



**UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE MÉXICO**

FACULTAD DE MEDICINA

DIVISIÓN DE ESTUDIO DE POSTGRADO
E INVESTIGACIÓN

INSTITUTO DE SEGURIDAD Y SERVICIOS SOCIALES
DE LOS TRABAJADORES DEL ESTADO

**EXPRESIÓN DE KI-67 EN TUMORES DE
MÚSCULO LISO DE UTERO**

**TRABAJO DE INVESTIGACION QUE PRESENTA :
PEDRO SILVESTRE MIGUEL PEREZ
PARA OBTENER EL DIPLOMA DE LA ESPECIALIDAD
ANATOMIA PATOLÓGICA**

ASESOR DE TESIS:
FERNANDO ENRIQUE DE LA TORRE RENDÓN



ISSSTE

NO. DE REGISTRO DE PROTOCOLO:
150

2007



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.

Dr. Sergio Barragán Pazillo
Coordinador de CAPADESI

Dr. Sergio Barragán Pazillo
Jefe de enseñanza

Dr. César Augusto Ruiz Parado
Jefe de investigación

I. S. S. S. T. E.
HOSPITAL REGIONAL
LIC. ABOLFO LÓPEZ MATEOS
★ 31 OCT 2007 ★
COORDINACIÓN DE CALIFICACIÓN
DESARROLLO E INVESTIGACIÓN

31 OCT 2007



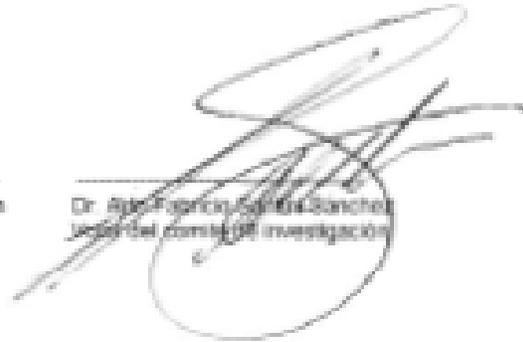
I. S. S. S. T. E.
REGISTRACIÓN GENERAL MEDICA
05 NOV 2007
SUBDIRECCIÓN DE REGULACIÓN
Y ATENCIÓN HOSPITALARIA
ENTRADA



Dr. Luis Cisneros Sotelo
Profesor Titular



Dr. Fernando Enrique De La Torre Rendon
Asesor de Tesis



Dr. Aldo Fajardo Salazar Sanchez
Jefe del comité de investigación

RESUMEN

La clasificación y el pronóstico de los tumores uterinos de músculo liso muestra algunas áreas conflictivas. Por un lado existen tumores de aspecto benigno que muestran un comportamiento maligno y por otro lado algunos tumores muestran características morfológicas de malignidad como aumento de la celularidad o atipia, sin que ello se traduzca en un comportamiento agresivo. El marcador más confiable para predecir el comportamiento de uno de estos tumores es la tasa mitótica. La expresión de la proteína Ki-67 (MIB-1) es un indicador objetivo y confiable del número de células en ciclo celular. En este estudio utilizamos la expresión de Ki-67 para determinar la tasa de proliferación de tumores benignos, malignos y atípicos de músculo liso. Encontramos una tasa de proliferación uniformemente baja en los tumores benignos (no más de tres células por cinco campos). La tasa más alta correspondió a los tumores malignos (con valores de hasta 338 células positivas en cinco campos). Los tumores atípicos mostraron una tasa promedio intermedia entre los dos anteriores pero con una distribución polarizada entre los valores de más de 50 células (4 casos de 33) y los de menos de 50 células (29 casos de 33).

Concluimos que el estudio con Ki-67 es un buen método para aplicar en los tumores de músculo liso atípicos, ya que contribuye a completar el panorama que se extrae del análisis histológico simple.

ABSTRACT

The classification and prognostic of the smooth muscle tumors shows some conflictive areas. On one side there are tumors of benign aspect that show a behavior clearly malign, and on the other side some tumors show morphologic characteristics of malignity like increased celularity or atipia, without a malignant behavior. The most confiable marker to predict this behavior is the mitotic rate. The expression of Ki-67 is an objective indicator of the number of cells in cellular cycle. In this study we use the expression of Ki-67 to determine the proliferation index of benign, malign and borderline tumors. We found a proliferation index very low in the benign tumors, very hight in the malign tumors, and the rest lie in between.

We conclude that the study whith Ki-67 is a good method to the diagnosis in the borderline sooth muscle tumors.

INDICE

INTRODUCCIÓN.....	4
DEFINICION DEL PROBLEMA.....	4
JUSTIFICACIÓN.....	4
ANTECEDENTES.....	5
HIPÓTESIS.....	11
OBJETIVOS.....	11
MATERIAL Y METODOS.....	12
RESULTADOS.....	13
DISCUSIÓN.....	13
GRAFICAS.....	14
CONCLUSIONES.....	16
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	17
ANEXOS.....	20

INTRODUCCIÓN

DEFINICION DEL PROBLEMA

Se desconoce el abanico de expresión inmunohistoquímica de Ki67 en los tumores de músculo liso de útero tanto benignos como malignos.

JUSTIFICACIÓN

Actualmente no existe en el hospital regional “lic. Adolfo López Mateos” un protocolo de análisis inmunohistoquímico de tumores de músculo liso. Un protocolo de tales características se ha probado tan sólo parcialmente en algunas instituciones, con reactivos diferentes y con objetivos diferentes de los que persigue este trabajo.

