*) y utilizados como medicamentos antineoplásicos. El mecanismo principal de los taxanos es la inhibición de la formación de microtúbulos —que, como consecuencia, impide el funcionamiento de los mismos— implicados en la división celular o mitosis; por lo tanto, interrumpen la división celular de las células cancerígenas. Los taxanos más utilizados en la quimioterapia son el paclitaxel y el docetaxel (1,7).

Los agentes quimioterapéuticos se administran en ciclos que comprenden la administración de los fármacos en un solo evento en días determinados, dejando transcurrir algunos días entre una administración y la siguiente.

En las últimas décadas, se han puesto en práctica esquemas diversos, con la finalidad de disminuir su toxicidad en las pacientes. Así, actualmente se utilizan con más frecuencia los esquemas de cuatro ciclos de ciclofosfamida-doxorrubicina-5 fluororacilo (FAC) o ciclofosfamida-epirubicina-5 fluororacilo (FEC), seguido de cuatro ciclos de taxanos (FAC-T o FEC-T), ya que han demostrado efectividad terapéutica al minimizar los efectos de interacción entre ambos grupos de agentes (4). Esquemas como éstos se han discutido y aceptado en el marco de consensos de expertos, como el de St. Gallen, Suiza (10). Sin embargo, sólo el 15% de las pacientes responden adecuadamente a este tratamiento (11).

La quimioterapia puede ser adyuvante o neoadyuvante, en función del momento en que se aplique. La primera se refiere a su administración posterior a haber extirpado el tumor en su totalidad y se hace con la intención de eliminar células malignas residuales locales o circulantes para así evitar la recurrencia del cáncer. La terapia neoadyuvante consiste en la administración de quimioterapia previa a la resección del tumor con el objetivo principal de reducir de forma importante el tamaño de la masa tumoral para facilitar su resección completa. La quimioterapia neoadyuvante puede darnos una idea de qué tan sensible es el tumor a la quimioterapia al ver su efecto sobre él y, en ocasiones, puede eliminar el tumor por completo (3).

Terapia hormonal

Esta terapia es principalmente utilizada con la intención de evitar la proliferación de células malignas residuales locales o circulantes que hubiesen quedado tras la resección del tumor, ya que hay evidencia de que algunos tumores mamarios son dependientes de las hormonas sexuales esteroideas (en especial estrógenos), particularmente los que presentan expresión de receptores hormonales. En estas pacientes este tipo de terapia reduce significativamente el riesgo de recurrencia del cáncer (3).

Terapia dirigida a blancos moleculares

Es un tipo de tratamiento para el que se utilizan agentes que atacan procesos biológicos exacerbados en las células cancerosas, de forma que se obtenga un efecto terapéutico sobre el tumor a la vez que se reduzca el daño en células normales. Algunos de estos tratamientos son los anticuerpos monoclonales (como el dirigido contra HER-2), inhibidores de la tirosina kinasa e inhibidores de la poli (ADP-ribosa) polimerasa (PARP) (1,3).

Marcadores en cáncer de mama

Los marcadores tumorales (MT) son indicadores bioquímicos de presencia de tumor, o de alguna característica del mismo. Corresponden a antígenos de la superficie celular, su citoplasma, enzimas u hormonas, por lo que es posible afirmar que casi cualquier proteína de la célula tumoral puede ser un marcador en potencia. Para detectar MT, se emplean principalmente técnicas de inmunohistoquímica (IHQ) e inmunoensayo enzimático (ELISA). Cuando se busca el marcador en tejido, particularmente en tejido embebido en parafina como el que se emplea para el diagnóstico histopatológico de rutina, se emplea IHQ. En fluidos como el plasma sanguíneo se emplea ELISA (11).

Entre los marcadores más empleados en el carcinoma de mama se encuentra la MUC1, detectada en sangre como Ca15.3, una proteína mucina que interviene en la morfogénesis del epitelio. Es utilizada en el diagnóstico de metástasis así como para monitorear la respuesta a la terapéutica endocrina o de quimioterapia en la enfermedad avanzada. No es específica de cáncer de mama, ya que un porcentaje de pacientes con cáncer de ovario, páncreas y próstata también presentan elevación en los niveles de Ca15.3. Se ha encontrado que el 50% de pacientes con cáncer de mama en estadio IV y entre 10 y 20% con estadio II presentan valores elevados de este marcador. El marcador Ca15.3 se mide en suero mediante ELISA y se usa para monitorizar a los pacientes tras el tratamiento para identificar recidivas (11,12). Los principales marcadores identificados por IHQ son los receptores de estrógenos (RE), receptores de progesterona (RP), HER-2, Ki67 y p53. Los tres primeros ya se han comentado previamente. Ki67 es una proteína nucleolar que se asocia a la periferia de los cromosomas tras la replicación del ADN y que se expresa en todas las fases del ciclo celular asociadas a la reproducción de la célula (8,11,13). Dado el papel central de la proliferación celular como proceso biológico en la evolución y progresión del carcinoma mamario, Ki67 muestra relación con el pronóstico y la respuesta a tratamiento en el cáncer de mama. Por su parte, p53 es una proteína implicada en la regulación del ciclo celular y su expresión se asocia a un subgrupo de carcinomas mamarios de evolución agresiva y mal pronóstico (8,11).

Como se ha expuesto, los marcadores tumorales pueden tener diversos papeles en el manejo y estudio del cáncer en general y del carcinoma mamario en particular. Así, hay marcadores con utilidad principalmente diagnóstica, por ejemplo, indicadores de presencia recurrente de un cáncer; o marcadores con valor pronóstico o de respuesta a tratamiento. Un punto particular, relevante para el presente trabajo, es la distinción entre marcadores pronósticos y predictivos en cáncer. Un marcador predictivo es aquel que nos permite anticipar el desenlace de la enfermedad en un paciente en su evolución natural, mientras que un marcador pronóstico nos permite identificar pacientes que responderán a una intervención terapéutica específica contra el tumor; pronóstica, pues, la respuesta a tratamiento (3).

En las últimas tres décadas, el avance de la biología molecular y del diagnóstico inmunohistoquímico han permitido descubrir nuevos marcadores que otorgan información importante acerca del comportamiento biológico del cáncer de mama y las posibilidades de respuesta a las terapias química, radiológica y quirúrgica (4,9).

Desde finales del siglo XX, las técnicas de IHQ han permitido evaluar la susceptibilidad del carcinoma de mama y su respuesta a algunas terapias; por ejemplo, la sensibilidad a la hormonoterapia en tumores que expresan receptores hormonales, o a anticuerpos monoclonales en tumores con sobreexpresión de HER-2.

Del mismo modo, en ese periodo se desarrollaron metodologías genómicas y proteómicas que han ampliado nuestra visión de la biología del cáncer de mama. Así, el grupo de Stanford ha propuesto una nueva taxonomía del cáncer de mama basada en sus perfiles de expresión génica. En ella se contemplan cuatro grandes subclases de cáncer de mama: la luminal, la semejante a la mama normal (“normal-like”), la de tipo basal (“basal-like”), y la relacionada a HER-2/neu (9,14,15). Estas subclases muestran claras diferencias en pronóstico y respuesta a tratamiento, y es interesante constatar que los principales marcadores empleados en tejido y comentados arriba, constituyen la expresión a nivel tisular de los principales grupos de genes de los que se deriva esta nueva taxonomía (9,14,15).

Las metodologías genómicas también se han utilizado para definir perfiles génicos de respuesta a la quimioterapia, lo que ha dado paso a la identificación no sólo de perfiles génicos, sino también de nuevos potenciales biomarcadores con valor predictivo (16).

La karyopherina $\alpha 2$ como potencial marcador en cáncer de mama

La karyopherina $\alpha 2$ (KPNA2) es una proteína nuclear con actividad en el transporte de sustancias al interior del núcleo y que interactúa con los sistemas de reparación del ADN. Es un miembro de la familia de la importina $\alpha 1$ que desempeña un papel central en el transporte hacia el nucleoplasma e interactúa físicamente con las proteínas de los poros nucleares encargadas de este proceso. KPNA2 es el único miembro de su familia que interactúa con el gen NBS1 (Síndrome de ruptura Nijmegen) (17). Dicho gen está asociado a la predisposición al cáncer, a la radiosensibilidad, y podría tener impacto en el efecto de agentes antineoplásicos como los empleados en la quimioterapia. Participa en la reparación de rupturas de la doble cadena del ADN, uno de los mecanismos de acción de estos agentes terapéuticos. Varios estudios de expresión genómica han demostrado la sobreexpresión de KPNA2 a nivel de ARN y proteínas en tejido de casos de cáncer mamario (18). Este hecho ha dado pauta para evaluar su expresión en lesiones preinvasivas e invasivas de cáncer de mama como factor pronóstico mediante IHQ (18). En otro estudio, un grupo diferente de investigadores evaluó una serie de muestras de cáncer de mama en busca de un perfil de expresión genómica que pudiera predecir la respuesta a la quimioterapia con FAC-T. Entre los genes identificados como parte del perfil útil para discriminar entre las pacientes que respondieron y que no respondieron a quimioterapia se encuentra la KPNA2 (19). Sin embargo, hasta el momento no se ha evaluado a la KPNA2 como un marcador de respuesta a la quimioterapia, mediante inmunohistoquímica. La IHQ puede emplearse para evaluar la potencial aplicación de este tipo de biomarcadores en el cáncer de mama, de forma semejante a lo que ha ocurrido con los receptores hormonales y HER-2, con la ventaja de ser una metodología accesible y de bajo

costo, a diferencia de las metodologías genómica y proteómicas con que se identificó inicialmente la KPNA2.

