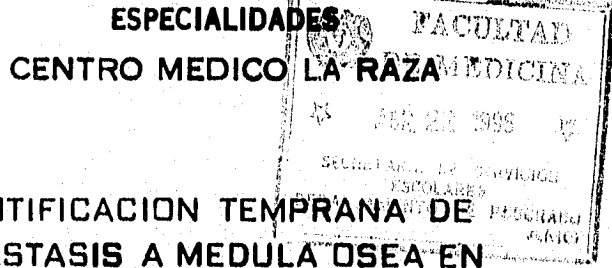


11218 / 24



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA  
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO  
DIVISION DE MEDICINA DEL HOSPITAL DE  
ESPECIALIDADES



IDENTIFICACION TEMPRANA DE  
METASTASIS A MEDULA OSEA EN  
PACIENTES CON CANCER DE MAMA



TESIS DE POSTGRADO

Para obtener el título en la Especialidad de

Hematología

HEMATOLOGIA



S E N T A

DRA. PATRICIA BAHENA RESENDIZ

Profesor titular del curso de postgrado de Hematología UNAM

DR. JOSE GONZALEZ LLAVEN

Aseores de tesis: DR. JOSE GONZALEZ LLAVEN

DR. JORGE VELA OJEDA

QFB AURORA GARCIA M.



IMSS

MEXICO, D. F.

ABRIL 1996

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**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.

**DEDICATORIA :**

**A mis padres y hermanos:  
el único y verdadero amor que me ha  
dado la vida.  
Por su apoyo en todo momento.**

**A G R A D E C I M I E N T O S .**

A los Doctores Francisco Tripp, Jorge Vela  
y Jorge Cruz Rico. Por la enseñanza recibida.  
Un ejemplo a seguir.

A Aurora García Manzano  
Por brindarme un poco de su valioso tiempo.

Al Dr. José González Llaven  
Por su tiempo y dirección en el proceso de este  
trabajo.

## **I N D I C E**

<b>INTRODUCCION</b>	<b>1</b>
<b>OBJETIVOS</b>	<b>9</b>
<b>PACIENTES Y METODOS</b>	<b>10</b>
<b>RESULTADOS</b>	<b>15</b>
<b>DISCUSION</b>	<b>24</b>
<b>CONCLUSIONES</b>	<b>27</b>
<b>BIBLIOGRAFIA</b>	<b>28</b>

## INTRODUCCION .

En 1989 en estadísticas mundiales, el cáncer de mama ocupaba el 28% de los casos nuevos de cáncer en la mujer y 18% de todas las muertes debidas a cáncer, con más de 140000 casos nuevos y 43000 muertes respectivamente.(1)

En nuestro país, de acuerdo a estadísticas reportadas hasta 1992, el cáncer de mama ocupa el segundo lugar de frecuencia de cáncer en la mujer; con una morbilidad de 5260 casos; 2493 casos nuevos por año y una mortalidad de 2559 casos.(2)

En las dos décadas pasadas ha existido avance en el diagnóstico y tratamiento del cáncer de mama debido a información sobre factores pronósticos.(1,22) Si bien el cáncer de mama es el segundo cáncer en frecuencia en la mujer, es el primero en mortalidad.

La incidencia por cáncer de mama varía con la edad y nacionalidad. En Estados Unidos, el cáncer de mama es raro antes de los 30 años, incidencia que aumenta rápidamente alrededor de los 45 años, con incremento posterior más lento; existen por cada 100000 mujeres a los 25, 50 y 75 años; 5, 150 y 200 casos respectivamente.(1)

El porcentaje de cáncer invasivo ha incrementado a 45% entre 1960 y 1985, observándose en mujeres de 65 años; mientras que no existe cambio en el rango de 20-44 años ni el estadio

de presentación.

Más del 90% de todos los cánceres de mama son derivados de las células epiteliales de los conductos mayores y menores de la mama; el patrón puede ser infiltrante, papilar o medular, el tipo más comunmente diagnosticado es el ductal infiltrante, ocupando el 70%. (1)

La mayoría de los carcinomas de mama están clínicamente confinados a la mama y axila cuando son primeramente diagnosticados y son potencialmente curables.(4) Sin embargo, un número substancial de estas pacientes desarrollan recurrencia de la enfermedad, incluyendo 25% de las pacientes con ganglios linfáticos axilares negativos. Varios grupos han demostrado que la quimioterapia adyuvante puede beneficiar a estas pacientes; existe controversia al respecto, ya que la mayoría de las pacientes se consideran curadas con la cirugía primaria; pero las pacientes con enfermedad sistémica microscópica se benefician con tratamiento adyuvante.(4,5)

La heterogeneidad del tumor y la tendencia a diseminación temprana son los principales problemas en la predicción de recaída. Aunque al tiempo de la cirugía, 90% de las pacientes están libres de metástasis, 5 años más tarde cerca del 50% recaen, siendo el esqueleto el sitio más común de metástasis distantes y es frecuentemente el primero en el cual pueden ser detectadas.(5,6)

Cerca del 80% de las pacientes que recaen desarrollan metástasis óseas durante la evolución de la enfermedad.

