



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

---

---

**FACULTAD DE MEDICINA**

**EXPRESIÓN DE RECEPTORES A HORMONAS  
E STEROIDES EN TUMORES EPITELIALES  
DE OVARIO.**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:  
LICENCIADO EN INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA BÁSICA**

**PRESENTA:  
MARLON DE ITALEY**

**DIRECTORA DE TESIS:  
DRA. MARÍA DEL CARMEN MÉNDEZ HERRERA**



**MÉXICO, D.F.**

**2010**



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.

## DEDICATORIAS

---

A la Universidad Nacional Autónoma de México, por ser mi amada alma mater.

A Dios, por haberme mandado cosas buenas (muchas) y las cosas malas (pocas), y sobre todo por haberme permitido completar mi camino a este punto.

A Tere Ley, mi mamá, por ser la mujer más importante de mi vida.

A Facundo De Ita, mi papá, porque a su manera esta, cuando se le necesita.

A mis hermanos Christian, Dario y Jorge, por ser como son, porque sus sueños me permiten continuar, por soñar conmigo toda la vida.

A la Sra. Rosa y a Sr. Juan Antonio (qepd), mis abuelos, que cada plegaria que me mandan me da fuerza para continuar cada día.

A Margarita mi mamá adoptiva, a Gaby y Moni, mis hermanas y a mis sobrinas Ximena, Mariana y África por haberme hecho parte de su vida en estos años.

A la Sra. Blanca, a Don Jaime, a Paola y a Jesús por haberme aceptado en su familia y haberme hecho sentir como parte de ésta, de de una y mil maneras.

A la Dra. Carmen y el Dr. Pedernera por haber confiar en mí, haberme hecho crecer en todos los aspectos que me permiten ser una mejor persona cada día.

A Carmen, María José, Adriana, Alejandro, Rodrigo, Esteban, Mara, René, Elisa, la Sra. Rebeca y Doña Celia de mi estancia de primer año, porque me mantuvieron a flote cuando me estaba ahogando.

A la Dra. Bety Gómez por su tutoría en mi segundo año y permitirme acercarme a uno de mis ilusiones en la ciencia, la virología.

A la Dra. Rocío Tirado, por haber sido mi mentora en la carrera.

A Rosa Elena, Jorge, Gerardo, Carlos, Yuko y Chelo, de mi estancia de segundo año por todo su apoyo y amistad en ese año y en los consecuentes.

Al Dr. Fernando López Casillas por haberme acogido en su laboratorio el tercer año de la carrera y haberme enseñado a criticar el trabajo propio.

A Abril, Valentín, Georgina y Liz por haber hecho la estancia de tercer año la más divertida de todas.

A Coqui, Carlos, Carmen, Mary, Silvia, Vero, Jeannette, Araceli, Mónica, Fátima, Natalia, Paco, Víctor y Doña Naty por haber logrado calmar mis nervios a lo largo del año y haber hecho la estancia de cuarto año la más familiar de todas.

A Sachis, Miriam y a todo el laboratorio 5 del departamento de Biología Molecular y Genética del CINVESTAV por haberme brindando el mejor verano de mi vida.

A mis amigos de Chihuahua: Alicia, Edgar, Nacho, Rocío, Carlos, Cynthia, René, Gaby, Alonso, Jaime, Mara, Hugo, Arturo, Bere, Grace, Óscar y Mitzi por haberme puesto mis cachetadas cuando las necesité, un abrazo reconfortante en los días grises y por sobre todo recordarme el porque hacía las cosas.

A Viri Jaquez por tenerme siempre alejado del borde de la línea.

A Javier G. por compartir un juego, Fátima R, por una llamada; Carlos A. por un abrazo y Bruno A. por una plática... a cada uno por haberme brindado la mano cuando más la necesitaba.

A todos mis compañeros en IBB y en especial a Isui, Daniela, Manuel, Carla, Eunice y Fátima por haber compartido conmigo un instante en el tiempo.

A mi tía Aída por siempre querer apoyarme.

A Rebeca y Emiliano por estar ahí, en las buenas y en las malas, para recordarme que tengo otra familia todavía.

A mis tías y tíos, primas y primos de Chihuahua y del DF, que por falta de inspiración, no me queda más que decirles: gracias.

A Ide (qepd) por haberme enseñado la lección más importante de mi vida.

Sobre todo a Rodrigo Alejandro Hernández Montiel, mi escritor favorito, los siete pilares de mi acueducto...

---

---

## AGRADECIMIENTOS

---

---

A la Dra. Carmen Méndez Herrera por su excelente tutoría en el desarrollo del proyecto.  
Al Dr. Enrique Pedernera Astegiano por su apoyo y consejo académico que permitieron realizar este trabajo.

A la Dra. Verónica Díaz Hernández por su apoyo en la discusión del trabajo.

A la Dra. Flavia Morales Vásquez por su apoyo en la obtención de muestras y el manejo de los datos estadísticos.

A la Dra. Laura Tirado Gómez por su apoyo en el área de epidemiología.

A la Dra. Delia Pérez-Montiel por su asesoramiento en el área de patología.

A la Dra. Lourdes Massieu Trigo, al Dr. Salvador Uribe Carvajal y al Dr. Horacio Merchant Larios por sus valiosas críticas y comentarios.

### **Agradecimientos Técnicos.**

A la C. D Maria José Gómora Herrera por su apoyo técnico con el procesamiento de las muestras de tumores de ovario e inmunohistoquímicas.

A la QFB Carmen Mondragón Huerta por su apoyo técnico en el uso del microscopio confocal y el procesamiento de las muestras.