En el presente trabajo se pretende evaluar la expresión de KPNA2 como potencial marcador con valor predictivo en el tratamiento del cáncer de mama, mediante microarreglos de tejido (MAT) y por IHQ. Para tal efecto, se compara su expresión en casos de cáncer de mama asociados a la presencia de respuesta a quimioterapia contra su expresión en casos con ausencia de respuesta a la misma. Los tratamientos de quimioterapia considerados son los basados en ciclofosfamida, 5-fluororacilo y antraciclinas (FAC/FEC) con o sin la adición de taxanos (FAC-T/FEC-T).

OBJETIVO

Evaluar la utilidad predictiva de la KPNA2 en el carcinoma de mama tratado con esquemas de quimioterapia basados en antraciclinas y taxanos, mediante inmunohistoquímica en microarreglos de tejido.

MATERIAL Y MÉTODOS

Población de estudio

El estudio se enfocó en las pacientes del Instituto Nacional de Cancerología (INCAN) diagnosticadas con cáncer de mama entre 2003 y 2005, con seguimiento hasta 2010, y tratadas con esquemas de quimioterapia basados en antraciclinas y taxanos. Se emplearon los criterios indicados abajo.

Criterios de inclusión:

1. Contar con diagnóstico histopatológico de carcinoma mamario realizado entre enero de 2003 y junio de 2005.
2. Contar con muestras del tejido tumoral en bloque de parafina obtenido previo al tratamiento con quimioterapia.
3. Contar con expediente completo.
4. Haber recibido de 3 a 6 ciclos de quimioterapia con FAC, FEC, FAC-T o FEC-T.

Criterios de exclusión:

Se excluyeron pacientes con los siguientes criterios:

1. Presentar algún síndrome hereditario de neoplasias malignas, exceptuando las formas familiares de carcinoma de mama asociadas a los genes BRCA.
2. Haber recibido un esquema de quimioterapia diferente a FAC/FEC-T incluso en combinación con éstos.

Información clínica

Del expediente de cada paciente se tomaron los siguientes datos:

- Fecha de nacimiento, con la cual se calcula la edad de la paciente al momento del diagnóstico.
- Antecedentes personales patológicos.
- Datos de la menarca de la paciente.
- Número de embarazos.
- Tratamientos hormonales.
- Antecedentes patológicos de cáncer en familiares.
- Fecha del diagnóstico histopatológico inicial de cáncer mamario.
- Estatus de los receptores hormonales (Receptor de estrógenos y Receptor de progesterona) y HER-2, si se contaba con ellos.
- TNM clínico (Estadificación con base en la información clínica, no patológica, del tumor de la paciente, como exploración y estudios de imagen).
- pTNM (Estadificación patológica con base en el espécimen de resección).
- Esquema y modalidad de la quimioterapia (adyuvante o neoadyuvante; FAC, FEC, FAC-T o FEC-T).
- Presentación y fecha de recidiva si la hubo.
- Fecha de última revisión del expediente.
- Presencia o ausencia de actividad de la enfermedad en la última revisión.
- Fecha del deceso, si era el caso.

La postulante del presente trabajo obtuvo los datos del expediente para garantizar la independencia entre estos datos y los obtenidos por el patólogo del análisis histopatológico de las reacciones de inmunohistoquímica, siguiendo las recomendaciones que son necesarias para un estudio a ciego.

Para el análisis de los datos, se definió como respuesta a la quimioterapia:

- La ausencia de recurrencia en las pacientes que recibieron QT adyuvante, y
- La eliminación completa del tumor tras la administración de la quimioterapia neoadyuvante (respuesta completa patológica), quedando a lo sumo escasos grupos microscópicos de células neoplásicas.

Durante la recolección de datos se revisó el número de pacientes con y sin respuesta a tratamiento, para determinar si se contaba con el mínimo necesario para obtener significancia estadística.

Información histopatológica

Se evaluaron los datos histopatológicos de todas las pacientes, empleando nuevos cortes histológicos de los casos obtenidos de los bloques de parafina pretratamiento. Se obtuvieron los siguientes datos:

- Tipo histológico del tumor.
- Tamaño del tumor al momento del diagnóstico.
- Grado histológico (escala de Scarff-Bloom-Richardson, SBR).
- Invasión vascular o linfática peritumoral (presencia o ausencia).
- Estatus ganglionar (presencia o ausencia de metástasis en ganglios linfáticos).

Todos estos parámetros a reevaluar son factores de riesgo bien reconocidos en la recurrencia o progresión del cáncer de mama. La relevancia de reevaluarlos radica en que si estos factores se hubieran hallado distribuidos en forma desigual entre los dos grupos que se compararon (pacientes que muestran respuesta a la QT con los que no), la diferencia que pudiera haber en la expresión de KPNA2 entre esos dos grupos podría explicarse, al menos en parte, por estos factores de riesgo. Si se deseaba evaluar si la presencia o ausencia de KPNA2 se relacionaba con la respuesta a quimioterapia, debíamos trabajar con grupos en los que se hallaran balanceados estos factores de riesgo.

El grado histológico de los carcinomas mamarios se evaluó con base en los siguientes tres parámetros, obtenidos de la observación y análisis del tejido tumoral al microscopio:

Tabla 3: Escala de Scarff-Bloom-Richardson (SBR)

PARÁMETRO	DESCRIPCIÓN	PUNTOS
Formación de glándulas	<10% del área del tumor forma glándulas	3
	10 a 75% del área del tumor forma glándulas	2
	>75% del área del tumor forma glándulas	1
Grado nuclear	Variación acentuada del tamaño nuclear y presencia de nucléolos	3
	Variación moderada del tamaño nuclear y presencia ocasional de nucléolos	2
	Escasa variación del tamaño nuclear	1
Mitosis	>10 mitosis en 10 campos 40x	3
	6-10 mitosis en 10 campos 40x	2
	<5 mitosis en 10 campos 40x	1

Nota: Para obtener el grado histológico se sumó la calificación asignada al tumor en cada uno de estos tres parámetros; así, se obtuvo el índice SBR que tiene valores mínimos de 3 y máximos de 9 (6).

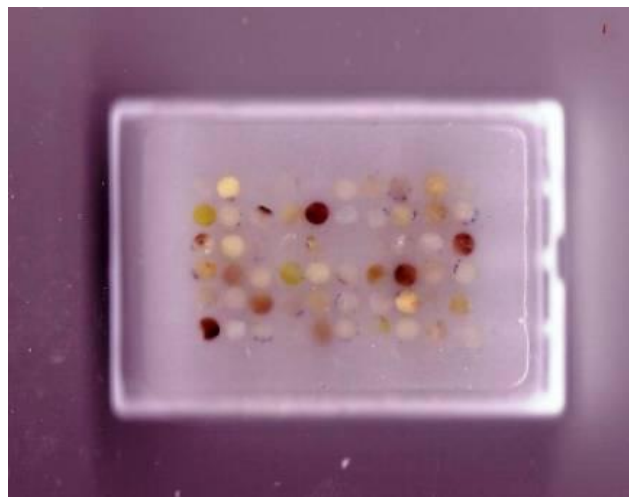
Microarreglos de tejido

Elaboración de microarreglos de tejido

De los nuevos cortes histopatológicos obtenidos del tumor, se empleó el último corte para seleccionar el tejido para la elaboración de los MAT (microarreglos de tejido), con el fin de garantizar que las áreas de tumor identificadas para elaborar los MAT estuvieran representadas fielmente en el bloque de parafina correspondiente.

Se seleccionaron uno o dos bloques por cada caso y en ellos se identificaron áreas de tumor bien preservado. Se tomaron tres cilindros de estas áreas, cada uno de 2 mm de diámetro, y se colocaron en el microarreglo. Estos tres cilindros sirven como control interno de homogeneidad de la reacción. Se incluyen además tejidos de tumores específicos como controles positivos para cada uno de los marcadores. Los MAT se prepararon de forma manual (20).

Fig. 2: Fotografía de un microarreglo



Fuente: INCAN.

Microarreglo de tejido que contiene tejido de 20 tumores diferentes, cada uno representado en tres de los cilindros (fragmentos de tejido) que se observan en el bloque de esta imagen.

Reacciones con la técnica de inmunohistoquímica (IHQ)

Una vez preparados los MAT, se obtuvieron cortes histológicos de los mismos, así como de controles positivos y negativos previamente identificados, para realizar las reacciones de IHQ contra KPNA2. Se empleó el método convencional de avidina-biotina-peroxidasa, para lo cual se hizo uso de un kit comercial. La técnica completa se expone a continuación:

1. Los cortes histológicos de los MAT se desparafinaron e hidrataron.
2. Se sometieron a un procedimiento de recuperación antigénica en solución recuperadora (Universal Decloaker Solution, Biocare Medical, Concord, CA, Estados Unidos), bajo presión y temperatura de acuerdo a las especificaciones del fabricante.
3. Se realizó el bloqueo de la peroxidasa endógena con el reactivo de bloqueo correspondiente (LSAB™ + Kit/HRP, Dako Corp, Carpinteria, CA, Estados Unidos).
4. Se incubó 30 minutos a temperatura ambiente con el anticuerpo primario a una concentración de 1:250 (anticuerpo policlonal anti KPNA2 humana, hecho en cabra, Santa Cruz, Biotechnology, Santa Cruz, CA, Estados Unidos). Se empleó diluyente para anticuerpos específico para inmunohistoquímica (DaVinci Green Diluent, Biocare Medical, Concord, CA, Estados Unidos), con el fin de llevar el anticuerpo a la concentración indicada. Con este reactivo, tal como lo indica el fabricante, se obtuvo a la vez el bloqueo de la laminilla con proteínas para evitar interacciones inespecíficas del anticuerpo.
5. Se incubó 30 minutos con el anticuerpo secundario universal marcado con biotina (LSAB™ + Kit/HRP, Dako Corp, Carpinteria, CA, Estados Unidos).
6. Se aplicaron los reactivos de detección (estreptavidina marcada con peroxidasa) y revelado (solución de diaminobencidina más peróxido de

hidrógeno) del kit de acuerdo a las instrucciones del mismo (LSAB™ + Kit/HRP, Dako Corp, Carpinteria, CA, Estados Unidos).