La tasa de proliferación celular por si sola es el criterio más confiables para preveer el comportamiento clínico de un tumor de músculo liso. Se puede estudiar por muchos métodos, pero uno de los más sencillos es la inmunohistoquímica, en particular la expresión de Ki67 . Con los datos que se conocen hoy en día del comportamiento molecular de los tumores, y con los datos que aportan investigaciones previas podemos suponer que la expresión de este reactivo abrirá un abanico de expresión potencialmente clasificable. En todo caso la tendencia obligada es a desterrar los términos de incertidumbre que no aportan información útil para el manejo del paciente. Sin el diseño de herramientas de este tipo se imponen dos comportamientos básicos ante estos tumores inciertos, una vigilancia cuidadosa, con monitoreo constante de cada paciente, o el entendido de una curación que no siempre será cierta. Estas dos opciones, quedan generalmente, al criterio del clínico. En el primer caso se incurriría en un gasto prohibitivo para cualquier institución de salud, en el segundo se incurriría en negligencia por omisión de cuidados. Si se analiza con cuidado el costo de una medicina ética y responsable queda claro que potenciar el diseño de herramientas diagnosticas como las que proponemos es más que una posibilidad, una necesidad. En un futuro demasiado cercano, sin estas herramientas la atención médica institucional está condenada a volverse incosteable o a despegarse de los lineamientos éticos más básicos.

ANTECEDENTES

LEIOMIOMAS

Generalidades

El leiomioma consiste en una proliferación leiomiocítica circunscrita en medio de una estroma fibrosa que contiene escasos vasos sanguíneos (Prayson, 1995; Crow 1998; Anderson, 2002). Aunque en la literatura médica se emplean libremente términos sinónimos (fibromioma, leiomiofibroma, mioma, fibroma o fibroide) el de leiomioma se ajusta mejor a su histogénesis. Afecta principalmente a mujeres mayores de 35 años, con una frecuencia que depende en gran parte del procedimiento empleado para su detección (15 al 35%). Las mujeres de raza negra tiene mayor propensión a la enfermedad. Suele involucrar con la menopausia (Lefebvre, 1993).

Su localización en el útero y su volumen suelen correlacionarse con el tipo de manifestaciones clínicas, aunque no siempre es así. Destacan el dolor y/o la sensación de peso pelviano, asociándose o no a hemorragia uterina. Los estudios ecográficos y la histeroscopia permiten precisar sus características y planificar el tipo de tratamiento más adecuado. En la actualidad existen alternativas que han sustituido la resección quirúrgica del útero. Pueden realizarse miomectomías completas por vía laparoscópica y endoscópica, y si se considera beneficioso, se indica tratamiento médico prequirúrgico (danazol y/o agonista de la hormona liberadora de gonadotropina [GnRH]).

Tamaño. Se expresa midiendo el diámetro máximo (estableciéndose el rango cuando las lesiones son múltiples). Los tumores esferoidales son excepcionales, ya que predominan los ovoides. Pueden ser desde muy pequeños (hallazgo incidental) hasta lesiones muy grandes. Se conocen casos con un peso total de varios kilogramos y diámetro máximo superior a 30 cm. Recientemente, se ha descrito un caso de polileiomomatosis uterina en el que el mayor leiomioma pesó 6,2Kg (Ruan, 1999).

Número. Los leiomiomas uterinos pueden ser únicos o múltiples, lo cual muchas veces, junto con su gran tamaño, limita el tipo de tratamiento quirúrgico. En algún caso en el cual ha sido necesario preservar el útero (por deseo gestacional), se ha tenido la oportunidad de examinar algo más de 40 leiomiomas. En otros, ha sido posible extirpar mediante resección endoscópica más de 130 g de tejido.

Característica Macroscópicas

Ubicación. Según el lugar en el que se encuentren dentro del útero, son intramurales, submucosos o subserosos.

Aunque su ubicación suele ser compartida (intramurales con crecimiento submucoso o subseroso), se dan casos con crecimiento exclusivamente submucoso o subseroso, llegando a ser pediculados. Si bien suelen encontrarse ubicados en el cuerpo uterino, también pueden afectar el istmo o hallarse exclusivamente en el cuello uterino.

Consistencia. Es variable, según el tipo de leiomiomas. En el convencional, la consistencia es semiblanda y elástica. Cuanto mayor sea la cantidad de colágeno en la estroma, mayor será su dureza; por el contrario, cuanto mayor sea la celularidad (en proporción a la estroma) más blando será, sobre todo cuando haya edema, degeneración mixoide o necrosis.

Configuración, superficie externa, superficie de corte y contorno. Ya se ha mencionado el predominio de la configuración ovoide sobre la esferoidal; queda por señalar la posibilidad de que el crecimiento sea en forma de ovoide alargado, inclusive a manera de un “tubérculo” de contornos irregulares. La superficie externa de las lesiones subserosas suele ser lila o lobulada, y el peritoneo que cubre la lesión permite visualizar por transparencia vasos de trayecto tortuoso. Excepcionalmente, se aprecia fibrosis focal en forma de placas blanquecinas de contornos imprecisos. La superficie de los leiomiomas submucosos suele estar constituida por endometrio atrófico, con o sin hemorragia. La superficie de corte de un leiomioma convencional es fasciculada o plexiforme, y de color gris rosado con tonalidades variables que dependen de la cantidad de colágeno en la estroma. En algunos casos destacan los vasos sanguíneos con paredes relativamente gruesas y seccionados en diversos planos. El contorno de un leiomioma convencional corresponde al de una lesión con crecimiento expansivo, aunque no se aprecia una verdadera cápsula. En el miometrio adyacente se visualizan cambios secundarios a este crecimiento expansivo (disposición arciforme de las fibras musculares).

Procedencia

De acuerdo con la procedencia, el estudio de los especímenes resecados incluye tres tipos de leiomiomas:

Los que se encuentran en una pieza de histerectomía: leiomioma(s) en útero.

Los que se han resecado preservando el útero: leiomioma(s) de procedencia uterina. En ocasiones este material se recibe conjuntamente con porciones de miometrio (plastia de pared uterina)

Fragmentos aislados de uno o varios leiomiomas submucosos, producto de su resección endoscópica. En esos casos, además de miometrio también pueden apreciarse porciones de mucosa endometrial (basal, funcionante o hipotrófica). Cuando por causas imprevistas de ocurrencia excepcional se hace necesario practicar una histerectomía después de la resección endoscópica del mioma, los cambios residuales son muy llamativos, ya que la superficie cruenta es irregular por acción del resectoscopio.