A la M. en C. Silvia Reyes Maya por su apoyo técnico con el uso del microscopio confocal.

A la Tec. Académico Verónica Rodríguez Mata por su apoyo y asesoría en el procesamiento histológico.

## APOYOS ECONÓMICOS

La presente tesis se realizó con apoyo financiero de Dirección General de Asuntos al Personal Académico-Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (DGAPA-PAPIIT) a través de los proyectos de investigación: “Regulación del desarrollo epitelial superficial del ovario por factores de crecimiento y hormonas” con número de proyecto IN216807-3 y “Determinación de los receptores a hormonas esteroides y GPR-30 en cáncer epitelial del ovario y su asociación con la respuesta al tratamiento” con número de proyecto IN206810 a cargo de la Dra. María del Carmen Méndez Herrera.

Al Instituto Nacional de Cancerología por la donación de las muestras de cáncer epitelial de ovario amparadas bajo el proyecto 080340MI.

Para la realización de este trabajo se empleó el Microscopio Confocal Leica TC5-SP5 adquirido con financiamiento del Macroproyecto Nuevas Estrategias Epidemiológicas, Genómicas y Proteómicas en Salud Pública SDI-PTID.05.01

Becario de DGAPA-PAPIIT por los proyectos: “Regulación del desarrollo epitelial superficial del ovario por factores de crecimiento y hormonas” con número de proyecto IN216807-3 y “Determinación de los receptores a hormonas esteroides y GPR-30 en cáncer epitelial del ovario y su asociación con la respuesta al tratamiento” con número de proyecto IN206810

# ÍNDICE

---

---

Abreviaturas empleadas en el texto.....	1
Marco Teórico.....	3
El ovario.....	3
Fisiología del ovario.....	3
Histología del ovario.....	5
Cáncer Epitelial del Ovario.....	7
Diagnóstico Clínico.....	7
Sintomatología.....	8
CA125.....	8
Estadificación del cáncer epitelial del ovario.....	9
Reglas para la clasificación del cáncer epitelial de ovario.....	10
Evaluación para estadificación quirúrgica.....	10
Estadificación de la Federación Internacional de Ginecología y	
Obstetricia.....	11
Histopatología molecular del cáncer epitelial del ovario.....	12
Características histopatológicas y moleculares del cáncer epitelial del	
ovario .....	13
Tumores Serosos.....	13
Tumores Endometrioides.....	14
Tumores Mucinosos.....	16
Tumores de Células Claras.....	18
Tratamiento del cáncer epitelial de ovario.....	19
Factores asociados con la etiología del cáncer epitelial de ovario.....	20
Factores Protectores.....	20
Factores de Riesgo.....	20
Etiología del cáncer epitelial del ovario.....	22
Teorías de origen del cáncer epitelial de ovario.....	22
Receptores a esteroides sexuales.....	24
Receptores nucleares.....	24

Receptor a Progesterona.....	26
Receptor a Estrógenos $\alpha$ .....	26
Receptor a Estrógenos $\beta$ .....	27
Receptor a Andrógenos.....	27
Receptores membranales.....	29
Receptor acoplado a proteínas G 30.....	29
Esteroides sexuales, sus receptores y cáncer epitelial de ovario.....	30
<b>Problema de estudio.....</b>	<b>35</b>
<b>Objetivo.....</b>	<b>36</b>
Objetivo general.....	36
Objetivos particulares.....	36
<b>Material y Métodos.....</b>	<b>37</b>
Inmunodetección.....	38
Inmunohistoquímica.....	38
Inmunofluorescencia.....	38
Análisis Epidemiológico.....	39
<b>Resultados.....</b>	<b>40</b>
Inmunodetección para los receptores a hormonas esteroides.....	40
Análisis de las historias clínicas.....	46
Epidemiología.....	50
<b>Discusión.....</b>	<b>52</b>
<b>Conclusiones.....</b>	<b>58</b>
<b>Perspectivas.....</b>	<b>59</b>
<b>Bibliografía.....</b>	<b>60</b>
<b>Apéndices.....</b>	<b>64</b>
Apéndice 1. Reactivos.....	64
Apéndice 2. Carta de consentimiento informado.....	66