La presencia de células extrañas en la médula ósea está asociado significativamente a falla temprana a tratamiento en pacientes sometidas a cirugía. Al parecer las pacientes de grupos pronósticos convencionales pueden ser estratificadas de acuerdo al estado de la médula ósea al diagnóstico.(5,8)

Por lo anterior la presencia de metástasis a médula ósea puede ser predictor importante de recaída temprana.

El exámen citológico rutinario de la médula ósea es ineficaz para detectar pequeños números de células neoplásicas debido a la similitud morfológica con las células tallo hemato-poyéticas.(7) Otros métodos como rayos X, imagenología y determinación de hidroxiprolina son poco sensibles para identificar enfermedad metastásica mínima, debido a que dependen de la destrucción de la matriz ósea.(8) El diagnóstico de infiltración con biopsia de hueso es baja en ausencia de evidencia clínica de afección a médula ósea.(11)

Se ha logrado mejoría diagnóstica por técnicas inmunohisto-químicas con anticuerpos monoclonales que reconocen epitopes específicos de membrana epitelial o citoesqueleto de la célula neoplásica; capaces de detectar micrometástasis en médula ósea en un 35% de las pacientes con cáncer de mama operable.



Esta metodología es extremadamente sensible y puede detectar hasta dos células en un millón de elementos hematopoyéticos.(3,6,7) Se han utilizado una gran variedad de anticuerpos; la característica de éstos, es que son específicos de epitelio y no reaccionan con elementos normales o neoplásicos de la médula ósea.(6,9,10)

Estudios previos utilizando combinación de diferentes anticuerpos monoclonales, encontraron 30-40% de positividad en médula ósea de pacientes con cáncer de mama en estadios I-II; considerandose predictor de recaída. La identificación de células tumorales en médula ósea en estadios tempranos, es un factor pronóstico independiente; debido a que las metástasis pueden ocurrir después de muchos años, es necesario un seguimiento a largo plazo para evaluar la significancia estadística de este método. Otros autores han reportado resultados similares.(9,10)

Otros estudios demostraron que la presencia de micrometástasis a médula ósea en pacientes con estadio clínico temprano es significativamente predictor de recaída temprana; aquellas pacientes sin evidencia de metástasis a médula ósea tuvieron una recurrencia a 2 años del 3%, mientras que en las pacientes con metástasis fué del 39%; con una sobrevida libre de enfermedad significativamente más corta; resultados que son consistentes con los del Instituto London.(4,6)

La presencia de metástasis ocultas en médula ósea tiene significancia terapéutica. Las pacientes con afección a médula ósea son consideradas incurables con los métodos de tratamiento actualmente disponibles, sin embargo las dosis altas de quimioterapia y trasplante autólogo de médula ósea, ofrece mejores resultados.(11)

La mortalidad por carcinoma de mama está relacionada a la capacidad de las células tumorales de invadir y metastatizar. Ahora se han acumulado evidencias de que este proceso multifactorial requiere de la acción de varias enzimas proteolíticas. La fragmentación de la matriz extracelular durante la invasión tumoral resulta de la acción combinada de colagenasas, metaloproteinasas, catepsinas y serinproteasas.(12)

El sistema fibrinolítico está compuesto de las siguientes glucoproteínas: plasmina, activadores del plasminógeno tipos tisular y urocinasa; inhibidores de los activadores del plasminógeno tipos 1 y 2; así como la 2 antiplasmina y 2 macroglobulina. Los avances en el conocimiento de este sistema y su papel en la trombolisis, ha despertado el interés de su posible participación en la migración celular, especialmente de las células neoplásicas.(13,14)

La activación del plasminógeno es catalizada por dos diferentes activadores, uno tipo urocinasa y otro tisular, de los cuales el primero (uPA), participa en la remodelación

tisular en condiciones normales y patológicas, incluyendo la invasión neoplásica.(12,13) Un papel central en este último proceso la juega el uPA; que es secretado como una proenzima de cadena simple, enzimáticamente inactivo(pro uPA), que después de unirse a su receptor específico(uPAR) es convertido a su forma activa de doble cadena, que posteriormente convierte al plasminógeno en plasmina. La plasmina puede activar procollagenasas, que fragmentan colágena tipo IV y otras proteínas de la membrana basa (fibronectina, laminina y fibrina); llevando finalmente a la invasión de las células tumorales y metástasis. La plasmina también puede activar formas latentes de citoquinas, como el factor beta transformador de crecimiento. Existen dos inhibidores, PAI-1 y PAI-2, encargados de regular la actividad de los activadores del plasminógeno.(19,20)