7. Se realizó contratinción con Hematoxilina de Harris, se deshidrataron los cortes y se montaron con resina.

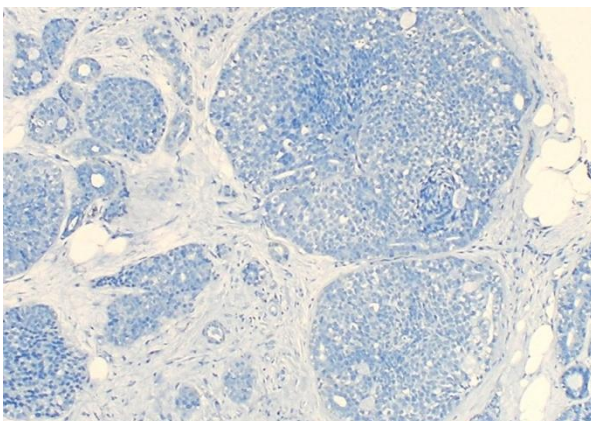
Fig. 3: Laminillas de las reacciones de inmunohistoquímica



Fuente: INCAN.

Reacciones de IHQ contra KPNA2 realizadas en 2 diferentes microarreglos de tejido. Se observa en la imagen en cada laminilla el corte del microarreglo, y en la parte inferior los controles positivo y negativo para la reacción.

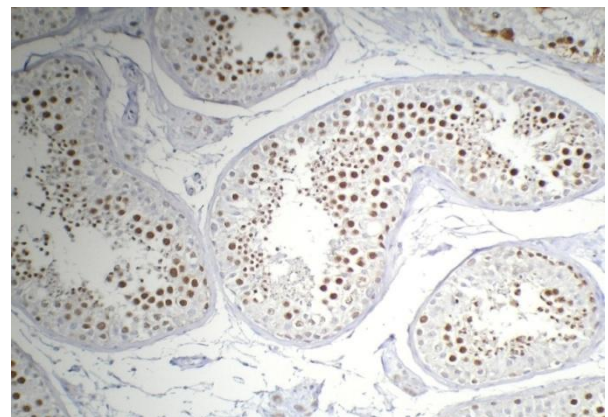
Fig. 4: Control negativo de KPNA2



Fuente: INCAN.

En este control se advierte la ausencia de núcleos positivos a la reacción. Magnificación 200x.

Fig. 5: Control positivo de KPNA2



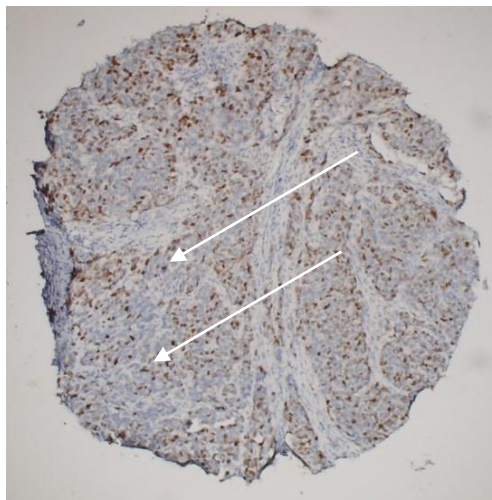
Fuente: INCAN.

En este control se advierten los núcleos positivos a la reacción (color café). Magnificación 300x.

Evaluación histopatológica con la técnica de inmunohistoquímica (IHQ)

En todos los casos hubo concordancia en la positividad e intensidad de la reacción entre los tres cilindros en el MAT. La evaluación se realiza bajo ciego, es decir, sin conocer los datos clínicos de cada caso (participación de la postulante en la investigación global). Los datos recabados son resguardados a fin de mantener el ciego en la evaluación. La evaluación fue llevada a cabo en el laboratorio de Biomembranas en la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del Instituto Politécnico Nacional (IPN). Se evaluó el número absoluto de células positivas y su porcentaje derivado del análisis de dos campos 40x por cada cilindro de cada MAT. Se empleó un microscopio con sistema de captura de imágenes conectado a una computadora y el software de análisis de la imagen proporcionado por el fabricante (Axio Vision, Carl Zeiss, Alemania). Con él se hizo, de forma automática, primero la detección de núcleos positivos por diferencia de color (núcleos positivos a KPNA2 en color café) y posteriormente su conteo. Del mismo modo se identificaron los núcleos negativos (núcleos negativos en azul). Se obtuvo el porcentaje de núcleos positivos al dividir el número de núcleos positivos entre el total de núcleos (positivos y negativos).

Fig. 6: Reacción de IHQ en un cilindro de tejido correspondiente a uno de los casos

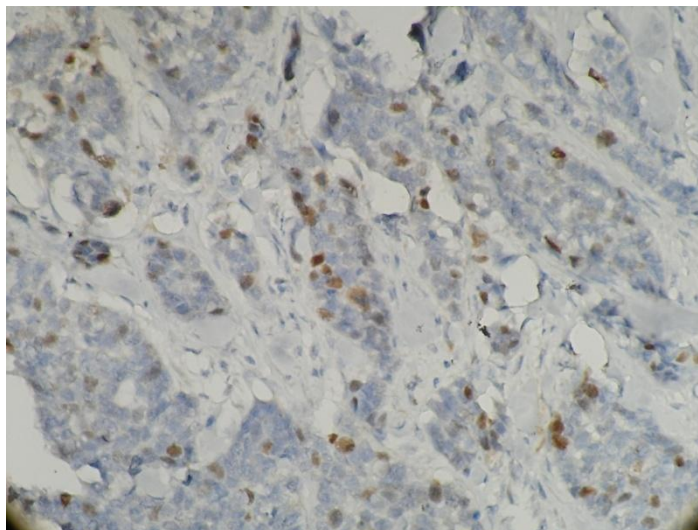


Fuente: INCAN.

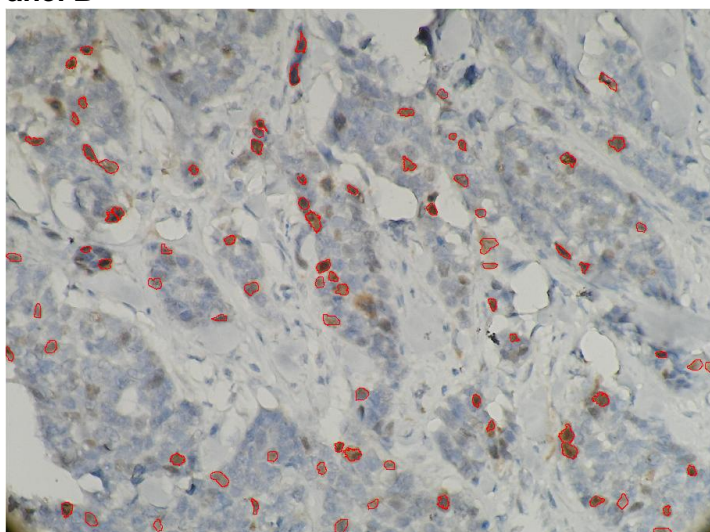
Se observan ya desde este aumento los núcleos positivos (puntos de color marrón señalados por las flechas). Magnificación 100x.

Fig. 7: Evaluación de las reacciones de IHQ

Panel A



Panel B



Fuente: INCAN.

Acercamiento de un cilindro de tejido en el que se observan los núcleos positivos (Panel A) y la detección correspondiente (Panel B) obtenida mediante el análisis de imágenes en donde cada núcleo positivo identificado se marca delimitándolo con una línea roja. (Magnificación 400x).

Se empleó un microscopio con sistema de captura de imágenes conectado a una computadora y el software de análisis de la imagen proporcionado por el fabricante (Axio Vision, Carl Zeiss, Alemania).

Análisis estadístico

Se realizó el cálculo de la N requerida para identificar una diferencia estadísticamente significativa, partiendo de los datos informados en la literatura, 30% de casos positivos a KPNA2 y 15% como tasa de respuesta a la QT. Tomando un error α de 0.05 y un poder de 0.8, la N requerida que se obtuvo fue de 17.

Se realizó un análisis descriptivo de las características relevantes de las pacientes. Se compararon edad de las pacientes, tamaño del tumor al momento del diagnóstico, grado histológico, estadio TNM (previo a la quimioterapia), presencia de permeación vascular y estatus ganglionar, y estatus de receptores hormonales, como factores pronósticos, entre las pacientes que presentaron respuesta al tratamiento y las que no. Se emplearon los estadísticos de ANOVA para la edad y Chi cuadrada para el resto de las variables en estas comparaciones. Se comparó el número absoluto de células positivas así como su porcentaje entre las pacientes que presentaron respuesta al tratamiento y las que no. En la comparación de porcentajes se estableció un punto de corte de 10% para considerar positiva la reacción, de acuerdo a lo descrito en la literatura (18). Se emplearon las pruebas de ANOVA y Chi cuadrada respectivamente para estas comparaciones. Se utilizó el programa SPSS versión 17.0 (SPSS, IBM, NY, Estados Unidos).

ACTIVIDAD REALIZADA COMO APOYO A LA INVESTIGACIÓN

En primer lugar, el presente trabajo consiste en una colaboración en la investigación que dirige el M. en C. Héctor A. Maldonado Martínez en el Instituto Nacional de Cancerología (INCAN). La finalidad principal es evaluar, a nivel de expresión proteica, la utilidad de diferentes potenciales marcadores predictivos de respuesta a la quimioterapia en el cáncer de mama, aplicando la tecnología de microarreglos de tejido (MAT) e IHQ. Entre estos marcadores se halla la KPNA2. En cuanto a la metodología para lograr este objetivo, se hace bajo ciego la comparación a nivel de proteínas de la expresión de los potenciales marcadores entre pacientes con y sin respuesta a los esquemas estándar de quimioterapia, e incluyendo como parte del análisis los hallazgos clínico-patológicos en las pacientes. Lo anterior podría llevar a establecer algunas de las proteínas evaluadas como marcadores candidatos a validación clínica, con la ventaja de basarse en metodologías accesibles y de bajo costo como la IHQ.