Tipos de Leiomioma

Leiomioma Convencional

Ya se ha hecho referencia a la apariencia de la superficie externa y de corte en esta variedad, con mucho la más frecuente. Microscópicamente, se aprecia una proliferación mesenquimatoso de células fusiformes (leiomiocitos) que forman ovillos o haces que se entrecruzan de forma irregular. No hay atipias nucleares y las mitosis son excepcionales. La matriz extracelular de la estroma contiene cantidades variables de colágeno, así como cambios secundarios en combinación y proporciones variables. Los vasos sanguíneos de la estroma muestran engrosamiento segmentario de sus paredes (hipertrofia de la muscular). En los límites con el miometrio adyacente, cuando éste está presente, el crecimiento es expansivo.

Leiomioma Celular

Cuando la celularidad es ostensiblemente superior a la del miometrio adyacente y se aprecian variaciones arquitecturales significativas si se compara con el tipo convencional, se utiliza el término leiomioma celular (Evans, 1988). Ello coincide con una apariencia macroscópica algo más carnosa, más blanda y algo menos fasciculada, pudiéndose presentar con mayor frecuencia necrosis y hemorragia. No deben haber atipias nucleares y siempre menos de 4 mitosis por 10 campos de mayor aumento (CMA). Tampoco debe apreciarse necrosis unicelular o focal.

Las lesiones con mayor celularidad sin llegar a ser las de un leiomiomasarcoma deben distinguirse del nódulo estromal en el caso de estar bien circunscritas, o del sarcoma estromal de bajo grado cuando el crecimiento es al menos focalmente infiltrativo. La arquitectura fasciculada, el predominio de núcleos fusiformes, el reconocimiento de vasos con una pared muscular gruesa, la

existencia de hendiduras alargadas, la transición gradual (fusión) entre la proliferación celular y el miometrio adyacente y la expresión de desmina, favorecen la histogénesis muscular (Oliva,1995).

Recientemente, se ha presentado los hallazgos de casos en los cuales se encuentra una proliferación leiomiocítica mezclada con células estromales (Clement, 2000).

Leiomioma mitóticamente activo

Pueden encontrarse leiomiomas convencionales o celulares con más de 4, pero menos de 20 mitosis por 10 CMA, en los cuales no hay atipia nuclear significativa y la necrosis (tipo infarto) puede estar ausente (O'Connor, 1990; Prayson, 1992). Son casos en los cuales la localización submucosa, su resección durante la fase secretora del ciclo menstrual, la asociación con embarazo o los antecedentes de terapia hormonal se consideran factores propiciadores de una elevación en el número de mitosis. Bell et al (1994) los tipificaron dentro de un grupo provisional, destacando la mayor cantidad de mitosis pero admitiendo escasa experiencia sobre su potencial evolutivo. Deben tomarse precauciones en el diagnóstico diferencial con leiomiosarcomas, y al mismo tiempo tener presente que pueden apreciarse cambios focales del mismo tipo en leiomiomas ulcerados o alrededor de áreas de necrosis hemorrágica.

Leiomioma simplástico (pleomórfico)

Cuando en un leiomioma se visualizan células tumorales gigantes y pleomórficas, en las cuales hay variación en el tamaño y en la afinidad cromática de los núcleos, se consideran leiomiomas simplásticos (también denominados pleomórficos, atípicos o bizarros) (Downes, 1997; Grases, 1997). A diferencia del leiomiosarcoma, su celularidad es menor, no suele haber necrosis, el crecimiento es expansivo y las mitosis son excepcionales. El hallazgo de anormalidades cromosómicas en varios leiomiomas celulares y en un leiomioma simplástico (Meloni, 1992) no ha sido confirmado.

En cualquier caso, este tipo de leiomioma no debe confundirse con las atipias de un leiomiosarcoma, y antes de emitir un dictamen concluyente conviene examinar múltiples cortes histológicos con la finalidad de buscar atributos propios de un tumor leiomiocítico con potencial maligno incierto o claramente sarcomatoso (Silverberg, 1992).

Leiomioma epiteliode

Esta categoría exhibe rasgos similares al de los tumores epitelioides en otras localizaciones; en el útero también son infrecuentes (Prayson, 1997). Incluye los tumores uterinos descritos como leiomioblastoma, leiomioma de células claras y leiomioma plexiforme.

Macroscópicamente, se caracterizan por la tonalidad grisácea y/o amarillenta del tejido, y tienden a ser de consistencia algo menor. Microscópicamente, los leiomiocitos proliferados son redondeados o poligonales en vez de ser fusiformes. Se disponen en grupos o cordones y los núcleos son redondos, relativamente grandes y de localización central. Cuando el citoplasma es eosinófilo o más bien abundante, claro y limitado por una membrana bien definida, se entiende que se hayan designado como leiomioblastomas en el primer caso y como leiomiomas de células claras en el segundo. En cuanto al leiomioma plexiforme, se basa en un rasgo arquitectural. En conjunto, el tejido es menos compacto y las células acrecientan su disposición en islotes o cordones. De cualquier forma, todas estas variedades se incluyen dentro de la categoría de leiomiomas epitelioides.

Para distinguir las lesiones benignas de las que tienen un potencial evolutivo maligno se aplican los mismos criterios diferenciales (Prayson,1997). El tamaño, la presencia de necrosis, de atipias nucleares y, en particular, el número de mitosis haciendo un recuento minucioso de preferencia en múltiples campos en bloques tisulares de procedencia diversa y a mayor aumento (se utiliza el promedio). Cinco o más mitosis por 10 CMA son suficientes para indicar controles cuidadosos.

La modalidad de leiomioma plexiforme minúsculo previamente interpretado como e origen vascular se ha descrito como "tumorlet plexiforme". En algunos casos, las lesiones son múltiples y pueden localizarse en cualquier sitio del miometrio e inclusive en la estroma endometrial.