La expresión de uPA se ha observado en muchas células tumorales en cultivo y en tumores humanos, asociándose con pronóstico desfavorable en carcinomas de mama, colon, próstata, pulmón, páncreas y cerebro.(4,8,14,15,16,17) Por lo tanto el estudio de la regulación, producción y secreción de uPA y su inhibidor(PAI-1), es un foco importante de atención en el entendimiento del crecimiento tumoral y de la metástasis(23,24)

Un receptor celular de superficie específico para uPA (uPAR) se ha identificado en monocitos humanos, y sobre una

variedad de líneas celulares en cultivo de origen neoplásico, es una proteína altamente glucosilada de 55000 daltons, su porción COOH terminal está unida a la membrana celular por un glucolípidio de anclaje; consta de 3 cadenas homólogas en las que el grupo amino terminal constituye el sitio de unión para uPA.(16,21) Tinciones revelan la presencia de uPAR y uPA no solamente en células de tumores malignos, sino también en células parecidas a los fibroblastos encontrados en el estroma tumoral, considerándose que contribuyen a la destrucción de la matriz celular(15,16)

Varios estudios han demostrado que uPA y uPAR son sobreexpresados en carcinoma de mama, comparado con lesiones benignas. La determinación cuantitativa de uPA unida al receptor se estimó 10 veces más en tumores malignos que en lesiones benignas.(14,15,21,27)

Estudios previos indican que un alto nivel de actividad enzimática de uPA en extractos de cáncer de mama es también un indicador de mal pronóstico.(22,23,26,29) Por lo tanto la determinación de uPA y PAI-1 pueden predecir recaída y permitir seleccionar pacientes para tratamiento adyuvante.

Varios hallazgos sugieren que el papel de uPA en la biología tumoral no está relacionada particularmente al cáncer de mama, sino a la invasión tumoral y metástasis en general.

Estudios sobre el valor pronóstico de uPA, uPAR y PAI-1 deben ser aplicados a otros tipos de cáncer; al respecto, reportes recientes sugieren que altos niveles de uPA están asociados con pobre pronóstico en adenocarcinoma gástrico y pulmonar. (14,15,16,17)

La presencia de uPAR en cáncer de mama, en contraste a su ausencia en lesiones benignas, aporta la evidencia de la importancia de la activación del plasminógeno en la superficie celular.

El planteamiento del problema actual es si otros grupos étnicos con cáncer de mama reproducen los hallazgos relacionados con el contenido de uPA, uPAR y PAI-1 visto en anglosajones y si la metástasis temprana a la médula ósea es un evento que se asocia a estadios iniciales de extensión (I-II). Si esto es así, la técnica de autotransplante debe ser modificada para evitar recaídas asociadas a contaminación con células tumorales de la médula ósea.

**OBJETIVOS.**

- 1.- Identificar metástasis tempranas a la médula ósea en pacientes mexicanas con cáncer de mama en estadios I-II.
- 2.- Identificar si el uPA, uPAR y PAI-1 se encuentran elevados en células tumorales o en plasma de pacientes con cáncer de mama.

**PACIENTES Y METODOS.**

Estudio descriptivo, comparativo, abierto y prospectivo.

Se incluirán las pacientes con sospecha de cáncer de mama que ingresen al servicio de Oncología Ginecológica, del Hospital de Ginecología y Obstetricia No 3 del Centro Médico la Raza. Todas las pacientes serán informadas oportunamente, y se solicitará su consentimiento por escrito para inclusión en este estudio.

**CRITERIOS DE INCLUSION:**

- \* Diagnostico histopatológico de cáncer de mama.
- \* Estadío clínico I-II.
- \* No haber recibido previamente quimioterapia y/o radioterapia.
- \* Aceptación para participar en el estudio.

**CRITERIOS DE EXCLUSION:**

- \* Dificultad técnica en la toma de muestras.
- \* Voluntad de abandonar el estudio.
- \* Muerte.
- \* Fragmento de tumor con un peso menor de 3 gr.

A todas las pacientes se les realizará estudio clínico, biometría hemática completa, química sanguínea, marcadores de actividad neoplásica (fosfatasa alcalina, deshidrogenasa

láctica, ácido úrico, calcio y fósforo); estudios de extensión de la neoplasia (aspirado de médula ósea y biopsia de hueso de cresta ilíaca unilateral; realizados bajo anestesia general, posterior a la resección quirúrgica de tumoración).

De la muestra de médula ósea se realizarán 5 frotis, 1 será sometido a tinción de Wright, los 4 restantes junto con 5 imprints de tumor, serán fijados durante 60 segundos con una solución a base de formaldehído, acetona y fosfatos; posteriormente se colocarán en una gradilla de metal y almacenarán a  $-80^{\circ}\text{C}$  para posterior identificación de metástasis mediante anticuerpos monoclonales por técnica manual, utilizando: citoqueratina 19 (COMO CONTROL POSITIVO), citoqueratina 20 (COMO CONTROL NEGATIVO), receptor estrogénico, CD 45 y receptor de uPA (uPAR).