En segundo lugar, uno de los objetivos al participar en esta investigación, con base en el diseño metodológico del proyecto, fue lograr mantener bajo ciego los datos clínicos de las 62 pacientes incluidas en el estudio durante la evaluación de KPNA2, ya que cuando en un estudio de investigación el patólogo conoce el perfil de las pacientes, podría sesgar los datos de conteo de células positivas al marcador en cuestión. Así, al entrecruzar al final los datos obtenidos de la revisión patológica de la IHQ y los datos clínicos de las pacientes (respuesta a la QT, tipo de esquema, tamaño del tumor, etc.), se puede garantizar que no hay manipulación de los resultados. En eso consistió mi intervención directa en la investigación del M. en C. Héctor Maldonado. Por otro lado, la presente colaboración permite a quien esto escribe retomar el tema de la inmunohistoquímica (IHQ) y aproximarse al avance que en los últimos veinte años ha tenido en el campo de la patología, ya que, en el año de 1986, fui partícipe del inicio del primer laboratorio de IHQ del INCAN, bajo la

dirección de la Dra. Arcelia Mora Tiscareño, encargada entonces del Departamento de Patología de dicha institución.

En tercer lugar, durante los años de preparación en la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), los temas en el área biomédica fueron siempre mi interés central, por estar ligados a la salud humana, seguidos por el reto que representa la observación de la historia natural de la enfermedad, su génesis, evolución y el estudio de sus niveles de prevención.

En cuarto lugar, en los Institutos Nacionales de Salud, al igual que en los Institutos de Investigación de la UNAM, es posible observar equipos multidisciplinarios de profesionales, tales como biólogos, médicos, químicos, físicos, sociólogos, psicólogos e investigadores de otras áreas, que trabajan en torno al estudio de un problema común: las enfermedades y sus causas, tratamientos, comportamientos biológico, molecular, bioquímico, inmunológico, patológico, etc., con la intención de sumar los hallazgos de las investigaciones al bienestar humano. Sirva, pues, esta participación como un modesto apoyo al trabajo de las personas ya mencionadas.

Para la realización del presente trabajo fue necesario emprender, bajo la tutoría del M. en C. Maldonado, una revisión bibliográfica en torno al cáncer de mama y de algunas de las investigaciones sobre la KPNA2. Estos artículos fueron la base para el sustento teórico y práctico; de ellos se extrajeron citas que permitieron en primer lugar comprender los principales conceptos en torno a la génesis del cáncer, diagnóstico, tratamiento y seguimiento de pacientes con cáncer de mama, a la vez que contextualizar en este marco el papel de la proteína KPNA2, así como la base teórica de las técnicas y nuevas metodologías empleadas. Así, pude conocer, también a través de la literatura citada, grupos diferentes de investigadores ocupados en estas líneas de investigación. Se puede afirmar que el planteamiento del trabajo es original, ya que la KPNA2 no ha sido utilizada como marcador en tejido tumoral con la finalidad de validar su presencia frente a la respuesta al tratamiento con QT y, por lo tanto, es novedoso y útil buscar su valor predictivo a QT.

La literatura especializada me acercó, del mismo modo, a los sustentos teóricos de la línea de cada grupo de investigación en torno al tratamiento con

quimioterapia, así como acercarme, aunque someramente, a la biología molecular, genética e inmunología tumoral. En este sentido, fue sorprendente descubrir el avance en el estudio e investigación proteómica, y lo mucho que resta por revelar no solamente del interior de la célula, sino la vastedad en las posibilidades de estudio de la información contenida en la superficie celular y matriz extracelular, enorme ventana en ciencias biomédicas para el siglo XXI.

Asistí en numerosas ocasiones al Instituto Nacional de Cancerología para revisar los expedientes seleccionados previamente por el M. en C. Maldonado; de ellos extraje los datos que serían utilizados en el estudio estadístico. Los expedientes fueron revisados tanto físicamente como en formato electrónico; en una fase inicial, la captura de los datos se concentró en una hoja de cálculo. Al terminar la revisión de los expedientes, procedí a la asignación de claves para cada rubro capturado, de manera que las claves pudieran ser utilizadas en el paquete estadístico. Así, una fase importante del trabajo fue el manejo de los expedientes clínicos, que conllevó el proceso de familiarización con la terminología clínica citada por los médicos (siempre con el apoyo y bajo la asesoría del M. en C. Maldonado), y la observación del valor que tienen la relatoría del estado clínico y psicológico de la paciente, y de un estimado de sobrevida, según el caso. Haber tenido la oportunidad de acercarse a las personas por medio de sus expedientes, de observar el curso natural de la enfermedad, de tener acceso a los comentarios de los familiares de una paciente con una sobrevida limitada o en etapa terminal, fue muy iluminador para apreciar aún más el trabajo de los equipos de expertos que diagnostican, tratan y reintegran socialmente a las pacientes, en especial cuando éstas han tenido que sufrir una operación de una o ambas mamas. A partir de esta experiencia, se ha reiniciado en mí la intención de continuar en la línea de investigación biomédica.

Además de las visitas al INCAN con la finalidad de analizar los expedientes, también asistí en otras ocasiones para observar y conocer de forma directa las variantes que se han integrado durante los últimos años a las técnicas de inmunohistoquímica. En este sentido, uno de los mayores aprendizajes tuvo lugar en particular en cuanto a las modificaciones al proceso de realización de la IHQ; me refiero en primera instancia al pretratamiento que se da al tejido que está ya fijado en la laminilla, y la detección y revelado de la misma para poder visualizar los antígenos que se buscan (razón de ser de la IHQ). En cuanto al pretratamiento,

aprendí que en algunos casos se continúa optando por la utilización de enzimas proteolíticas y soluciones amortiguadoras como anteriormente se hacía, pero a temperaturas más elevadas; menos frecuentemente se emplean técnicas con reactivos ácido-base. En relación a la detección y revelado, actualicé mis conocimientos: ahora se emplean principalmente polímeros a los que se han unido inmunoglobulinas contra anticuerpos de las diferentes especies animales en las que se elaboran los anticuerpos primarios. Corroboré, además, que continúa siendo parte de una práctica de excelencia el tiempo justo de revelado, y que, por ello, cuando el revelado se hace de forma manual, es la experiencia de la persona que realiza la inmunohistoquímica la que permite un resultado de calidad en la tinción obtenida. En el caso de los sistemas automatizados que ahora se emplean, esta labor particular del revelado se facilita, aunque conlleva una estandarización previa del tiempo de la misma.

Otro aprendizaje adquirido en cuanto a los avances en la realización de la IHQ, se refiere a las variantes en las cajas para incubar el tejido fijado a la laminilla con los anticuerpos y demás reactivos durante la realización de la IHQ; ahora se requieren sólo cantidades pequeñas de los reactivos, empleando el principio de capilaridad. Asimismo, conocí uno de los nuevos sistemas automáticos para IHQ, que han ayudado a hacer más eficiente y rápida esta técnica, así como los puntos críticos de la misma, como el propio revelado, que ya se comentó.

Observé también la metodología para realizar los microarreglos de tejido, que es un avance de la última década y una herramienta que permite al experto visualizar cientos de cortes de tejidos, ya sea del mismo paciente o bien de diferentes pacientes en una misma laminilla. Esta nueva metodología brinda la oportunidad de homogeneizar para todos esos tejidos las condiciones de realización de la IHQ y, por lo tanto, se eliminan metodológicamente las diferencias que pudiese haber entre laminilla y laminilla en el manejo individual. Otra ventaja es el poder comparar al mismo tiempo y en la misma laminilla el resultado, facilitando la lectura microscópica. A la vez, permite economizar mucho en reactivos. También tuve la experiencia de observar cómo se elaboran dichos microarreglos, tales como los empleados en el presente trabajo, y la forma en que se obtienen los fragmentos de tejido de diferentes bloques de parafina y se incluyen todos en un nuevo bloque de parafina.

El intercambio de información y discusión de los resultados con el M. en C. Maldonado, me permitieron esclarecer dudas tanto metodológicas como teóricas alrededor del tema, profundizar con mayor detalle en la teoría de los marcadores en tejido fijado utilizados en la investigación oncológica, así como en el alcance de su aplicación en el contexto clínico en un entorno como el del Instituto Nacional de Cancerología.

RESULTADOS

Se revisaron más de 150 casos, de los cuales 62 cumplían con los criterios de selección ya comentados. De éstos no fue posible evaluar 3 debido a pérdida de tejido en el proceso de la inmunohistoquímica. Se presentan los datos de los 59 restantes.

En cuanto a la información clínica, 28 pacientes (47.45%) tenían antecedentes familiares de cáncer de cualquier órgano y 11 (18.64%) antecedentes familiares de cáncer de mama. La edad promedio de las pacientes al momento del diagnóstico fue de 47.8 años (edad mínima 27, edad máxima 69); 29 (49.2%) eran postmenopáusicas, 26 (44.1%) premenopáusicas y de 4 no se obtuvo la información. En cuanto al estadio clínico inicial, 5 pacientes (8.5%) tenían estadio I, 24 (40.7%) estadio IIA, 18 (30.5%) estadio IIB, 10 (16.9%) estadio IIIA, 1 (1.7%) estadio IV y en un caso no se contó con el estadio. 39 pacientes (66.1%) recibieron QT adyuvante y 20 (33.9%) neoadyuvante. 45 de las pacientes (76.3%) recibieron FAC como esquema de QT y 14 (23.7%) FAC-T; de las pacientes con QT adyuvante, 36 (92.3%) recibieron FAC y 3 (7.7%) FAC-T, mientras que de las pacientes con QT neoadyuvante, 9 (45%) recibieron FAC y 11 (55%) recibieron FAC-T. El seguimiento promedio fue de 58.33 meses (mínimo de 23 y máximo de 86).