## Abreviaturas empleadas en el texto

**AF1.-** Dominio de activación 1.

**AF2.-** Dominio de activación 2.

**AMPc.-** Adenil mono fosfato cíclico.

**ARA/B.-** Receptor a andrógenos isoforma A/B.

**BRA-F.-** Homólogo B1 del oncogén del sarcoma viral murino.

**BCL2.-** Linfoma de células B 2.

**BRCA 1/2.-** Cáncer de mama 1 y 2

**CDK4.-** Quinasa dependiente de ciclina 4

**CDK5.-** Quinasa dependiente de ciclina 5.

**CEO.-** Cáncer epitelial de ovario.

**CTNNB1.-** Catenina beta

**CYP17.-** Citocromo P450 monoxigenasa 17.

**CYP19.-** Citocromo P450 monoxigenasa 19.

**DAB.-** Diaminobencidina.

**DAPI.-** 4',6-diamidino-2-fenilindol.

**DBD.-** Dominio de unión al ADN.

**DHT.-** Dihidrotestosterona.

**DHEA.-** Dihidroepiandrosterona.

**ADN.-** Ácido desoxirribonucleico.

**ER $\alpha$ .-** Receptor a estrógenos alfa.

**ER $\beta$ .-** Receptor a estrógenos beta.

**EGF.-** Factor de crecimiento epidérmico.

**ERK.-** Quinasa Regulada por cascadas extracelulares (MAPK).

**FIGO.-** Federación Internacional de Ginecología y Obstetricia.

**FITC.-** Isotiocianato de fluoresceína.

**FSH.-** Hormona Folículo Estimulante.

**GPR30/GPER1.-** Receptor a proteína G 30/ Receptor a estrógenos acoplado a proteína G 1.

**HAS.-** Hipertensión arterial sistémica.

**HB-EGF.-** Factor de crecimiento similar al factor de crecimiento epidérmico de unión a heparina.

**HER 2.-** Receptor a factor de crecimiento epidérmico humano 2

**HNF-1 $\beta$ .-** Factor nuclear hepatocítico 1 beta.

**Hsp90.-** Proteína de choque térmico 90.

**IMC.-** Índice de masa corporal.

**INCan.-** Instituto Nacional de Cancerología.

**K-RAS.-** Homólogo del oncogén del sarcoma viral de rata Kirsten.

**LBD.-** Dominio de unión a ligando.

**LH.-** Hormona Luteinizante

**MAPK.-** Quinasa de proteína asociada a mitógenos (ERK).

**PP5.-** Proteína fosfatasa 5.

**PRA/B/C.-** Receptor a progesterona isoforma A, B y C.

**PBS.-** Amortiguador salino de fosfatos.

**PI3K.-** Fosfoinositol 3 quinasa.

**PTEN.-** Fosfatasa y homólogo de tensina.

**TP53.-** Proteína de tumor 53 (p53).

**WT1.-** Tumor de Wilms 1.

**3 $\beta$ HSD.-** 3 beta Hidroxisteroide deshidrogenasa

**17 $\beta$ HSD.-** 17 beta hidroxisteroide deshidrogenasa

---

## MARCO TEÓRICO

---

### El ovario

Los ovarios son estructuras altamente dinámicas a lo largo de la vida de la mujer: contienen, maduran y liberan a los ovocitos capaces de ser fecundados, además se encargan de sintetizar hormonas necesarias para orquestar los cambios fisiológicos asociados a la reproducción <sup>1</sup>.

Los ovarios se desarrollan en la embriogénesis a partir de la cresta genital; en el neonato tienen 13 mm de longitud, 6 mm de ancho y 4 mm de espesor e incrementan gradualmente su tamaño en la edad adulta hasta llegar a 30 mm x 15 mm x 50 mm <sup>2</sup>; para el momento de la menopausia reducen su tamaño a 20 mm x 10 mm x 15 mm. El volumen de cada ovario antes de la menarquia es de 3 cm<sup>3</sup>, en la edad reproductiva es de 11 cm<sup>3</sup> y en la postmenopausia es de 6 cm<sup>3</sup> <sup>3</sup>.

Los ovarios se encuentran situados a cada lado del útero, próximos a la pared lateral de la pelvis y están unidos a la cara posterior del peritoneo por el ligamento ancho del útero. Se adhieren por detrás y por debajo de la tuba uterina; cerca de su límite superior se encuentran unidos por un doble pliegue del peritoneo, el mesovario, por donde corren nervios y vasos sanguíneos que irrigan al ovario <sup>2</sup>.