Leiomiolipoma

Es un tumor benigno constituido por una proliferación de células musculares lisas que coexisten con adipositos maduros en proporciones variables. Es poco frecuente, se han descrito algo más de 200 casos en la literatura médica, y puede sospecharse su presencia radiológica (Tresserra, 1995; Avritscher, 2001). En su casuística los autores han encontrado asociación con cambios simplásticos o pleomórficos en un caso, y la coexistencia de adenocarcinoma del endometrio en otros dos. Existen varias teorías para explicar el origen de los leiomiolipomas; la de mayor aceptación establece el origen del tejido adiposo como resultado de una metaplasia del músculo liso o de las células conjuntivas de la estroma (Honoré, 1978). Así mismo, se ha demostrado la presencia de desmina y mioglobina (antígenos musculares) en algunas de las células adiposas (Resta, 1994; Gentile, 1996). Cuando el componente lipomatoso está constituido por grasa embrionaria (parda), se utiliza el término leiomiolipoma (Chen, 1999). También se ha descrito una lesión hamartomatosa en la cual, además de células musculares lisas y adipositos, se encontraron glándulas endometriales rodeadas por estroma endometrial; se ha denominado adenolipoleiomioma (McCluggage, 2000).

Leiomioma vascular

Ocasionalmente, pueden encontrarse leiomiomas con un componente vascular prominente, constituido por vasos arteriales y venosos de calibre variable y con una capa muscular prominente. El revestimiento endotelial no muestra atipias. También pueden contener adipositos. En algunos casos se aprecia trombosis. El leiomioma vascular debe distinguirse de los angiomas cavernosos y de las malformaciones arteriovenosas. Ambas son lesiones de excepcional ocurrencia y sus límites son imprecisos. Las malformaciones arteriovenosas suelen formar parte de lesiones múltiples con afectación extrauterina.

Leiomiomatosis difusa

Se caracteriza por lesiones múltiples, escasamente circunscritas, muchas de ellas confluyente y con capacidad para reproducir un incremento simétrico del volumen uterino (Mulvany, 1995). El tamaño de las lesiones es variable; desde nódulos microscópicos hasta nódulos que, excepcionalmente, sobrepasan los 3 cm.

Leiomiomas benignos metastatizantes

En esta entidad pueden encontrarse tumores similares a un leiomioma formando nódulos en el pulmón, en los ganglios linfáticos y en el abdomen. Pueden coexistir con un leiomioma uterino, y destaca el antecedente de haberse producido la resección de uno o varios leiomiomas sin conocimiento de otras lesiones (Jautzke, 1996; Kadry, 1999). En la mayoría de los casos, la tarea de reexaminar la lesión "primitiva" en busca de cambios indicativos de malignidad resulta infructuosa. De ahí la necesidad de aceptar un término paradójico, "leiomioma benigno metastatizante", y en algunos casos no queda más remedio que aceptar el origen multicéntrico de las lesiones.

Leiomioma cotiledonoide disecante

También conocido como tumor de Sternberg, consiste en una variedad de leiomioma de excepcional ocurrencia que se caracteriza por lesiones uterinas muy blandas, exofíticas, multinodulares, con proyección hacia la cavidad pélvica y/o abdominal o entre las hojas del ligamento ancho (Roth, 1996; Menolascino-Bratta, 1999; Roth, 2000). El calificativo de cotiledonoide se debe a su semejanza con un cotiledón placentario. La proliferación leiomiocítica tiene un patrón de crecimiento disecante y, además, cursa con cambios degenerativos extensos y con proliferación vascular abundante. Deben distinguirse de los leiomiomas disecantes intramurales, de la leiomiomatosis intravenosa y del leiomioma multinodular con cambios hidrópicos (Roth, 1999).

Leiomiomatosis intravenosa

Se caracteriza por el crecimiento de músculo liso en el interior de las venas intrauterinas y pélvicas (Mulvany, 1994; Hayasaka, 2000). Se incluye aquí no solo por la eventual afectación uterina, sino, porque hay casos en los cuales la lesión está en íntima vinculación con un leiomioma uterino.

El tejido tumoral plenifica las luces vasculares en forma de masas cilíndricas o espirales, afectando las ramificaciones tributarias del sistema venoso en sentido centrípeto. Tal como se ha dicho, no solo las venas intrauterinas y pélvicas sino también por extensión, existe la posibilidad de afectar la cava inferior, la cava superior e incluso la aurícula derecha.

Microscópicamente, se trata de una proliferación leiomiomatosa sin atipias pudiéndose encontrar áreas de fibrosis hialina. Las unidades de tejido neoplásico se encuentran revestidas por endotelio. Puede encontrarse cualquier tipo de diferenciación de los tipos previamente descritos (convencional, celular, epitelioides, vascular, simplástico o lipomatoso). Así como en algunos casos se aprecia el origen multifocal de la lesión a partir de la capa muscular de las venas, en otros casos el tumor aparece plenificando la luz vascular dilatada y mostrando contacto puntual con la pared.

Cambios Degenerativos

En un mioma pueden producirse alteraciones diversas como resultado de: acumulación de líquido, cambios mixoides en la matriz extracelular, formación de cavidades, existencia en mayor o menor grado de necrosis o formación de depósitos de sales cálcicas. Todo ello se correlaciona con las imágenes que se obtienen en los estudios complementarios.

Edema, cambios mixoides y degeneración pseudoquistica.

Son el resultado de la acumulación excesiva de fluidos en la matriz extracelular de la estroma. En caso de degeneración mixoide, se acumulan mucopolisacáridos, lo cual puede demostrarse mediante el empleo de azul alciano.

Cuando se alcanza la disociación del tejido proliferado llegan a producirse cavidades que dan salida de contenido variable (a veces ligeramente hemorrágico). Se utiliza entonces el término degeneración pseudoquistica, por analogía con situaciones similares en otras localizaciones.