En relación a la evaluación histopatológica, el diagnóstico fue de carcinoma ductal en 54 pacientes (91.5%) y de carcinoma lobulillar en 5 (8.47%). En 34 casos (57.6%) el tumor se presentó en la glándula mamaria izquierda, en 22 (37.3%) en la derecha y en 3 no se consignó esa información. El tamaño promedio de los tumores mamarios al momento del diagnóstico fue de 3.04 cm (mínimo de 0.5 cm y máximo de 10 cm). 14 (23.7%) de los casos tuvieron bajo grado histológico (SBR 3 a 5), 18 casos (30.5%) grado intermedio (SBR 6 o 7) y 27 casos (45.8%) grado histológico alto (SBR 8 o 9). En cuanto a la invasión vascular peritumoral, 20 casos (33.9%) la presentaban y en el restante 66.1% de los casos (39 pacientes) se hallaba ausente. 42 pacientes (71.2%) mostraban metástasis ganglionares al momento del diagnóstico, 15 (25.4%) no las tenían y en 2 pacientes no se pudo recabar ese dato.

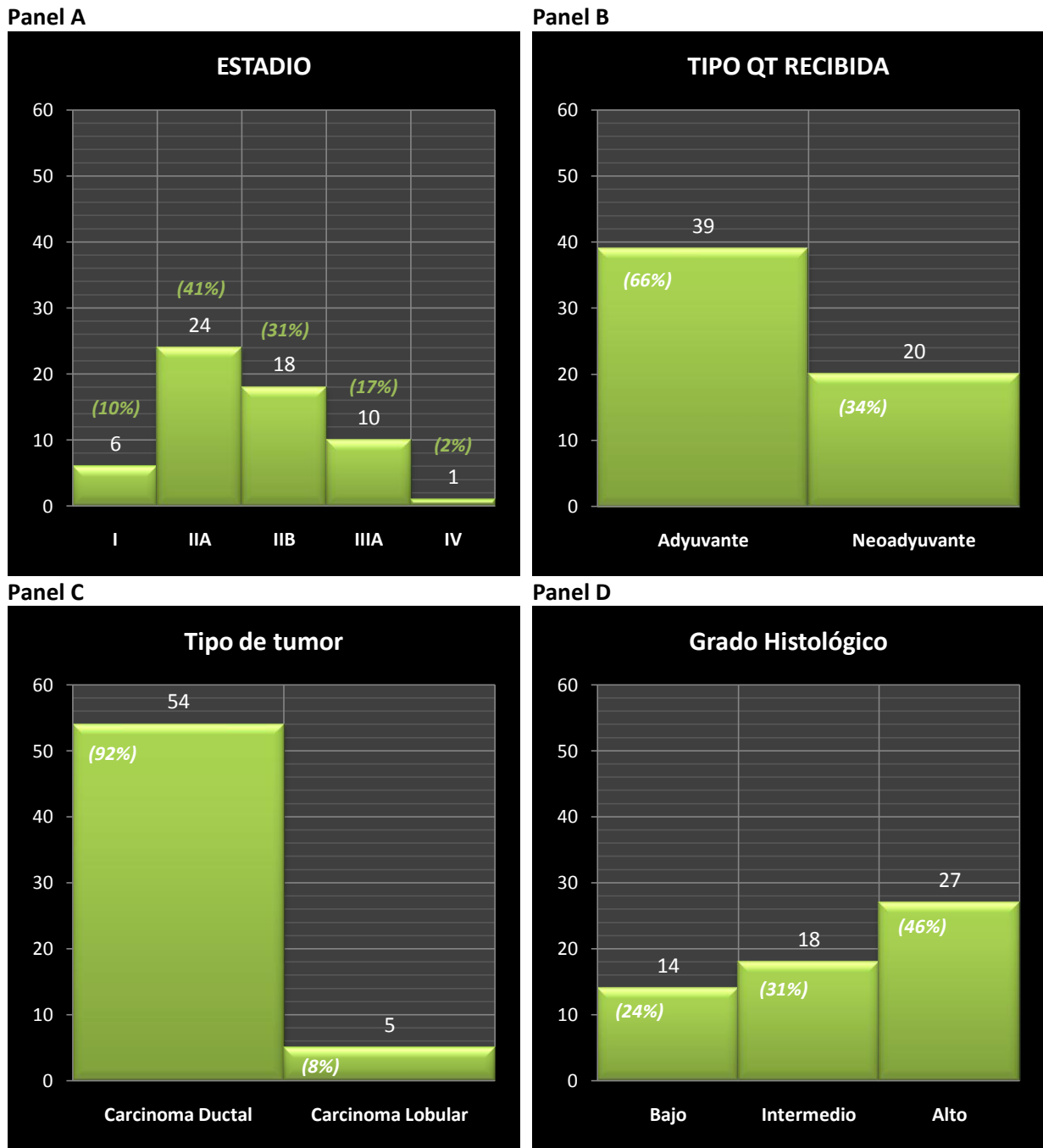
Los receptores hormonales se hallaron negativos en los tumores de 21 pacientes (35.6%) y positivos en los otros 38 (64.4%). Muy pocas pacientes contaban con determinación HER-2, de manera que los datos recabados no fueron informativos para esta variable.

El porcentaje de pacientes con respuesta fue de 71.2% (42 casos). De los 17 casos (28.8%) sin respuesta al tratamiento, 14 (23.7%) presentaron recurrencia. Se analizaron los factores de riesgo para recurrencia, otros factores biológicos como el estatus de receptores hormonales y la administración de radioterapia además de la QT, entre los grupos con y sin respuesta al tratamiento, para determinar si podrían influir en los resultados obtenidos, de acuerdo a lo comentado como nota al pie de la Tabla 4. Para este análisis se realizaron pruebas de Chi cuadrada para las variables no paramétricas y prueba de T para el contraste de las variables paramétricas. Sólo se observó diferencia en la edad al momento del diagnóstico ($p=0.016$; medias: 49.52 en pacientes con respuesta contra 43.38 en pacientes sin respuesta al tratamiento). Los datos y resultados de estas comparaciones se muestran en la Tabla 4.

Tampoco se observaron diferencias en la proporción de pacientes que recibieron esquemas de FAC o FAC-T entre los grupos con y sin respuesta a la QT, haciendo un análisis semejante.

Finalmente, se evaluó la expresión de KPNA2. En todos los casos hubo concordancia entre los tres cilindros de cada caso en cuanto a la intensidad y presencia de tinción en la reacción de IHQ. La expresión global de este marcador en las pacientes fue en promedio de 39.06 núcleos positivos por campo 40x y 7.16% de células positivas. En las pacientes con respuesta a la QT se observaron 37.83 núcleos positivos por campo 40x y 6.79% de células positivas, mientras que en las pacientes sin respuesta se contaron 42.11 núcleos positivos por campo y 8.03% de células positivas. Al realizar las comparaciones no se observaron diferencias estadísticamente significativas ni por número de núcleos positivos por campo ($p=0.768$) ni por porcentaje de células positivas ($p=0.572$).

Fig. 8: Gráfica comparativa de los datos generales considerados relevantes en los 59 casos de estudio



Información clínica relevante de la población de estudio. Distribución del total de las pacientes por estadios (Panel A); tipo de QT recibida (Panel B); tipo histológico del tumor (Panel C) y grado histológico del tumor (Panel D). Todas las graficas representan el número absoluto de casos correspondientes en el rubro indicado, y entre paréntesis se incluye el porcentaje a que corresponde tal número del total de las pacientes.

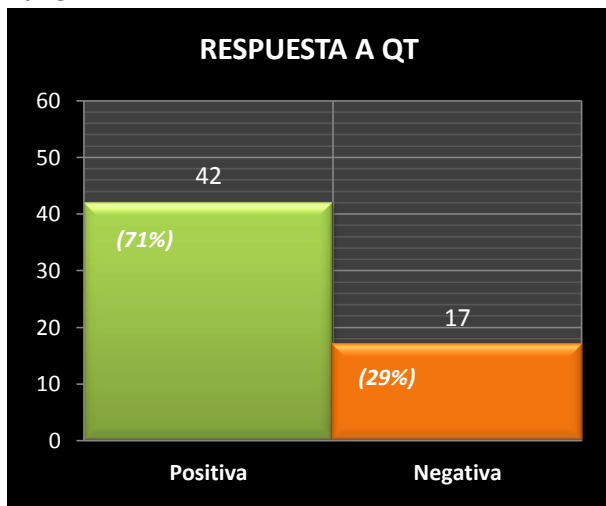
Tabla 4: Comparación de los factores de riesgo para recurrencia entre las pacientes con y sin respuesta a la quimioterapia (QT)

Variable	Pacientes con respuesta a QT					Pacientes sin respuesta a QT					p
Edad en años al momento del diagnóstico	49.52					43.38					0.016
Tamaño en centímetros del tumor al momento del diagnóstico	2.99					3.19					0.696
Grado histológico	I	II		III		I	II		III		0.233
	12	10		19		2	8		8		
Estadio inicial	I	IIA	IIB	IIIA	IV	I	IIA	IIB	IIIA	IV	0.261
	4	19	13	6	0	2	5	5	4	1	
Presencia de invasión vascular	15					5					0.492
Estatus ganglionar positivo.	29					13					0.577
Estatus positivo de receptores hormonales	27					11					0.610
Administración de RT	17 casos la recibieron					6 casos la recibieron					0.775

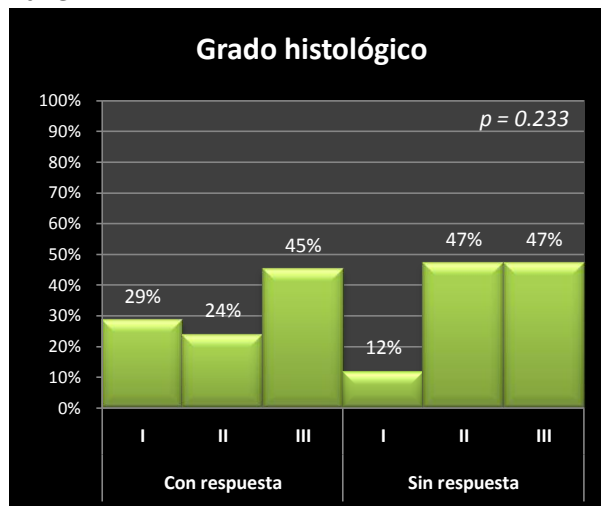
Todas las variables mostradas en la primera columna de esta tabla son factores de riesgo bien reconocidos en la recurrencia o progresión del cáncer de mama. Se comparan entre los dos grupos del estudio (pacientes que muestran respuesta a la QT y pacientes que no), pues si estos factores se hallaran distribuidos en forma desigual, la diferencia que pudiera haber en la expresión de KPNA2 entre esos dos grupos podría explicarse, al menos en parte, por estos factores de riesgo.