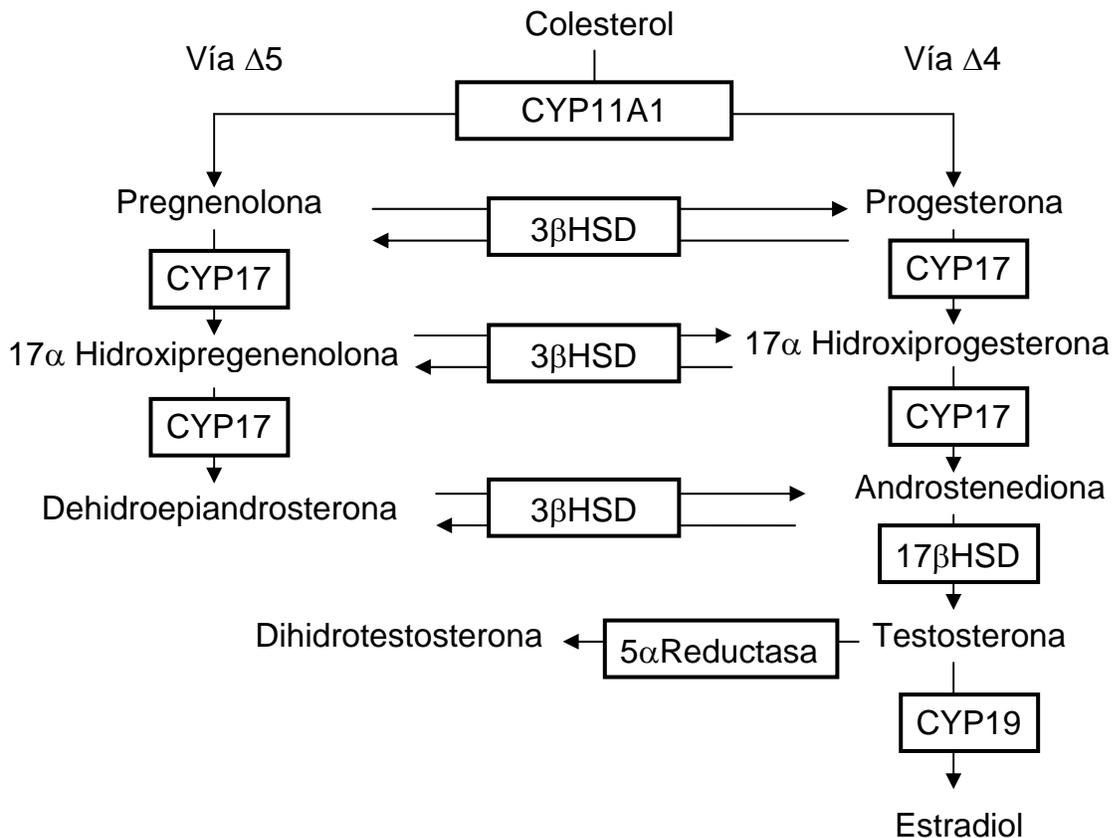
### Fisiología del Ovario

La unidad funcional del ovario es el folículo ovárico. Esta estructura se compone por tres tipos de células: un ovocito, células de la teca y células granulosas. La función principal del folículo ovárico es mantener al ovocito viable y además, durante el proceso de maduración folicular, se producen esteroides sexuales <sup>1</sup>.

Los esteroides sexuales participan en la etapa adulta en la adquisición de caracteres sexuales secundarios y los cambios fisiológicos asociados con la reproducción. La secreción de los esteroides sexuales está regulada por el eje

hipotálamo-hipófisis-gónada. El hipotálamo secreta hormona liberadora de gonadotropinas que actúa en la adenohipófisis donde induce la liberación de hormona luteinizante (LH) y la hormona folículo estimulante (FSH). Estas hormonas actúan sobre los folículos ováricos en crecimiento para promover la producción de estradiol y progesterona <sup>1</sup>.

La biosíntesis de esteroides ocurre bajo el modelo de dos células-dos gonadotropinas. En el cual, las células de la teca estimuladas por LH sintetizan andrógenos a partir del progestágenos mediante la enzima CYP17, la cual se encarga de transformar progesterona y pregnenolona en dehidroepiandrosterona y androstenediona. Las células de la granulosa estimuladas por FSH aromatizan los andrógenos en estrógenos a través de la enzima CYP19. Después de la ovulación y la liberación del ovocito, las células de la granulosa que remanecen en el ovario producen progesterona. En el ovario humano la vía preferente de biosíntesis es la vía  $\Delta 5$  o la de pregnenolona (Figura 1) <sup>4</sup>.



**Figura 1.-** Se observa una imagen que describe las vías de biosíntesis de esteroides sexuales a partir del colesterol. Modificado de Payne A. et al 2004.

Durante el ciclo sexual se observan diversas fluctuaciones en las concentraciones sanguíneas de los estrógenos, andrógenos y progestágenos. En la fase folicular del ciclo se observa un aumento de estrógenos y andrógenos, mientras que en la fase luteínica hay una elevación del nivel de progesterona <sup>1</sup>.

Estas fluctuaciones inducen los cambios fisiológicos que permiten la fecundación: estradiol prepara a la tuba para el transporte del ovocito y estimula la proliferación del endometrio para la implantación del producto; mientras que la progesterona será necesaria para la implantación y el mantenimiento de la embarazo. Ambos esteroides intervienen en diversos aspectos de la fisiología de la mujer que le permitirán mantener a un producto de fecundación <sup>1</sup>.

Durante la menopausia, cuando se agota la reserva folicular, se invierten los niveles hormonales circulantes de la edad reproductiva. Se observa un aumento de LH, FSH y andrógenos que son detectados desde la perimenopausia y que continúan observándose durante la posmenopausia. Estos desbalances hormonales afectan la homeostasis y la fisiología normal de la mujer llevándola a manifestaciones clínicas propias de la menopausia. <sup>5</sup>

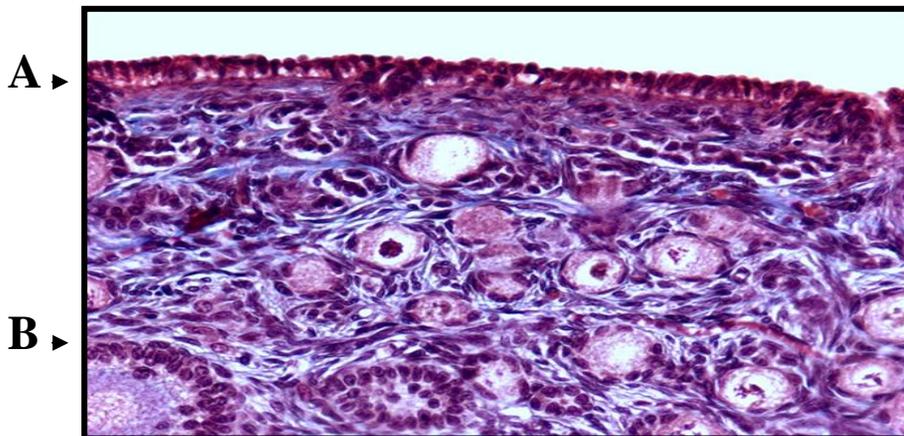
### **Histología del ovario.**

En el ovario describen tres compartimentos histológicos: la corteza, la médula y el epitelio superficial.

**Corteza ovárica.** Es la capa intermedia y constituye la mayor parte del ovario; en esta estructura se observan los folículos ováricos en diferentes estadios de maduración así como cuerpos amarillos y resto de cuerpos blancos, que son folículos en degeneración derivados de la liberación del ovocito. Los folículos están incluidos en un estroma fibrocelular denso formado por fibras colágenas finas entrelazadas y células fusiformes similares a fibroblastos. Inmediatamente sobre esta capa de células se observa una capa de colágena o túnica albugínea que limita al ovario y sobre la cual se encuentra el epitelio superficial <sup>3</sup>.