Necrosis

La muerte hística puede ser masiva o focal, y en la práctica se distinguen dos tipos: la necrosis tipo infarto y la necrosis celular. En la primera es posible visualizar (aunque no siempre) una zona de transición constituida por tejido de granulación o tejido fibroso entre la porción afectada y la porción viable. Este cambio, que le confiere una apariencia momificada a una porción de considerable tamaño dentro del mioma, contrasta con la necrosis celular que tiene lugar en el leiomioma. En el caso de malignidad, la transición es abrupta y suelen observarse células viables rodeando los vasos.

Cuando la necrosis está presente en una lesión submucosa ulcerada, se aprecian fragmentos necróticos dispersos en el lecho de la úlcera, cambios vasculares (incluida trombosis) y cambios inflamatorios; estos últimos también pueden tener lugar en miomas intramurales con necrosis y hemorragia.

Fibrosis y degeneración hialina.

Dependiendo de cada caso puede haber un incremento significativo de la cantidad de fibras colágenas en la matriz extracelular de la estroma. Ulteriormente, estas fibras se homogenizan y adquieren una apariencia hialina. Este tipo de cambio puede ser extenso e incluso enmascarar la estirpe muscular de una determinada lesión.

Calcificaciones

Los depósitos de sales cálcicas pueden ser de magnitud y distribución variables. Desde los casos en los que solo se detectan microscópicamente, hasta los que afectan la totalidad de la lesión (nódulo petrificado). Cabe igualmente destacar la variante en la que la calcificación solo tiene lugar en la porción periférica de un leiomioma masivamente necrótico.

Cambios iatrogénicos

Básicamente, se distinguen dos tipos: los asociados con el empleo de anticonceptivos orales y los atribuidos al efecto de los agonistas de la GnRH.

En relación a los anticonceptivos orales y especialmente al empleo de noretindroma (Myles, 1985), pueden encontrarse leiomiomas apoplécticos con eventual rotura hacia cavidad peritoneal, que produce abdomen agudo. La necrosis se ha vinculado a la existencia de trombosis vasculares.

En los leiomiomas de pacientes tratadas con agonistas de GnRH puede haber incremento de la celularidad y necrosis coagulativa (Colgan, 1993; Rintala, 1999). En otro estudio, empleando el mismo agente (acetato de leuprolide), aunque se logró reducir a corto plazo el volumen de los nomás, no se encontraron cambios histopatológicos significativos (Gutmann, 1994). Se presume que el estado hipoestrogénico inducido por el acetato de leuprolide es capaz de producir vasoconstricción, engrosamiento y trombosis de los vasos, resultando isquemia, hialinización y reducción del volumen del leiomioma (Demoupoulos, 1997). Los estudios previos con casuísticas numerosas (107 casos) cuestionan este efecto y concluyen que el mecanismo capaz de reducir el tamaño de los leiomiomas con acetato de leuprolide no es aparente en los estudios histológicos convencionales (Sreenan, 1996).

Diagnóstico diferencial

La categorización precisa de las neoplasias de músculo liso en el útero no es siempre fácil (Bell, 1994; Hart, 1997). Las diversas propuestas para su clasificación con implicaciones pronósticas, basadas en índice mitótico, la atipia nuclear y en la presencia o ausencia de necrosis, tiene sus limitaciones. La utilización de índices de proliferación (PCNA y AgNORs), ploidía y marcadores pronósticos (p53 y proteína MDM-2) no han ofrecido ventajas (Layfield, 2000).

HIPOTESIS

Si la expresión inmunohistoquímica de Ki67 en los tumores de músculo liso de útero muestra una tendencia estadística bipolar similar por un lado a la expresión de los leiomiomas y por otro a la de los leiomiosarcomas, entonces la expresión inmunohistoquímica de estos tumores es potencialmente clasificable.

OBJETIVOS

Determinar la variabilidad de expresión inmunohistoquímica de los tumores de músculo liso de útero:

- 1- comparar la expresión inmunohistoquímica de los tumores de músculo liso benignos, atípicos y malignos
- 2-correlacionar el aspecto histológico de los tumores estudiados y su diagnóstico previo con su expresión inmunohistoquímica.
- 3-establecer un rango de expresión inmunohistoquímica que permita establecer una línea divisoria clara entre los diagnósticos de los tumores de músculo liso de útero

MATERIAL Y METODOS

Se realizó una búsqueda de casos en los archivos electrónicos del departamento de patología del Hospital "Lic. Adolfo López Mateos" de agosto del año 2000 a Septiembre del año 2006. Se obtuvieron 55 casos seleccionados en tres grupos según los siguientes criterios de admisión:

Leiomiosarcomas: Siete Casos diagnosticados como leiomiosarcomas, que contaron con material disponible en el archivo (laminillas y bloques de parafina).

Leiomiomias tipicos: Se recibieron uteros en fresco durante el año 2006 con el fin de obtener cortes en fresco de los leiomiomias y fijarlos en formol amortiguado. Estos casos fueron diagnosticados posteriormente como leiomiomias tipicos y se reservó material para estudio posterior. Se obtuvieron quince casos.

Leiomiomias atípicos: Se consideraron en esta categoría a todos los casos diagnosticados como leiomiomias no tipicos, es decir lipoleiomiomias, leiomiomias celulares, simplásticos, bizarros, plexiformes, adenomiomias, etc... Se incorporaron al estudio siempre y cuando existiera material suficiente en archivos. Se obtuvieron treinta y tres casos en esta categoría.

La información se recopiló en un solo formato (ver anexo).

Una vez seleccionados los casos se obtuvieron primero las laminillas de los archivos con el fin de corroborar el diagnóstico previo con tinción de hematoxilina-eosina y escoger la más representativa del diagnóstico previo de cada caso. Con una laminilla por caso corroborado se revisó de nuevo el material para seleccionar el campo destinado al estudio de inmunohistoquímica con Ki-67. Para seleccionar este campo se utilizaron los siguientes criterios:

- Las áreas mejor conservadas del tumor
- Las áreas con la morfología más representativa del diagnóstico previo
- Las áreas más celulares

Con los 55 casos con área seleccionada se procedió a buscar los bloques de parafina en archivo para cortar el área seleccionada y obtener las laminillas para la tinción de inmunohistoquímica.