Además se obtendrán 5 ml de sangre venosa, las cuales serán colectadas en tubos de vidrio con citrato de sodio como anticoagulante, de ésta se obtendrá plasma pobre en plaquetas, para determinación de uPA, PAI-1 y complejo tPA-PAI-1; congelándose inmediatamente posterior a su obtención a  $-80^{\circ}\text{C}$ .

Las muestras de tumor de aproximadamente 3 gr cada uno (proporcionados por el servicio de patología) serán congelados y almacenados a  $-80^{\circ}\text{C}$  inmediatamente después de la resección hasta su utilización para la determinación del contenido



de activador del plasminógeno tipo urocinasa(uPA). Para ello el fragmento de tumor congelado se pulverizará en un mortero y se suspenderá en 9,8 ml de TBS(Buffer de salina fosfato), se agrega 0.2 ml de Tritón X-100 al 10% y se conserva en agitación a  $-4^{\circ}\text{C}$  durante 12 horas. Posteriormente se somete a ultracentrifugación 100000XG durante 60 minutos; el sobrenadante se coloca en alícuotas, se realiza cuantificación de proteínas por ensayo de Bradford(16), se ajusta el contenido de proteínas a 2-3 mg/ml, y se almacenan a  $-80^{\circ}\text{C}$ .

La determinación de uPA, PAI-1 y complejo tpa/PAI-1 en extracto tisular y plasma se realiza por método de ELISA con equipo comercialmente disponible, mediante las siguientes técnicas:

A) Cuantificación de uPA:

Esta prueba se fundamenta en el empleo de un anticuerpo (Ac) monoclonal contra el uPA humano. Las muestras se incuban en micropozos de placas para ELISA; un segundo Ac biotinilado reconoce las moléculas de uPA enlazadas. Por adición de un conjugado enzimático con peróxidasa de rábano(HRP) se completa la formación del complejo. La adición del sustrato(TBM) y su reacción con HRP desarrolla un color azul; la sensibilidad se incrementa agregando ácido sulfúrico para detener la reacción, formándose un color amarillo. Los niveles de uPA se

cuantifican midiendo la absorbancia a 450 nm e interpolando este valor en una curva estándar.

#### B) Cuantificación de PAI-1

Se utilizan micropozos recubiertos con un Ac monoclonal de ratón (anti PAI-1 humano), que durante un período de incubación enlaza al PAI-1 presente en las muestras. Posteriormente se adiciona una peroxidasa conjugada a IgG de cabra (anti PAI-1 humano), que enlaza los determinantes antigénicos libres sobre la molécula de PAI-1, formando así un "sandwich", todo el material no unido se retira por medio de lavados; posteriormente se le agrega el sustrato enzimático(OPD), desarrollando un color amarillo. La intensidad del color es directamente proporcional a la cantidad de PAI-1 presente en la muestra; la cuantificación se realiza midiendo la absorbancia a 492 nm e interpolando este dato en una curva estándar.

#### C) Cuantificación de complejo tPA/PAI-1:

Se utiliza una placa de plástico recubierta con un Ac monoclonal de ratón(anti tPA humano), que al incubarse con las muestras, enlaza los complejos tPA/PAI-1 a la placa a través del determinante antigénico de tPA. Se adiciona otro Ac conjugado a una peroxidasa y se enlaza reconociendo el epítipo de PAI-1 formando así un "sandwich". La peroxidasa enlazada

se revela por su actividad en un tiempo predeterminado sobre su substrato(OPD) en presencia de peróxido de hidrógeno, produciéndose un cambio de color que es directamente proporcional a la concentración de tPA/PAI-1 inicialmente presente en la muestra. Para calcular la concentración se debe medir la absorbancia a 492 nm e interpolar el valor obtenido en una curva estándar.

**RESULTADOS.**

De Agosto de 1995 a Enero de 1996, se estudiaron 56 pacientes con tumor de mama que ingresaron al Servicio de Oncología Ginecológica del Hospital de Ginecología y Obstetricia No 3 del Centro Médico La Raza, y fueron sometidas a resección quirúrgica de tumoración de mama con estudio transoperatorio de la misma.

28.5% se incluyeron en este estudio, (10 pacientes con lesiones benignas-fibroadenoma-, con edad media de 36.3 años con un rango de 22-55 años, y 6 pacientes con carcinoma ductal infiltrante, estadio clínico II de acuerdo a la clasificación TNM, con edad media de 53.3 años y un rango 37-72 años), el 71.5% restante fué excluido por abandono de estudio y otras causas.

La biometría hemática, química sanguínea y marcadores de actividad neoplásica se encontraron en límites normales.

El aspirado de médula ósea con tinción de Wright y biopsia de hueso fueron negativos a células metastásicas. Tabla 1

La cuantificación de uPA, PAI-1 y complejo tPA/PAI-1, en extracto tisular y plasma se muestra en las tablas 2 y 3. Una prueba de regresión mostró estrecha correlación entre las variables de los 2 grupos. Fig 4-7.