**Médula ovárica:** Es la capa más interna del ovario y se encuentra ampliamente vascularizada. Esta conformada por estroma de tejido conjuntivo laxo, con muchas fibras de elastina, pericitos y músculo liso, los cuales penetran en el hilio desde el mesovario.<sup>3</sup>

**Epitelio superficial del ovario (ESO).** Es la capa más externa del ovario y es un epitelio de células cúbicas que presentan microvellosidades, de igual manera pueden observarse grupos difusos de células epiteliales más planas y con menos vellosidades, que pueden representar la reacción de las células a la lesión epitelial producida por la ovulación. Este epitelio contiene proteínas marcadores celulares de mesotelios y de epitelios, además de filamentos de citoqueratina y vimentina<sup>3</sup>.



**Imagen 1.-** Corte de ovario de mujer adulta teñido con hematoxilina y eosina en el que se observan el epitelio superficial (A) y la corteza donde se observan folículos en diferentes estadios de maduración (B).

## Cáncer Epitelial del Ovario

El cáncer de ovario de tipo epitelial (CEO) es una patología cuyo origen es el epitelio superficial del ovario. Es la tercera causa de muerte por cáncer ginecológico en México y aproximadamente anualmente se detectan 2000 casos nuevos. El CEO presenta una tasa de letalidad del 75% <sup>6</sup>, mientras que en países desarrollados es la primera causa de muerte por cáncer de tipo ginecológico <sup>7</sup>. El riesgo de padecer CEO durante la vida de la mujer es 1 en 71 y su riesgo de morir por cáncer de ovario invasivo es de 1 en 95 <sup>8</sup>. Sin embargo, las tasas de incidencia del CEO varían entre la raza y la población estudiada <sup>9</sup> (Tabla 1).

Raza	Tasa de incidencia	Raza	Tasa de incidencia
Caucásica	18.1	Hispánica	13.5
Asiática	12.6	Afroamericana	12.2
Nativa americana	10.2		

**Tabla 1.-** Tasas de incidencia por cada 100, 000 habitantes discriminadas por raza modificada de Modugno 2004.

### Diagnóstico Clínico

#### Examen físico

Después de la menopausia las mujeres deben de ser examinadas con frecuencia para detectar irregularidades en los ovarios, ya que normalmente decrecientan su tamaño y se vuelven no palpables en esta etapa. La exploración física debe formar parte del diagnóstico clínico del CEO, sin embargo, este procedimiento no es sensible para la detección de masas en el ovario hasta que son prominentes <sup>9</sup>.

La paciente con edad avanzada debe ser evaluada con minuciosidad. Realizar un examen pélvico con la vejiga vacía y una examinación rectovaginal maximiza la oportunidad de detectar una masa pélvica anormal. Si se detecta una masa anormal se pueden reconocer las siguientes características físicas: ovarios alargados mayores a 10

cm, irregularidades ováricas, masas pélvicas nodulares fijas, lesiones bilaterales y nódulos en el cul-de-sac de la vagina<sup>9</sup>.

### **Sintomatología**

Las pacientes con CEO padecen una sintomatología común, sin importar grado avance del tumor: sensación de saciedad abdominal temprana, dolor de espalda, constipación y/o diarrea, fatiga, náusea, dolor pélvico y síntomas urinarios; cuando ha ocurrido metástasis se puede presentar caquexia, un estado caracterizado por extrema desnutrición, atrofia muscular, fatiga, debilidad y anorexia, ascitis o acumulación de líquido en la cavidad peritoneal así como efusión pleural o una acumulación anormal de líquido en la pleura que rodea a los pulmones.

Los síntomas que se presentan las pacientes con CEO son poco específicos y pueden aparecer en cualquier etapa de la vida de la mujer, aún en condiciones benignas. En la actualidad se buscan biomarcadores que permitan diagnosticar de manera temprana el CEO; sin embargo sólo el marcador serológico CA125 ha tenido repercusión en la clínica durante el seguimiento de la progresión de la enfermedad <sup>9</sup>.

### *CA125 <sup>10</sup>*

EL CA125 es una glicoproteína transmembranal que se encuentra expresada de manera embrionaria por el epitelio celómico y el tejido amniótico. En el adulto se encuentra en los tejidos derivados del epitelio celómico como las células mesoteliales de la pleura, el pericardio y el peritoneo, así como en derivados del epitelio Mülleriano como la tuba uterina, el endometrio y el endocérvix; mientras que el epitelio superficial del ovario, otro derivado del epitelio celómico, no expresa CA125.

La presencia de CA125 en suero es el estudio de laboratorio más empleado para la detección de rutina del CEO. Los niveles normales de CA125 en mujeres sanas son menores a 35U/ml, mientras que en las pacientes con CEO sobrepasa este nivel en aproximadamente el 83% de los casos. Cuando el CEO se estratifica por estadios, se observan niveles mayores al basal en el 90% de las pacientes con cáncer de ovario de

estadio avanzado; sin embargo, ésta elevación solo se observa en un 50% de las pacientes con estadios tempranos.

El empleo de los valores de CA125 como referencia para la detección de CEO es poco confiable debido a que presenta poca de sensibilidad y genera una alta tasa de falsos positivos. La elevación de CA125 en suero puede observarse en condiciones benignas de ovario, menstruación y embarazo, de igual manera se observa en cáncer de páncreas, mama, vejiga, hígado, pulmón y pleura.