Fig. 9: Gráficas comparativas de los factores de riesgo para recurrencia entre las pacientes con y sin respuesta a la quimioterapia (QT)

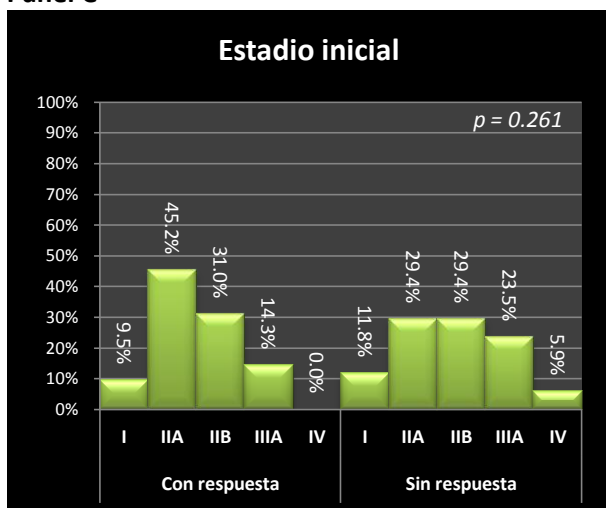
Panel A



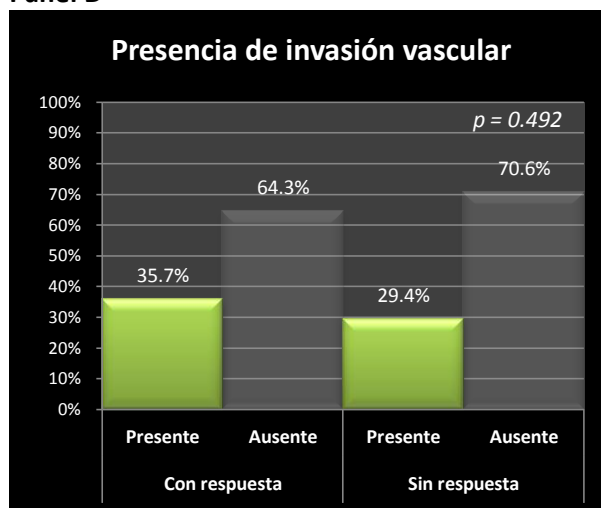
Panel B



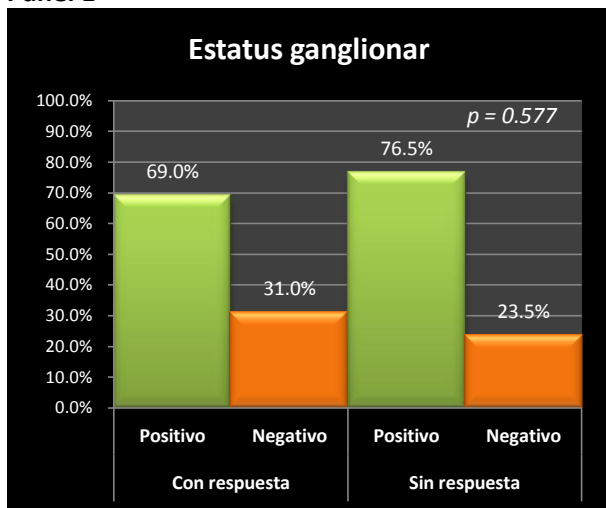
Panel C



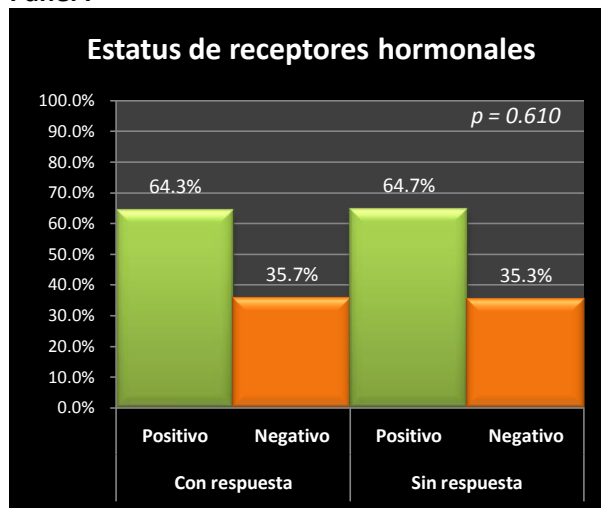
Panel D



Panel E



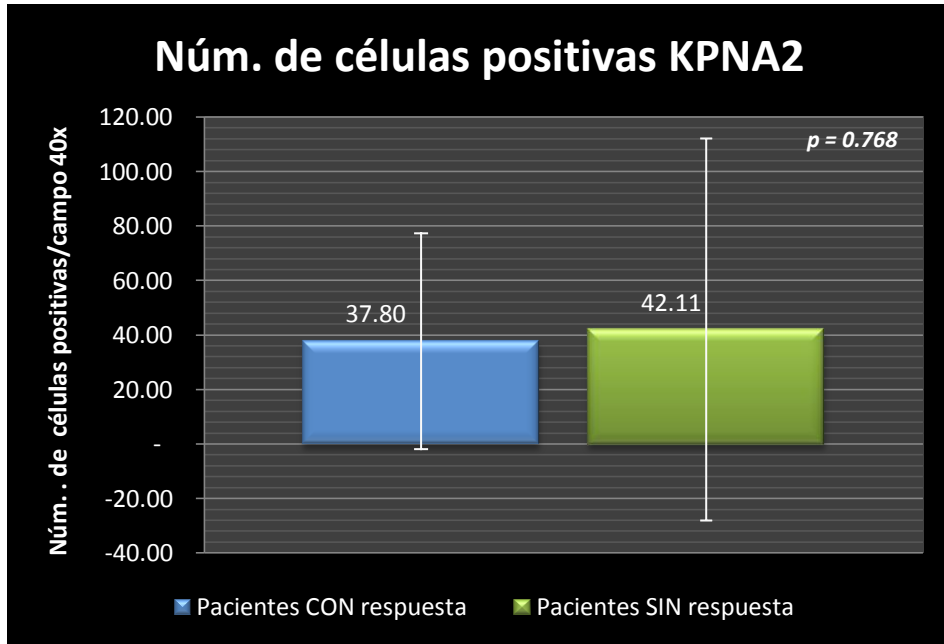
Panel F



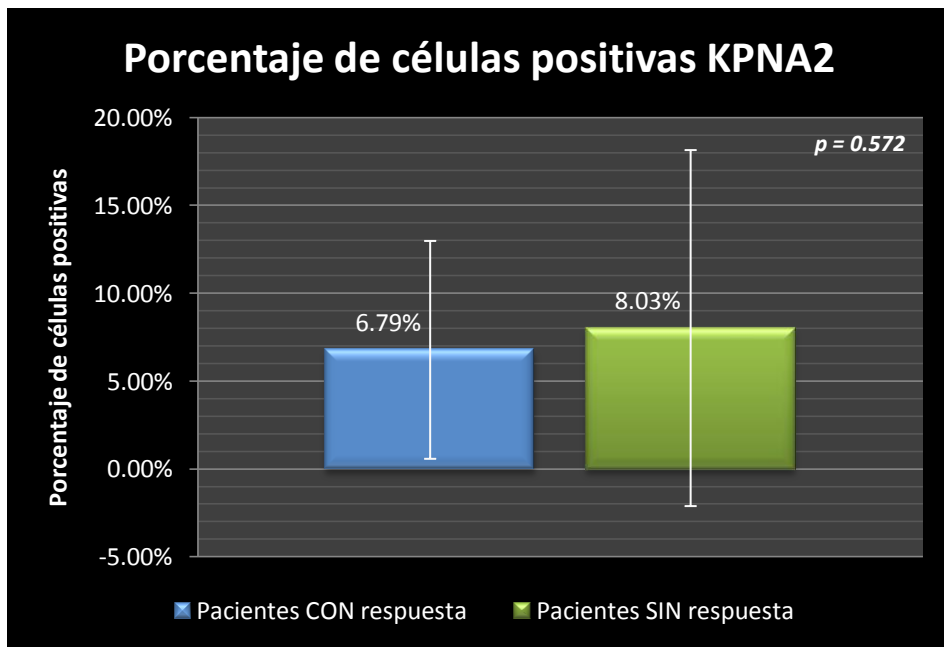
La gráfica del panel A muestra el número de pacientes con y sin respuesta a la QT. En los paneles B-F se muestra la comparación de los diferentes factores de riesgo para recurrencia del cáncer de mama (expresados en porcentaje), entre los dos grupos de estudio de este trabajo. Resulta evidente la semejanza en estos factores entre las pacientes con y sin respuesta a la QT.