Al comparar los niveles de uPA, PAI-1 y complejo tPA/PAI-

1 en extracto tisular del grupo 1 (Benignos) con el grupo 2 (Malignos), se obtuvo  $p=0.21$  vs  $0.09$ ;  $p=0.7$  vs  $0.6$  y  $p=0.5$  vs  $0.14$  respectivamente.

En plasma no se detectaron niveles de uPA en los 2 grupos, mediante la prueba de Mann-Whitney no se observa diferencia entre PAI-1 y complejo tPA/PAI-1 de los 2 grupos ( $p=0.07$ ).

La paciente No 4 del grupo 1 muestra niveles de PAI-1 y uPA elevados, en extracto tisular, respecto al resto de las pacientes de este grupo.

Es importante mencionar que la mayoría de las muestras de tumores malignos fueron trabajadas en forma diferente a la técnica estandarizada (con un tiempo de agitación a  $-4^{\circ}\text{C}$  de 12 horas, se mantuvieron por 24-48 horas; temperatura de  $-4^{\circ}\text{C}$  posterior a ultracentrifugación, se mantuvieron a  $15^{\circ}\text{C}$ ); por causas ajenas a nuestro servicio.

Está pendiente de realizarse la determinación de metástasis a médula ósea mediante anticuerpos monoclonales.

**MALLAZGOS PATOLOGICOS DE LAS PACIENTES  
CON CANCER DE MAMA.**

No	Edad	Histologia	EC	MO	BO
<b>Benignos</b>					
1	34	FAM	-	Neg	-
2	36	FAM	-	Neg	Neg
3	22	FAM	-	Neg	Neg
4	55	FAM	-	Neg	Neg
5	25	FAM	-	Neg	Neg
6	42	FAM	-	Neg	Neg
7	35	FAM	-	Neg	-
8	45	FAM	-	Neg	-
9	36	FAM	-	Neg	-
10	33	FAM	-	Neg	-
<b>Malignos</b>					
1	65	CDI	II	Neg	Neg
2	44	CDI	II	Neg	Neg
3	37	CDI	II	Neg	Neg
4	50	CDI	II	Neg	Neg
5	72	CDI	II	Neg	Neg
6	52	CDI	II	Neg	Neg

FAM:Fibroadenoma mamario, CDI:Carcinoma ductal infiltrante, BO:biopsia ósea, MO:médula ósea.

Tabla 1

**DETERMINACION DE UPA, PAI-1 y COMPLEJO tPA-PAI-1  
EN TUMORES BENIGNOS**

No	Prot mg/dl	UPA		PAI-1		tPA/PAI-1	
		ng/mg/prot tejido	ng/ml plasma	ng/mg/prot tejido	ng/ml plasma	ng/mg/prot tejido	ng/ml plasma
1	2.26	0.0	0.0	0.0	51.3	0.13	0.58
2	0.26	0.0	0.0	0.0	38.7	0.38	0.52
3	2.6	0.0	0.0	6.1	58.5	0.53	0.49
4	0.29	0.03	0.0	46.6	12.6	1.2	0.58
5	0.74	0.0	0.0	3.8	24.5	1.87	0.62
6	0.74	0.0	0.0	0.0	21.8	0.51	0.90
7	0.74	0.0	0.0	1.9	7.1	0.33	0.54
8	0.51	0.0	0.0	7.3	10.3	0.21	0.5
9	0.45	0.0	0.0	0.0	36.4	1.19	0.74
10	0.67	0.0	0.0	9.1	8.9	0.67	0.72

Valores de referencia:  
uPA: 0.02-1.22 (extracto tisular de tejido benigno)  
PAI-1: 4-43 ng/ml (plasma)

**TABLA 2**

**DETERMINACION DE UPA, PAI-1 y COMPLEJO TPA/PAI-1  
EN TUMORES MALIGNOS.**

No	Prot mg/dl	UPA		PAI-1		tPA/PAI-1	
		ng/mg/prot tejido	ng/ml plasma	ng/mg/prot tejido	ng/ml plasma	ng/mg/prot tejido	ng/ml plasma
1	0.79	0.0	0.0	0.0	17.7	0.49	1.42
2	0.78	5.85	0.0	49.6	18.8	7.06	0.47
3	0.47	0.0	0.0	19.5	84.9	2.05	1.5
4	0.43	0.0	0.0	0.0	11.0	0.17	0.33
5	0.80	0.95	0.0	0.0	61.0	1.13	0.81
6	0.93	1.12	0.0	3.1	53.0	1.75	0.66

Valores de referencia:

uPA: 0.13-15.17 ng/mg/prot (extracto tisular de carcinoma de mama)

PAI-1: 4-43 ng/ml (plasma)