### **Estadificación del cáncer epitelial del ovario <sup>11</sup>**

La estadificación del CEO es vital para el diagnóstico y pronóstico de las pacientes afectadas. En la actualidad la estadificación más empleada es la definida por la Federación Internacional de Ginecología y Obstetricia (FIGO), en la cual se determina la localización del tumor. Para realizar esta estadificación se analizan las siguientes estructuras:

**Sitio primario:** Los ovarios

**Nodos de drenaje.-** Se observan los sitios de drenaje linfático de los ovarios: La irrigación utero-ovárica, la vía infundibulopélvica, el tronco del ligamento redondo y una ruta iliaca externa accesoria que irriga los siguientes nódulos linfáticos regionales: iliaco externo, iliaco común, hipogástrico, sacro lateral, nódulos para-aórticos y ocasionalmente los nódulos inguinales.

**Sitios Metastáticos.-** Se observa la superficie del peritoneo, incluyendo los omentos y las vísceras abdominales y pélvicas, debido a que son los sitios más comunes para la implantación. Esto incluye a las superficies diafragmáticas, el hígado y la pleura que son los sitios comunes de invasión. La metástasis ocurre de manera infrecuente en otros sitios peritoneales o extrapleurales.

## **Reglas para la clasificación del cáncer epitelial de ovario**

A pesar que la tomografía axial computarizada puede delinear la diseminación intra-abdominal en un solo paso, el cáncer epitelial de ovario debe ser estadificado de manera quirúrgica e histológica para determinar el avance y malignidad del tumor. Se debe realizar un examen radiológico de tórax para determinar si ha ocurrido metástasis pleural. La metástasis extrapulmonar y extraperitoneal es infrecuente y no se requiere de otro tipo de evaluación radiológica a menos que los síntomas lo ameriten <sup>11</sup>.

### **Evaluación para estadificación quirúrgica <sup>11</sup>**

Si la sospecha de malignidad ocurre en el periodo preoperatorio, una laparotomía exploradora es de mucha utilidad. Los siguientes procedimientos quirúrgicos y de toma de muestras deben ser realizados por cirujanos oncólogos para realizar una estadificación adecuada del CEO:

- Evaluación cuidadosa de todas las superficies peritoneales
- Lavados de la cavidad peritoneal: diafragma, abdomen derecho e izquierdo y pelvis.
- Omentectomía infracólica.
- Linfadectomía seleccionada de nódulos linfáticos pélvicos y para-aórticos.
- Biopsias o resección de cualquier lesión sospechosa así como de masas o adhesiones encontradas.
- Biopsias al azar de las superficies peritoneales normales, incluyendo la superficie subyacente al hemi-diafragma derecho, el reflejo de la vejiga, los recesos parabólicos derechos e izquierdos, el cul-de-sac y ambas paredes pélvicas.
- Histerectomía abdominal total y salpingo-ooforectomía bilateral.
- Apendicetomía para tumores mucinosos.

## Estadificación de la Federación Internacional de Ginecología y Obstetricia

Es el sistema de estadificación más ampliamente utilizado y está basado en los hallazgos quirúrgicos descritos anteriormente <sup>11</sup> (Tabla 2).

**Tabla 2.-** Características clínicas que describe la FIGO para la estadificación quirúrgica.

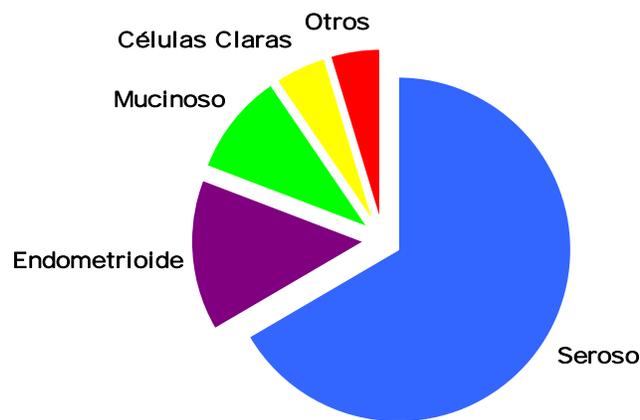
Estadio	Descripción
<b>0</b>	No hay evidencia de tumor primario.
<b>I</b>	Tumor confinado a los ovarios.
<b>IA</b>	Tumor limitado a los ovarios, cápsula integra. No hay tumor en la superficie del ovario. No hay células malignas en las ascitis ni en lavados peritoneales.
<b>IB</b>	Tumor limitado a ambos ovarios, con cápsulas intactas. No hay tumor en la superficie del ovario. No hay células malignas en las ascitis ni en lavados peritoneales.
<b>IC</b>	Tumor limitado a uno o a ambos ovarios, con cualquiera de las siguientes características: cápsula rota, tumor en la superficie del ovario, células malignas positivas en las ascitis o en los lavados peritoneales.
<b>II</b>	Tumor involucra a uno o dos ovarios con extensión pélvica.
<b>IIA</b>	Extensión y/o implantes en el útero y/o en las tubas uterinas. No hay células malignas en las ascitis ni en lavados peritoneales.
<b>IIB</b>	Extensión a otros órganos pélvicos No hay células malignas en las ascitis ni en los lavados peritoneales.
<b>IIC</b>	IIA/B con células malignas positivas en las ascitis o en los lavados peritoneales.
<b>III</b>	El tumor involucra uno o dos ovarios con metástasis microscópica peritoneal confirmada fuera de la pelvis y metástasis en los nódulos linfáticos regionales.
<b>IIIA</b>	Metástasis peritoneal macroscópica
<b>IIIB</b>	Metástasis más allá de la pelvis. 2 cm. o menos en la dimensión más grande.
<b>IIIC</b>	Metástasis peritoneal más allá de la pelvis con implantes mayores a 2 cm. Así como metástasis de nódulos linfáticos regionales.
<b>IV</b>	Metástasis distante, más allá de la cavidad peritoneal.