La valoración de la expresión de Ki-67 se realizó tras el conteo de células positivas en cinco campos de gran aumento. Para este conteo se tomaron en cuenta las áreas con mayor positividad en el tumor y/o las más celulares.

RESULTADOS

El conteo de células positivas en cinco campos fue en promedio de 1 para los leiomiomas típicos, de 24.1 para los leiomiomas atípicos y de 149.1 para los leiomiosarcomas (gráfica 1)

La distribución de la positividad por casos mostró una tendencia claramente bipolar más acentuada en los leiomiomas atípicos. (gráfica 2)

DISCUSIÓN

Un gran número de características histológicas e inmunohistoquímicas se han estudiado como factores pronósticos en los tumores de músculo liso de útero. De todos estos el factor más importante es el conteo mitótico. El uso e interpretación del Ki-67, sin embargo es mucho más polémico. Existen varios estudios que arrojan resultados diametralmente opuestos. Mientras que Shpitz, Valenti y otros descartan el valor predictivo del Ki-67, los estudios de Zhai, Leiser y Dixon entre otros dan a este marcador un papel protagónico en la evaluación de los tumores de músculo liso.

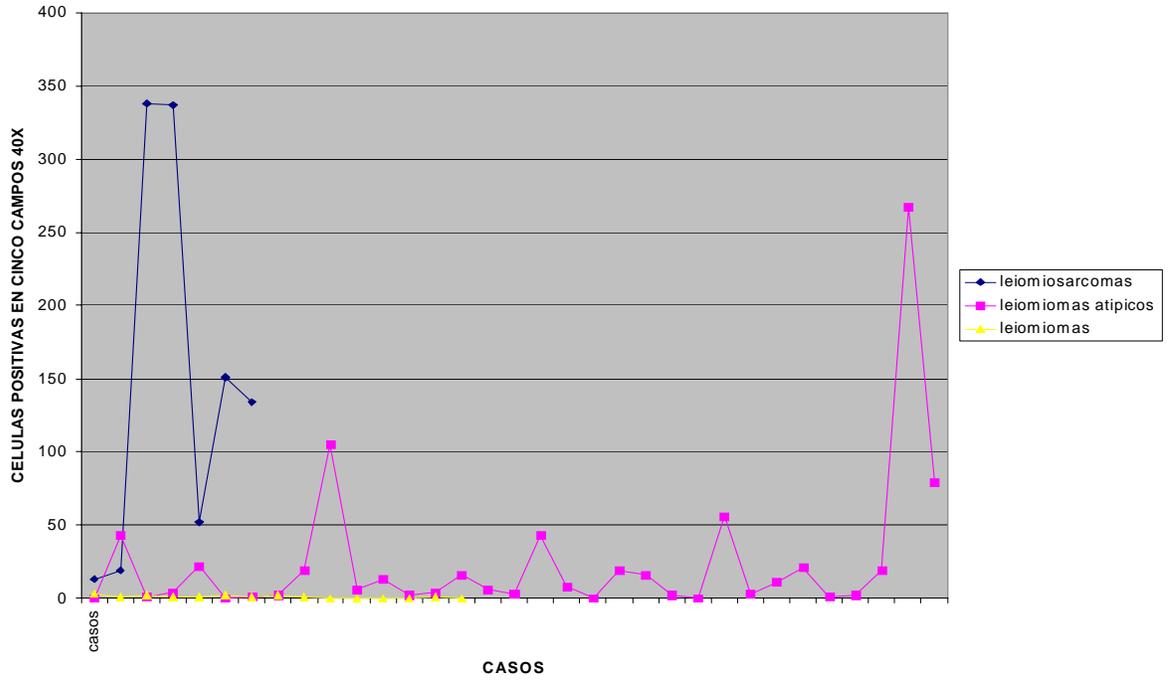
En nuestro estudio obtenemos resultados claramente bipolares para los tumores benignos en comparación con los tumores malignos. Como era de esperar los índices de replicación más bajos se obtuvieron entre los leiomiomas típicos, mientras que del otro lado de la moneda, los leiomiosarcomas obtuvieron, con mucho los valores más altos. Sin embargo el sector de análisis más interesante lo integran los tumores atípicos. En una gran mayoría de los casos el diagnóstico morfológico de estos tumores establece un área gris en la que el patólogo no se decide por un tumor claramente benigno o maligno. Mucho se ha discutido sobre la relación entre el aspecto de un tumor y su comportamiento y si algo queda siempre claro es que un tumor maligno no siempre se ve como "maligno". Son varios los ejemplos en los que un tumor de aspecto citológico "benigno" da metástasis, pero en ningún campo abundan tanto estos ejemplos como entre los tumores uterinos de músculo liso. Existía el temor, previo a los resultados, de que la expresión al Ki-67 de este grupo de tumores se comportara, al igual que la morfología, de manera gris, neutra, en un intervalo intermedio. Creemos que probablemente el mejor aporte de este estudio sea el rango extremo de positividad que exhibieron los tumores de este grupo. El número de células positivas osciló entre 0 y 267, con una distribución por casos francamente polarizada, con solo dos casos de los 33 por encima de 100 células positivas (gráfica 3)

A este respecto se debe tener en mente que la variación de índice mitótico en los leiomiomas durante las fases del ciclo menstrual siempre se ha considerado un fenómeno bien establecido, a pesar de que autores como Zaslowski en el 2001 concluyera que la expresión de Ki-67 en los leiomiomas no dependía del ciclo menstrual.