**TABLA 3**



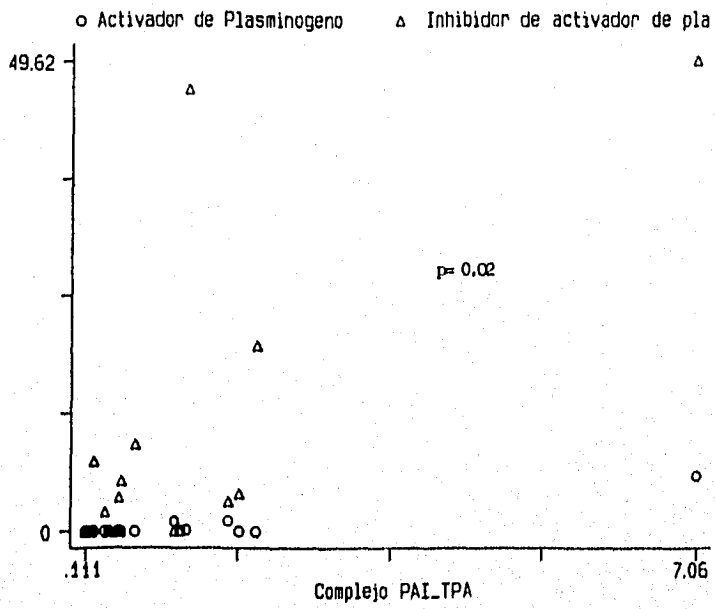


FIG 4

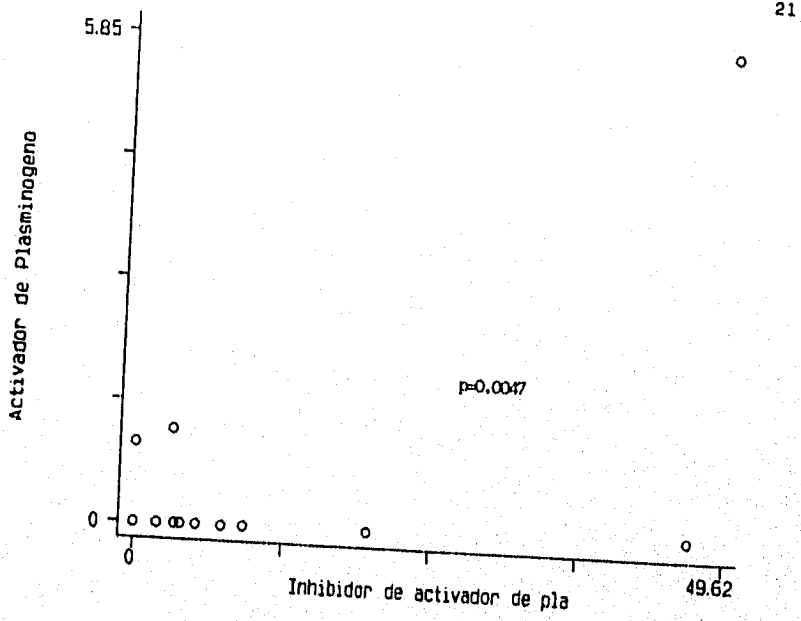


FIG 5

STATA™



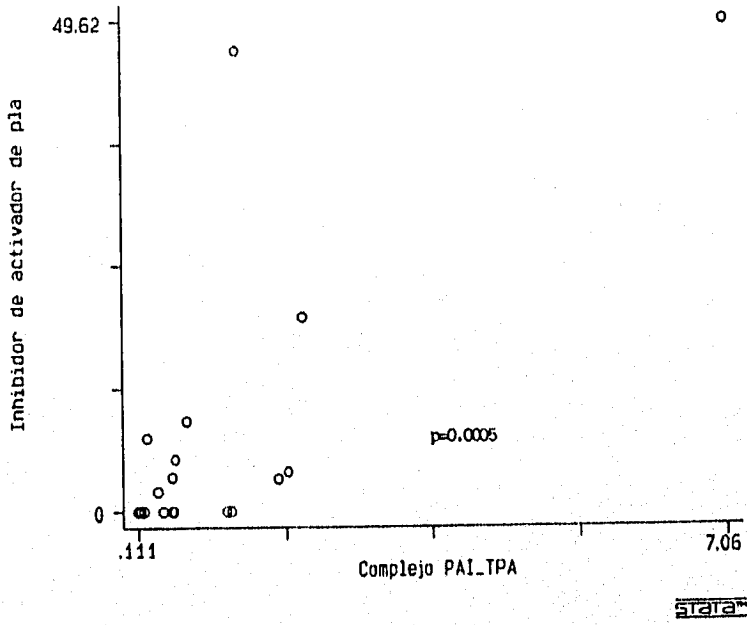


FIG 7

**DISCUSION.**

Recientemente el papel del sistema de fibrinolisis en el complejo proceso de invasión tumoral y metástasis ha despertado gran interés, estableciéndose la siguiente hipótesis de invasión tumoral: la célula tumoral produce y secreta PAI-1, PAI-2 y uPA, este último en su forma inactiva (proUPA) que tiene gran afinidad por el receptor específico en la membrana celular; en su forma inactiva no es susceptible de inhibición por PAI-1. Por lo tanto la expresión de receptores es un paso importante en la fragmentación de la matriz extracelular(12). Se sabe también que los activadores del plasminógeno pueden ser protegidos de su inactivación a través de su unión a receptores específicos.