Fig. 10: Expresión de KPNA2 en pacientes con y sin respuesta a QT

Panel A



Panel B



Se observa la escasa diferencia en el número de células positivas por campo 40x, entre las pacientes con respuesta y sin respuesta a la QT (Panel A). Lo anterior, aunado a la amplia dispersión del número de células positivas en ambos grupos, manifestado por las desviaciones estándar, conduce a la ausencia de diferencias estadísticamente significativas. De igual modo tampoco hay diferencias en el porcentaje de células positivas (Panel B).

DISCUSIÓN

La evaluación de nuevos potenciales marcadores con valor para predecir la respuesta a la QT es una tarea de particular relevancia ante la gran prevalencia de esta enfermedad, las bajas tasas de respuesta al tratamiento y la importante comorbilidad asociada a la administración de QT. En consecuencia, en el presente estudio se trabajó con la detección de KPNA2 por IHQ, con la intención de evaluar su valor predictivo de respuesta a la QT con esquemas basados en antraciclinas y taxanos (FAC o FAC-T).

Los resultados no mostraron diferencia en la expresión de KPNA2 en los individuos con y sin respuesta a la QT; por lo tanto, este marcador no es de utilidad para discriminar entre las pacientes que responden o que no responden a la QT en las condiciones particulares bajo las cuales se realizó el presente trabajo, entre ellas mediante la detección inmunohistoquímica de esta proteína en tejido fijado e incluido en parafina. No se puede descartar que su detección por otras metodologías o en otro tipo de muestras arroje resultados diferentes.

Un aspecto importante en el análisis realizado es la diferencia en factores de riesgo para recurrencia. En este rubro encontramos diferencias en edad en el presente trabajo. El manejo estadístico de los datos permitiría hacer ajustes para estas diferencias mediante el análisis multivariado. Dicho análisis no se realizó en el presente trabajo dado que forma parte de un proyecto mayor en el cual se evaluarán no sólo éste sino otros marcadores y para el cual la muestra de pacientes por analizar aún no está completa; es de considerarse que el tamaño de la muestra aquí presentada podría limitar los alcances de dicho análisis. No obstante lo anterior, la magnitud de los valores de p observados en el análisis aquí expuesto, hace poco probable un cambio radical en los resultados obtenidos incluso al realizar dicho análisis multivariado, especialmente tomando en consideración que sólo uno de los 8 factores de riesgo para recurrencia evaluados mostró tal tendencia.

Estudios previos han mostrado el valor pronóstico de esta proteína (18), mas el valor predictivo no había sido abordado de forma directa. Aunque algunos

marcadores como HER-2 tienen valor pronóstico y predictivo a la vez, es claro que esto no ocurre con todos los marcadores, la KPNA2 entre ellos, basándonos en los resultados aquí obtenidos.

La evidencia previa de su valor pronóstico ubica, no obstante, a la KPNA2 como una molécula relacionada con la biología del carcinoma mamario a la que habría que estudiar con mayor detalle. No hay información relevante en torno a los procesos de tráfico hacia el interior del núcleo de mediadores de señalización intracelular, los propios receptores de hormonas esteroideas o moléculas relacionadas con el control de la expresión génica. Algunos datos apuntan a la participación de importinas en la regulación del tráfico de moléculas con relevancia en el carcinoma de mama como BRCA1 (21). Proteínas como Nup153, relacionadas también con el tráfico entre citoplasma y nucleoplasma, se han relacionado con procesos como la capacidad migratoria de las células neoplásicas (22). Estos datos resaltan la necesidad de conocer más acerca de la participación de KPNA2 y moléculas relacionadas en estos procesos, y en particular en los que tienen importancia en la biología del carcinoma de mama, lo cual podría permitir abrir un nuevo campo para la búsqueda de blancos terapéuticos.

Adicionalmente, habrá que evaluar en relación a las funciones de KPNA2, la posibilidad de ser un factor predictivo de otros esquemas de quimioterapia, otras modalidades de tratamiento ya establecido o incluso subgrupos especiales de pacientes como los definidos por los receptores hormonales y HER-2, o los propuestos en la taxonomía descrita por el grupo de Stanford (9).

CONCLUSIONES

La expresión de KPNA2 evaluada mediante inmunohistoquímica por análisis de imágenes, en tejido fijado y embebido en parafina, no demostró utilidad para discriminar entre pacientes que responden y no responden a la QT con esquemas basados en antraciclinas y taxanos (FAC o FAC-T).

REFLEXIONES FINALES Y PERSPECTIVAS

A pesar de que se ha demostrado con esta investigación que, por el momento, no es funcional la utilización del marcador KPNA2 con fines predictivos, la evaluación de marcadores con valor predictivo de respuesta a QT es un área importante en la investigación en cáncer de mama, particularmente de marcadores que se puedan determinar mediante metodologías de bajo costo, como la IHQ, y cuya realización no necesita de laboratorios altamente especializados.

Por otra parte, en particular para mí como alumna de licenciatura y, a nivel académico, este trabajo destaca la importancia de varios puntos:

Es muy relevante el diseño metodológico de los estudios de investigación y, en la medida de lo posible, tomando en cuenta las limitaciones propias de los datos o muestras con que se cuenta para ellos, se deben hacer diseños bajo ciego para obtener resultados de mayor impacto para el área que se estudie (7).

La necesidad cada vez mayor de integrar equipos de investigación colaborativos y multidisciplinarios como una estrategia ante el empleo de las nuevas metodologías existentes para la identificación de potenciales biomarcadores, así como para trasladar a la práctica clínica el uso de tales marcadores empleando plataformas técnicas de bajo costo y de rápida ejecución, como la IHQ. Este acercamiento favorecerá la aplicación de nuevos marcadores en la detección en estadios tempranos de desarrollo de la enfermedad, metástasis a distancia, recidivas, respuestas a tratamientos, etc., en pacientes con cáncer de mama. En este último sentido, sumarse a grupos de investigación que trabajen con proteínas que se expresan en las células de los tejidos neoplásicos y que pueden ser visualizados en tejido con la técnica de IHQ, continuará siendo un paradigma en la rama biomédica relacionada con el cáncer.

Experiencias de esta clase en la línea de investigación aplicada, amplían las perspectivas para personas como la autora del presente trabajo para enfocar la actividad profesional en diferentes alternativas, entre las que se encuentra la propia

investigación aplicada a las ciencias de la salud, campo creciente y que ofrece un amplio ámbito de acción.

Este trabajo, entonces, ha procurado contribuir a la evaluación de nuevas metodologías de apoyo para el tratamiento del cáncer de mama, un padecimiento que, como ya se ha mencionado antes, es heterogéneo, multifactorial y se ha convertido en un problema de salud pública. Si bien los hallazgos no fueron los esperados, se demuestra que la investigación colaborativa y multidisciplinaria contribuye a la continua búsqueda científica por identificar vías para mejorar la calidad de vida de los pacientes con cáncer y en particular con cáncer de mama.

A pesar de que este trabajo ha sido concluido, para mí como alumna aspirante al grado de licenciatura, permanecen algunas inquietudes en torno a cuestiones relacionadas con los siguientes temas:

La elaboración de metodologías diagnósticas que se puedan transferir a instituciones con bajos recursos económicos.

La integración de un código ético de utilización de fármacos en los tratamientos de protocolo con QT, para reducir su utilización con fines de competencia de mercado farmacéutico.

La continuación de la búsqueda genética y molecular que permita acercarse más a la precisión diagnóstica y predictiva del comportamiento del cáncer.

Así, con base en la lectura del código genético y proteómico, se podría privilegiar la conservación de la salud, antes que la curación de la enfermedad, y, así como se puede revelar con marcadores “la huella del cáncer”, es posible que, a partir de futuras investigaciones, se pueda revelar “la huella de la conservación de la salud en la superficie celular”.

GLOSARIO

Antígeno: Sustancia que puede inducir una respuesta inmunitaria localizable cuando es introducida en un animal. Sustancia capaz de causar la producción de anticuerpos y, más tarde, reaccionar con ellos específicamente.

Anticuerpo: Proteína producida como resultado de la introducción de algún antígeno y que tiene la capacidad para combinarse con el antígeno que estimuló su producción.

Antraciclinas: Son un conjunto de antibióticos 1-8 de origen bacteriano (todos derivados de *Streptomyces*) que farmacológicamente cuentan con un núcleo químico antraquinona que se une con una aminoazúcar.

Biomarcadores: También llamados marcadores biológicos, son los cambios medibles, ya sea bioquímicos, fisiológicos o morfológicos, que se asocian a la exposición a un tóxico.

Por ejemplo, el nivel de colinesterasa en sangre se modifica debido a la exposición a plaguicidas. Un nivel anormalmente bajo de colinesterasa es un biomarcador de la exposición a plaguicidas organofosforados.

Los biomarcadores se utilizan para:

- detectar la presencia de una exposición;
- determinar las consecuencias biológicas de la exposición;
- detectar los estados iniciales e intermedios de un proceso patológico;
- identificar a los individuos sensibles de una población;
- fundamentar la decisión de intervenir, tanto a nivel individual como ambiental.

BRCA: Grupo de genes asociados a los carcinomas mamarios familiares.

Carcinoma: Tumor cancerígeno con origen en células de tipo epitelial o glandular. Aparece en los tejidos que recubren o revisten diversos órganos del

cuerpo o glándulas, tales como piel, útero, próstata, mama o estómago. Los dos grandes grupos de carcinomas son los carcinomas epidermoides y los adenocarcinomas. Los carcinomas tienden a filtrarse a los tejidos cercanos. También pueden llegar a órganos lejanos como los pulmones, los huesos, el hígado o el cerebro. Los carcinomas son la forma más común de cáncer.

Edema: (del griego *oidéma*, de *oidein*, engordar) Infiltración serosa de diversos tejidos y, en particular, del tejido conjuntivo, de revestimiento cutáneo o mucoso. A nivel de la piel, el edema se revela por una tumefacción indolora y sin enrojecimiento, que conserva durante algún tiempo la huella del dedo (fóvea). El edema puede infiltrar igualmente el pulmón, el cerebro, etc. El edema generalizado toma el nombre de anasarca.