Tras el tratamiento quirúrgico se realiza la estadificación histopatológica usando como indicadores todos los tipos de muestras obtenidas durante la cirugía <sup>11</sup>.

## Histopatología molecular del cáncer epitelial de ovario

El epitelio superficial del ovario a diferencia de otros tipos de epitelios es descrito como un tejido relativamente indiferenciado y altamente proliferativo, que durante el CEO presenta un cambio hacia el estadio de “diferenciación” <sup>12</sup>. Dadas las características histológicas el CEO se puede clasificar en distintas entidades: seroso, endometriode, mucinoso, células claras y tipo tumor de Brenner, entre otros.

La presentación de estos subtipos histológicos es variable y depende de la población estudiada, sin embargo, se han descrito tendencias en las que de manera general se observa que el subtipo papilar seroso presenta una frecuencia de entre un 40 y un 70%, el subtipo endometriode de un 15 a un 25%, el subtipo mucinoso entre un 10 y 15% y el resto de los subtipos en aproximadamente un 10% <sup>9</sup> (Figura 2).



**Figura 2.-** Diagrama que representa la media de los porcentajes de distribución del cáncer epitelial de ovario en distintas poblaciones.

## Características histopatológicas y moleculares del cáncer epitelial del ovario

### **Tumores Serosos**

#### *Características clínicas*

La edad promedio de las mujeres con carcinomas serosos es de 56 años (rango de edad de mayor incidencia entre 45-65 años) y en aproximadamente en un 70% de los casos los tumores son detectados esta en un estadio avanzado. Los tumores se diseminan mayoritariamente por extensión local al estroma ovárico, diseminación intra-abdominal y a través de los ganglios linfáticos <sup>14</sup>.

#### *Características Macroscópicas.*

Los carcinomas serosos tienen un rango de tamaño amplio, pueden ser microscópicos o llegar a medir más de 20 cm. de diámetro y en dos terceras partes de las pacientes son bilaterales. Los tumores bien diferenciados son típicamente sólidos y quísticos con papilas suaves dentro de los quistes o en sus superficies. Los tumores poco diferenciados son predominantemente masas multinodulares con necrosis y generalmente presentan hemorragias <sup>14</sup>.

#### *Características Microscópicas.*

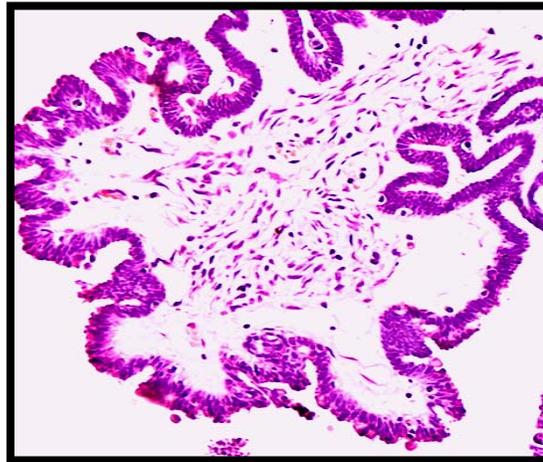
Los tumores serosos presentan de manera característica células epiteliales ciliadas y otros tipos celulares que asemejan al epitelio de la trompa de Falopio. Arquitectónicamente este tipo de tumores tienden a ser uniformes, es decir, no presentan otro tipo de tejido maligno pero muestran ramificaciones irregulares y papilas altamente celulares con poca cantidad de estroma dentro de ésta; de igual manera se pueden observar lúmenes glandulares parecidos a hendidura dentro de las áreas aparentemente más sólidas que tienden a ser uniformes en tamaño y se encuentran orientados radialmente. Las células tumorales son pequeñas y uniformes y con cierta dispersión se observan células mononucleares gigantes. Las mitosis son numerosas, se observan a menudo cuerpos de Psammoma (inclusiones calcificadas), así como necrosis tumoral extensiva <sup>14</sup>.

## *Patología Molecular*

Los tumores serosos de alto grado tienen anomalías en los genes de cáncer de mama, BRCA1 y 2 y la proteína 53, TP53, así como mutaciones en el tumor de Wilms, WT1; presentan inestabilidad cromosómica de manera importante y los tumores expresan receptor a estrógenos alfa en dos terceras partes, mientras que los tumores serosos de bajo grado presentan mutaciones en el homólogo B1 del oncogén del sarcoma viral murino, BRAF y el homólogo del oncogén de sarcoma viral de rata Kirsten, KRAS; así como en WT1 pero no presenta inestabilidad cromosómica <sup>15</sup>.

## *Pronóstico*

Las tasas de supervivencia para pacientes con carcinoma seroso es de 76% en estadio 1, 6% son de estadio 2 y 25% son de estadio 3. Las pacientes que padecen carcinoma seroso de alto grado que contiene núcleos grandes presentan una menor supervivencia que las pacientes que carcinoma seroso del alto grado con núcleos pequeños <sup>14</sup>.



**Imagen 2.-** Corte de un tumor seroso teñido con la hematoxilina y eosina donde se observan células epiteliales ciliadas que se encuentra delimitando una estructura micropapilar.