El papel de PAI-1 en la biología tumoral es desconocida y controvertida. Grondahl-Hansen et al han propuesto que actúa como protector del tejido neoplásico contra la proteólisis producida por el tumor en tejido normal; apoyado por hallazgos experimentales en carcinoma pulmonar murino en el que uPA se expresa principalmente en el sitio de invasión (parte externa), mientras que PAI-1 se expresa en áreas no invasivas (parte central) del tumor.(22)

No solo en el carcinoma de mama se ha establecido el papel de uPA en la invasión tumoral, estudios en otros tumores

malignos apoyan esta correlación.(14,15,17,18)

Autores como Duffy(24), Schmit(26) entre otros, han establecido que los niveles elevados de uPA y PAI-1 en extracto tisular de cáncer de mama está asociado con pobre pronóstico.

En este reporte preliminar, los resultados obtenidos no muestran significancia estadística; sin embargo podemos observar que al comparar los niveles de uPA entre los 2 grupos existe diferencia, pero no estadística.

La paciente No 4 del grupo 1 muestra elevación importante de PAI-1 en extracto tisular, lo que sugiere se debe realizar seguimiento para determinar la causa (transformación maligna).

En el grupo de tumores malignos observamos que 2 pacientes muestran elevación tanto de uPA como de PAI-1 en extracto tisular, predominantemente la paciente No 2, lo estaría en relación a lo reportado previamente en la literatura. Cabe destacar que los niveles de PAI-1 en extracto tisular están relacionados al estadio clínico y grado de anaplasia del tumor.

Si bien es cierto que se observan niveles de PAI-1 en plasma elevada en 2 pacientes del grupo 1 y en 3 pacientes del grupo 2, hay que recordar que es un reactante de fase aguda, y que las muestras se tomaron posterior a la cirugía.

Hasta el momento no existen reportes previos en los que se establezca alguna relación entre PAI-1 tisular y plasmá-

tico, por lo que atendiendo a la hipótesis de invasión tumoral, podríamos pensar que se trata de un fenómeno independiente, sin embargo deberá investigarse más al respecto.

Finalmente los resultados de médula ósea y biopsia de hueso obtenidos en este estudio, correlacionan con los reportados previamente, en los que la detección de micrometástasis a médula ósea en estadios tempranos es baja; pero será necesaria su complementación con anticuerpos monoclonales específicos.

**CONCLUSIONES.**

Debido a que el carcinoma de mama ocupa el segundo lugar en frecuencia, pero el primero como causa de muerte en nuestro país, es necesario establecer el valor pronóstico de uPA, PAI- 1 y micrometástasis a médula ósea en nuestra población, para estratificar las pacientes de alto riesgo y con ello ofrecer mejores opciones de tratamiento, como dosis altas de quimioterapia y trasplante autólogo de médula ósea, con resultados satisfactorios.

Al quedar abierto el estudio e incrementar el número de pacientes, posiblemente se logre establecer correlación con resultados reportados en estudios previos.



## B I B L I O G R A F I A .

- 1.- Calabresi P., Schein P. Medical Oncology. Mc Graw Hill.1992
- 2.- Información Estadística del Sector Salud y Seguridad Social INEGI. Cuaserno No. 10.
- 3.- Dearnaley D., Ormerod M., Sloane J. Micrometastases in breast cancer: long-term follow-up of the first patient cohort. Eur J Cancer 1992; 27: 236-239.
- 4.- Cote R., Rosen P, Lesser M, et al. Prediction of early relapse in patients with operable breast cancer by detection of occult bone marrow micrometastases. J Clin Oncol 1991; 9 1749-1756.
- 5.- Diel I, Kaufman M, Goerner R, et al. Detection of tumor cells in bone marrow of patients with primary cancer: a prognostic factor for distant metastasis. J Clin Oncol 1992; 10:1534 - 1539.
- 6.- Cote R, Rosen P, Old L, Osborne M. Detection of bone marrow micrometastases in patients with early-stage breast cancer. Diagn Oncol 1991; 1:37-42.
- 7.- Elson C, Kufe D, Johnston W, Immunohistochemical detection and significance of axillary lymph node micrometastases in breast carcinoma. A study of 97 cases. Analytical and Quantitative Cytology and Histology 1993;3:171-178.
- 8.- Trojani M, Mascarel I, Bonichon F, et al. Micrometastases to axillary lymph nodes from carcinoma of breast: detection by immunohistochemistry and prognostic significance. Br J Cancer 1987; 83:383-386.
- 9.- Chaiwun B, Saad D, Groshen S, et al. Immunohistochemical detection of occult carcinoma in bone marrow and blood. Diagn Oncol 1992;2:267-276.
- 10.-Cote R, Rosen P, Hakes T, et al. Monoclonal antibodies detect occult breast carcinoma metastases in the bone marrow of patients with early stage disease. Am J Surg Pathol 1988;12: 333-340.
- 11.-Sanal S, Flickinger F, CaudeII M, and Sherry M, Detection of bone marrow involvement in breast cancer with magnetic resonance imaging. J Clin Oncol 1994;12:1415-1421.
- 12.-Kwaan H, Keer H, Radosevich J et al. Components of the plasminogen-plasmin system in human tumor cell lines. Sem Throm Hemos 1991;17:175-182.
- 13.-Morimoto A, Tada K, Nakayama Y, et al. Cooperative roles of hepatocyte growth factor and plasminogen activator in tubular morphogenesis by human microvascular endothelial cells. Jpn J Cancer Res 1994;85:53-62,