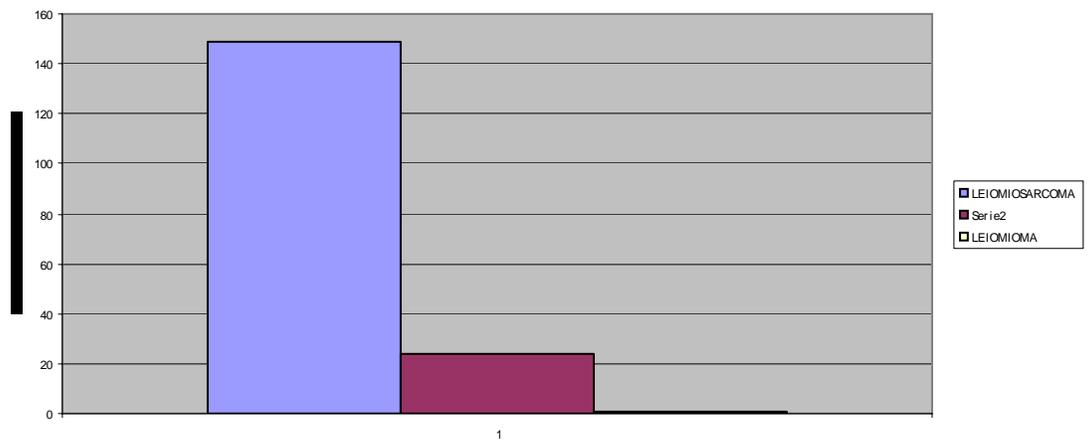
Ya sea que se quiera atribuir al estímulo por progesterona o a la sospecha de un leiomioma de aspecto inocente y comportamiento maligno lo cierto es que conocer el índice de proliferación de un tumor de músculo liso puede ser invaluable

GRAFICAS

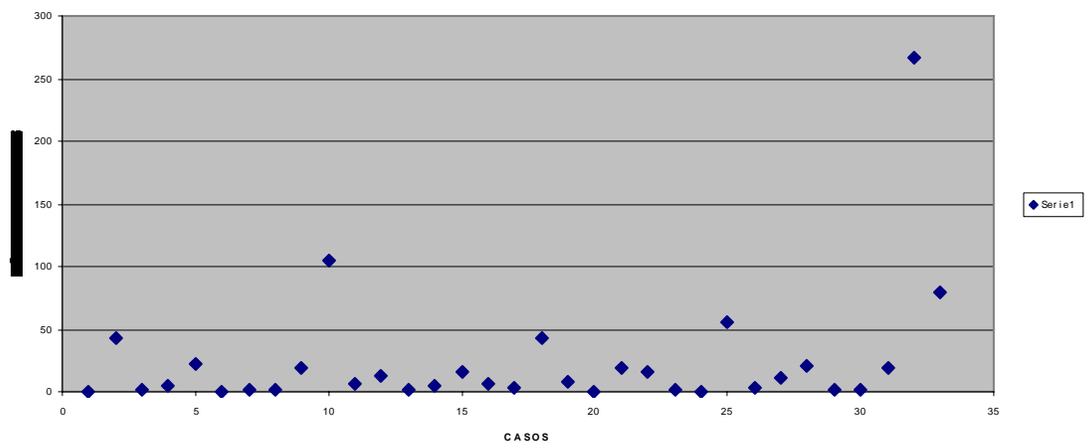
EXPRESION DE Ki-67



EXPRESIÓN DE Ki-67



DISTRIBUCIÓN DE POSITIVIDAD EN LEIOMIOMAS ATÍPICOS



CONCLUSIONES

De los resultados de este estudio se pueden concluir varios puntos:

- los tumores benignos de músculo liso tienden a mostrar un índice de proliferación uniformemente bajo (todos mostraron menos de tres células positivas en cinco campos).
- Los leiomiomas muestran una expresión de Ki-67 notablemente elevada (149.1 células en promedio)
- Los leiomiomas atípicos expresan un índice de proliferación que podemos llamar trimodal. Dos casos mostraron más de 100 células positivas, otros dos casos mostraron más de 50 células pero menos de 100 y el resto se mantuvo por debajo de 50 células positivas.
- Podemos proponer la positividad de más de 50 células en cinco campos (o 10 células Ki-67 positivas por campo), como línea de umbral para clasificar estos tumores de músculo liso con cambios atípicos.
- La marcada polaridad que muestran los leiomiomas atípicos hace obligado su reporte al médico clínico con una nota aclaratoria, para completar el panorama pronóstico de estos tumores

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Anderson MC, Robboy SJ, Russell P. Uterine smooth muscle tumors. En Robboy SJ, Anderson MC, Russell P. editors. Pathology of the female reproductive tract. London: Churchill Livingstone, 2002; p 389 – 414.
- Avritscher R, Iyer RB, Ro J, Whitman G. Lipoleiomyoma of the uterus. AJM Am J Roentgenol 2001; 177: 856.
- Bell SW, Kempson RL, Hendrikson MR. Problematic uterine smooth muscle neoplasms. A clinicopathologic study of 213 cases. Am J Sug Pathol 1994; 18: 535 – 58
- Chen KT. Uterine leiomyohibernoma. Int J Gynecol Pathol 1999; 18:96-7
- Clement PB. The pathology of uterine smooth muscle tumors and mixed endometrial stromal-smooth muscle tumors. A selective review with emphasis on recent advances. Int J Gynecol Pathol 2000;19: 39-55.
- Colgan TJ, Pendergast S, LeBlanc M. The histopathology of uterine leiomiomas following treatment with gonadotropin-releasing hormone analogues. Hum Pathol 1993;24:1073-7.
- Crow J. Patology of uterine fibroids. Baillieres Clin Obstet Gynaecol. 1998;12:197-211.
- Demoupoulos RI, Jones KY, Mittal KR, Vamvakas EC. Histology of leiomyomata in patients treated with leuprolide acetate. Int J Gynecol Pathol 1997; 16: 131-7.
- Downes KA, Hart WR. Bizarre leiomiomas of the uterus: A comprehensive study of 24 cases with long-term follow-up. Am J Surg Pathol 1997; 21: 1261-70
- Evans HL, Chawla SP, Simpson C, Finn KP. Smooth muscle neoplasm of the uterus other than ordinary leiomyoma. A study of 46 cases, with emphasis on diagnostic criteria and prognosis factors. Cancer 1988; 62: 2239-47.
- Gentile R, Zarri M, De Lucchi F, Bellone F, Lapertosa G. Lipoleiomyoma of the uterus. Patológica 1996; 88: 132-4.
- Grases-Biceño PJ, Ubeda A, Grases P, Tresserra F, Labastida R. LEIOMIOMA pleomórfico del útero. Espectro clínico-patológico en siete casos. Prog Obstet Gin 1997; 40: 351-6.