Estadificación: En medicina, es la clasificación de la extensión y gravedad de una enfermedad cancerosa. Procede del verbo estadificar.

Una vez que un tipo de cáncer se ha diagnosticado, se deben realizar una serie de pruebas complementarias para saber si las células cancerosas se han extendido a otras partes del cuerpo (metástasis). A este conjunto de pruebas se les llama estadificación o estudio de extensión. Para planificar el tratamiento de un cáncer, el médico o cirujano necesita conocer la etapa o estadio de la enfermedad. La etapa es la cuantificación de la extensión del cáncer en el cuerpo o el tamaño del cáncer. Cada cáncer, dependiendo del órgano de origen, tiene su propio sistema de estadificación. El sistema de estadificación más utilizado es el TNM, que hace referencia al tumor o tamaño tumoral primario (**T**), a la afectación de ganglios linfáticos regionales o nodos linfáticos (**N**), y la presencia de diseminación a distancia del tumor primario o metástasis (**M**).

Ganglio centinela: Se define así al primer ganglio de una cadena linfática que drena un territorio tisular determinado, de manera que, antes de proseguir su camino por la cadena, toda la linfa proveniente de dicho territorio debe pasar primero por el ganglio centinela. En el caso del cáncer es el que recibe el drenaje linfático de un tumor.

Ganglio linfático: Concentración de cuerpos neuronales apreciables anatómicamente. Agregación de tejido linfoide en el sistema linfático que produce linfocitos y filtra el fluido linfático.

HER-2: Receptor del factor de crecimiento epidérmico humano, uno de los 4 conocidos. Es una glucoproteína transmembrana con actividad tirosina–kinasa citoplásmica que se encuentra en grandes cantidades en la superficie de algunas células cancerosas —como en el cáncer de mama— y que estimula su crecimiento.

HER-2/neu(erbB-2). Protooncogen que codifica para la proteína HER2, uno de los 4 receptores del factor de crecimiento epidermoide humano.

Inmunohistoquímica (IHQ): Procedimiento histopatológico que se basa en la utilización de un anticuerpo específico, que se aplica a una muestra de tejido orgánico, correctamente fijada e incluida en parafina. El complejo antígeno-anticuerpo que se forma cuando el anticuerpo reconoce el antígeno para el cual es específico y se une a él, se hace entonces visible mediante la utilización de alguna de las técnicas específicas (peroxidasa, antiperoxidasa, fluoresceína, etc.) para este fin. Así se logra la identificación de marcadores antigénicos característicos de distintas líneas de diferenciación o función celular, con lo que se determina el tipo de célula involucrado en la muestra.

Metástasis: La propagación de un foco canceroso a un órgano distinto de aquél en que se inició. Ocurre generalmente por vía sanguínea o linfática. La metástasis es la capacidad de las células del cáncer de penetrar en los vasos sanguíneos y linfáticos, circular por el torrente sanguíneo y después crecer en un nuevo foco (metástasis) en tejidos normales de otra parte del cuerpo.

Metotrexato (MTX): Es un medicamento usado en el tratamiento del cáncer, enfermedades autoinmunes y la inducción de aborto terapéutico. En la década de los 50 se empezó a usar para el tratamiento del cáncer; el metotrexato se ha usado por más de 25 años en el tratamiento de la artritis reumatoidea y fue aprobado en 1988, en Estados Unidos, por la FDA (Administración de Drogas y Alimentos) para dicho uso.

Microtúbulo: Estructuras tubulares de las células; se extienden a lo largo del citoplasma hallado en las células eucariotas formadas por la polimerización de un

dímero de dos proteínas globulares, la α y β tubulina. Intervienen en algunos procesos celulares de transporte de sustancias dentro de las células en la mitosis y en la meiosis; constituyen también la estructura de cilios y flagelos.

pTNM: Estadificación TNM patológica basada en el espécimen de resección.

TNM: Acrónimo con el que se designa al sistema de estadificación de las neoplasias humanas más ampliamente reconocido. El estadio indicado por el TNM corresponde al grado de extensión de las mismas en el organismo de la persona y se basa en tres parámetros: Tamaño del tumor (T), Presencia de metástasis ganglionares (N) y Presencia de metástasis (M).

SIGLAS, ACRÓNIMOS Y ABREVIATURAS

AET. Antígenos específicos de tumores.

AJCC. American Joint Committee on Cancer, Comité Conjunto Americano para el Cáncer.

CCIS. Carcinoma canalicular in situ.

Dx. Diagnóstico.

ELISA. Por sus siglas en inglés *Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay* (Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas).

FAC. Ciclofosfamida-doxorrubicina-5 fluororacilo.

FAC-T. FAC seguido de cuatro ciclos de taxanos.

FEC. Ciclofosfamida-epirubicina-5 fluororacilo.

FEC-T. FEC seguido de cuatro ciclos de taxanos.

HE. Hematoxilina–eosina.

IHQ. Inmunohistoquímica.

KPNA2. Karyopherina $\alpha 2$.

MAT o TAM. Microarreglos de tejido.

MT. Marcadores tumorales.

NBS1. Síndrome de ruptura Nijmegen.

PARP. Poli (ADP-ribosa) polimerasa.

QT. Quimioterapia.

RE. Receptor de estrógenos.

RP. Receptor de progesterona.

RT. Radioterapia.

SBR. Escala de Scarff-Bloom-Richardson.

TNM. Sistema internacional Tamaño del tumor/Presencia de ganglios linfáticos/Metástasis.

BIBLIOGRAFÍA

1. National Cancer Institute, *Cáncer de seno (mama)*. Obtenido el 06/12/2010, desde <http://www.cancer.gov/español/pdq/tratamiento/seno/Patient>.
2. Cáncer de mama, *octubre 2007, México, Boletín de práctica médica efectiva (PME)*.
3. Ramírez, U.M.T., Martínez, S.H., Lara, M.F., Robles, V.C. (2003) *Cáncer de mama, Manual de Oncología, procedimientos médico quirúrgicos*, Ed. McGraw Hill – Interamericana, México, 472-492.
4. Maldonado, H., (2010) Evaluación en tejido de biomarcadores potenciales con valor predictivo en el carcinoma mamario. *Apuntes de investigación doctoral*, México.
5. Fuentes, A. A., Robles, V.C., Ramírez, U.M.T. (2003) Carcinoma In situ de la mama, *Manual de Oncología, procedimientos médico quirúrgicos*. Ed. McGraw Hill – Interamericana, México, 464-471.
6. Rosai, J. (2008). *Ackerman's Surgical Pathology*. Ed Mosby, St. Louis, MO, USA, 288-350.
7. Poderós, T., Inda I., et al. (2005) Taxanos en el tratamiento adyuvante del cáncer de mama con ganglios positivos: metanálisis. *Farmacia Hospitalaria*, 29, No. 2, 75-85.
8. Pérez, V.M., Vela, T.A., Mora, A. (2008) Diagnóstico histopatológico y factores pronóstico en cáncer infiltrante de glándula mamaria. *Cancerología*, 3, 7-17.
9. Marchió, C., Reis-Filho, J. (2008) Molecular diagnosis in breast cancer, *Diagnostic Histopathology*, 14:5, 202-213.
10. Goldhirsch, A., Wood, W.C., Gelber, R.D., et al. (2007) Progress and promise: highlights of the international expert consensus on the primary therapy of early breast cancer. *Annals of Oncology*, 18, 1113-1144.
11. Coronato, S., Laguens, G., et al. (2002) Marcadores tumorales en cáncer de mama. *Medicina*, 62, 73-82.
12. Kallioniemi O.P., Oksa, H., Aaran, R.K., et al. (1988) Serum CA 15-3 assay in the diagnosis and follow-up of breast cancer. *British Journal of Cancer*, 58, 213-215.
13. Yerushalmi, R., Woods, R., Ravdin, P.M., et al. (2010). Ki67 in breast cancer: prognostic and predictive potential, *Lancet Oncology*, 11: 174–83.
14. Rakha, E.A., Ellis, I. (2009) Triple-negative/basal-like breast cancer: review, *Pathology Journal*, 41(1), 40-47.
15. Reis-Filho, J., Westburry, C., et al. (2006) The impact of expression profiling on prognostic and predictive testing in breast cancer. *Journal of Clinical Pathology*, 59, 225-231.
16. Wang, Y., Klijn, J.G.M., et al. (2005) Gene-expression profiles to predict distant metastasis of lymph-node-negative primary breast cancer. *Lancet*, 365, 671-79.
17. Shun-Fu, T., Chun-Yu, C., et al. (2005) Importing KPNA2 is required for proper nuclear localization and multiple functions of NBS1. *Journal of Biological Chemistry*, 280, 39594-39600.

18. Dankof, A., Frizsche, F.R., et al. (2007) KPNA2 protein expression in invasive breast carcinoma and matched peritumoral ductal carcinoma in situ. *Virchows Arch*, 451, 877-881.
19. Ayers M., Symmans, W.F., Stec, J., et al. (2004) Gene expression profiles predict complete pathologic response to neoadjuvant paclitaxel and fluorouracil, doxorubicin, and cyclophosphamide chemotherapy in breast cancer. *Journal of clinical oncology*, 22, 2284-2293.
20. Kallioniemi, O., Wagner, O., Konen, J., et al. (2001) Tissue microarray technology for high-throughput molecular profiling of cancer. *Human molecular genetics*, 10, No.7, 657-662.
21. Thompson, M.E. (2010). BRCA1 16 years later: nuclear import and export processes, *FEBS Journal*, 277(15):3072-8.
22. Zhou, L., Panté, N. (2010). The nucleoporin Nup153 maintains nuclear envelope architecture and is required for cell migration in tumor cells, *FEBS Letters*, 16; 584 (14): 3013-2.