- 14.- Oka T, Ishida T, Nishino T, and Sugimachi K, immunohistochemical evidence of urokinase-type plasminogen activator in primary and metastatic tumors of pulmonary adenocarcinoma. *Cancer Res* 1991;51:3522-3525.
- 15.- Hansen G, Ralfkiaer E, Kirkeby L, et al. Localization of urokinase type plasminogen activator in stromal cells in adenocarcinomas of the colon in humans. *Am J Pathol* 1991;138:111-117.
- 16.- Kristensen P, Pyke C, Ralfkiaer E, et al. Urokinase type plasminogen activator is expressed in stromal cells and its receptor in cancer cells at invasive foci in human colon adenocarcinomas. *Am J Pathol* 1991;138:1059-1067.
- 17.- Umehara Y, Kimura T, Yoshida M, Oba N and Harada Y. Relationship between plasminogen activators and stomach carcinoma stage. *Acta Oncol* 1991;30:815-818.
- 18.- Takeuchi Y, Nakao A, Harada A? et al. Expression of plasminogen activators and their inhibitors in human pancreatic carcinoma: immunohistochemical study. *Am J Gastroenterology* 1993; 88:1928-1933.
- 19.- Landau B, Kwaan H, Verrusio E, and Brem S. Elevated levels of urokinase type plasminogen activators and plasminogen activator inhibitor type-1 in malignant human brain tumors. *Cancer Res* 1994;54:1105-1108.
- 20.- Del Vecchio S, Stopelli P, Carriero M, et al. Human urokinase receptor concentration in malignant and benign breast tumors by in vitro quantitative autoradiography: comparison with urokinase levels. *Cancer Res* 1993;53:3198-3206.
- 21.- Bianchi E, Cohen L, Thor A, Todd R, et al. The urokinase receptor is expressed in invasive breast cancer but not in normal breast tissue. *Cancer Res* 1994;54:861-866.
- 22.- Grondahl-Hansen, Christensen J, Rosenquist C, et al. High levels of urokinase type plasminogen activators and its inhibitor PAI-1 in cytosolic extracts of breast carcinomas are associated with poor prognosis. *Cancer Res* 1993;53:2513-2521.
- 23.- Duffy M, Reilly D, O'Sullivan C, O'Higgins N, et al. Urokinase plasminogen activator, a new and independent prognostic marker in breast cancer. *Cancer Res* 1990;50:6827-6829.
- 24.- Duffy M, Mrcpath P, O'Grady P, et al. Urokinase plasminogen activator, a marker for aggressive breast carcinomas. *Cancer* 1988;62:531-533.
- 25.- Cohen R, Crowley C, Lucas K, et al. Effects of urokinase receptor occupancy on plasmin generation and proteolysis of basement membrane by human tumor cells. *Blood* 1991;2:479-487.

- 26.- Foekens J, Schmitt M, Peters H, et al. Prognostic value of urokinase type plasminogen activator in 671 primary breast cancer patients. *Cancer Res* 1992;52:6101-6105.
- 27.- Pyke C, Graem N, Ronne E, et al. Receptor for urokinase is present in tumor-associated macrophages in ductal breast carcinoma. *Cancer Res* 1993;53:1911-1915.
- 28.- Porreau-Schneider N, Delori P, Boutiere B, et al. Modulation of plasminogen activator systems by matrix components in two breast cancer cell lines: MCF-7 and MDA-MB-231. *J Natl Cancer Inst* 1989;81:259-266.
- 29.- Garne J, Aspegren K, Linell F, et al. Primary prognostic factors in invasive breast cancer with special reference to ductal carcinoma and histologic malignancy grade. *Cancer* 1994;73:1438-1448.
- 30.- Neave L, Mason B, and Key R. Does delay in diagnosis of breast cancer affect survival?. *Breast Cancer Res and Treat* 1990;15:103-108.