- Guttman JN, Thornton KL, Diamond MP, Carcangiu ML. Evaluation of leuprolide acetate treatment on histopathology of uterine myomata. *Fertil Steril* 1994;61: 622-6

- Hart WR. Problematic uterine smooth muscle neoplasms. *Am J Surg Pathol* 1997. 21:252-5

- Hayasaka K, Tanaka Y, Fujii M, Himi K, Negishi N. Intravenous leiomyomatosis. *J Comput Assist Tomogr* 2000; 24: 83-5

- Honoré LH. Uterine fibrolipoleiomyoma: Report of a case with discussion of histogenesis. *Am J Obstet Gynecol* 1978; 132:635-6.

- Jautzke G, Müller-Ruchholtz E, Thalman U. Immunohistochemical detection of estrogen and progesterone receptors in multiple and well differentiated leiomyomatous lung tumors in women with uterine leiomyomas (so-called benign metastasizing leiomyomas) A report on 5 cases. *Pathol Res Pract* 1996; 192: 215-23.

- Kadry M, Sievers C, Engelmann C. Pulmonary leiomyomatosis in women after hysterectomy for uterine myoma. Benign metastasizing leiomyoma? *Acta Chir Hung* 1999; 38: 57-61.

- Layfield LJ, Lui K, Dodge R, Barsky SH. Uterine smooth muscle tumors: Utility of classification by proliferation, ploidy, and prognostic markers versus traditional histopathology. *Arch Pathol Lab Med* 2000; 124: 221-7

- Lefebvre Y. Fibromyomes uterins. Editions Techniques, Encycl Med Chir. Paris France. *Gynecologie* 570-A-10 1993; p 10

- McCluggage WGM, Hamal P, Traub AI, Walsh MY. Uterine adenolipoleiomyoma: A rare hamartomatous lesion. *Int J Gynecol Pathol* 2000; 19: 183-5

- Meloni AM, Surti U, Contento AM, Davare J, Sandberg AA. Uterine leiomyomas: Cytogenetic and histologic profile. *Obstet Gynecol* 1992; 80: 209-17

- Menolascino-Bratta F, Garcia de Barriola V, Naranjo de Gomez M, Garcia Tamayo J, Suarez JA, Hernandez Chacon AV. Cotyledonoid dissecting leiomyoma (Sternberg tumor): An unusual form of leiomyoma. *Pathol Res Pract* 1999; 195: 435-8

- Mulvany NJ, Ostor AG, Ross I. Diffuse leiomyomatosis of the uterus. *Histopathology* 1995; 27: 175-9.

- Mulvany NJ, Slavin JR, Ostor AG, Fortune DW. Intravenous leiomyomatosis of the uterus: A clinicopathologic study of 22 cases. *Int J Gynecol Pathol* 1994; 13: 1-9.

- Myles JL, Hart WR. Apoplectic leiomyomas of the uterus. A clinicopathologic study of five distinctive hemorrhagic leiomyomas associated with oral contraceptive usage. *Am J Surg Pathol* 1985; 9: 798-805.

- Norris HJ, Hilliard GD, Irey NS. Hemorrhagic cellular leiomyomas (apoplectic leiomyoma) of the uterus associated with pregnancy and oral contraceptives. *Int. J. Gynecol Pathol* 1988; 7: 212-24.

- O'Connor DM, Norris HJ. Mitotically active leiomyomas of the uterus. *Hum Pathol* 1990; 21:223-7.

- Oliva E, Yiung RH, Clement PB, Bhan AK, Scully RE. Cellular benign mesenchymal tumors of the uterus. A comparative morphologic and immunohistochemical analysis of 33 highly cellular leiomyomas and six endometrial stromal nodules, two frequently confused tumors. *Am J Surg Pathol* 1995; 19: 757-68.

- Pedro J grades. *Patología ginecológica*. Ed Masson, 2002;p. 87-99

Susan C. Lester. *Manual of Surgical Pathology*. Ed Elsevier, 2006;p 120

Valenti MT, Azzarello G, Vinante O et al. Differentiation, proliferation and apoptosis levels in human leiomyoma and leiomyosarcoma. *J Cancer Res Clin Oncol*. 1998;124(2):93-105

Zhai YL et al.Expression of cyclins and cyclin-dependent kinases in smooth muscle tumors of the uterus.*Int J Cancer*. 1999 Jun 21;84(3):244-50

Leiser et al.Apoptotic and cell cycle regulatory markers in uterine leiomyosarcoma *Gynecol Oncol*. 2006 Apr; 101(1):86-91Epub 2005Nov9

Dixon et al. Cell proliferation and apoptosis in human uterine leiomyomas and myometria. *Virchows Arch* 2002 Jul;441(1):53-62. Epub 2002 Mar 23

Zaslowski R et al. Analysis of the expression of estrogen and progesterone receptors and of PCNA and Ki-67 proliferation antigens, in uterine myomata cells in relation to the phase of the menstrual cycle. *Med Sci Monit.* 2001 Sep-Oct;7(5):908-13

Crum CP, Lee KR. *Diagnostic Gynecologic and obstetric pathology.* Ed Elsevier, 2006; p611-675