## **Tumores endometrioides**

### *Características Clínicas.*

El CEO subtipo endometriode se presenta frecuentemente en las mujeres perimenopáusicas y posmenopáusicas con una edad promedio de 56 años. En un 40%

de los casos este tipo carcinomas están asociados con endometriosis ovárica ipsilateral o pélvica. Las pacientes con endometriosis que padecen CEO lo presentan en promedio de 5 a 10 años más jóvenes que las demás pacientes, además de presentar un mejor pronóstico y un menor grado de estadificación. Los carcinomas endometrioides están confinados al ovario o en las estructuras pélvicas adyacentes en un 70% de los casos, en un 28% son bilaterales y en general se presentan principalmente en estadios 1 y 2 <sup>16</sup>.

#### *Características Macroscópicas.*

Los carcinomas endometrioides son predominantemente quísticos, midiendo entre 12 y 20 cm y usualmente poseen superficie externa lisa <sup>16</sup>.

#### *Características Microscópicas.*

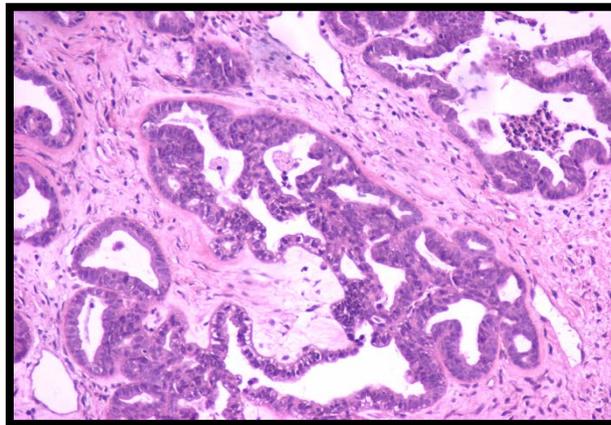
Los carcinomas de ovario de tipo endometriode asemejan de manera muy cercana a los carcinomas endometrioides del cuerpo uterino. Muchos son bien diferenciados, particularmente aquellos que provienen de quistes endometrioides. En general muestran glándulas redondas, ovals o tubulares con un epitelio estratificado no mucinoso y los patrones cribiformes o villoglandulares pueden estar presentes. Los tumores endometrioides poco diferenciados presentan predominantemente un patrón sólido con áreas microglandulares focales. Aproximadamente una tercera parte de los carcinomas de ovario con un componente predominantemente endometriode pueden encontrarse mezclados con otros tipos de carcinomas como el de células claras y el seroso <sup>16</sup>.

#### *Patología Molecular.*

Mutaciones somáticas de los genes  $\beta$  catenina o CTNNB1 y en la fosfatasa homólogo de tensina o PTEN son las anomalías genéticas más frecuentes en este tipo de tumores. La incidencia de la tasa de mutaciones varía entre el 38 y el 50%, mientras que solo para PTEN se encuentra mutado en un 20% de los tumores. Los tumores endometrioides son positivos para receptor a estrógenos alfa y WT1 <sup>15</sup>.

### *Pronóstico.*

La tasa de supervivencia a los 5 años de los pacientes con carcinoma estadio 1 es del 78%, para los de estadio 2 es 63%, los de estadio 3 es de 24% y los de estadio 4 un 6%. Los carcinomas endometrioides con una mezcla de células claras, seroso o carcinoma indiferenciado son reportados como los de un peor pronóstico <sup>16</sup>.



**Imagen 3.-** Corte de un tumor endometriode teñido con hematoxilina y eosina donde se observan células epiteliales agrupadas en estructuras glandulares con apariencia fenestrada.

### **Tumores Mucinosos**

#### *Características clínicas.*

Los tumores mucinosos en un 80% de los casos son benignos y los demás son limítrofes, carcinomas no invasivos e invasivos. Tienen una mayor incidencia en mujeres mayores entre 51-54 años, con lo que se observa que los tumores mucinosos limítrofes y los carcinomas mucinosos son más comunes en las primeras dos décadas de la menopausia que su contraparte serosa <sup>14</sup>.

#### *Características Macroscópicas.*

Los carcinomas mucinosos son usualmente grandes midiendo entre 8 y 40cm, con un promedio de 16-19 cm y pueden llegar a pesar hasta 4 kg. Se pueden observar con masas quísticas multiloculares o uniloculares que contienen fluido mucinoso. Los tumores bilaterales solo ocurren en un 5% de los casos <sup>14</sup>.

### *Características Microscópicas.*

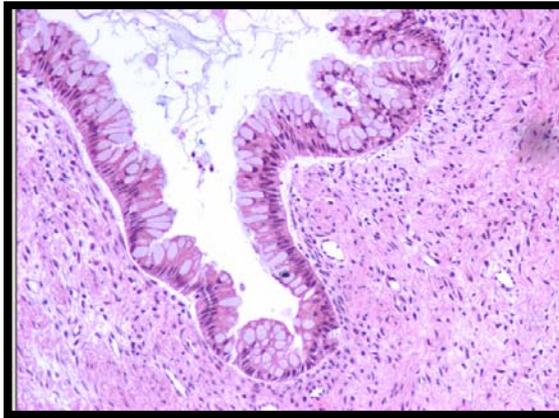
Los tumores mucinosos presentan quistes y glándulas que están revestidas por células epiteliales que contienen mucina intracitoplásmica. Las células tumorales asemejan a las células del endocérvix, píloro gástrico e intestino. Arriba del 80% de los carcinomas mucinosos invasivos tienen componentes de tumores mucinosos limítrofes con características de epitelio intestinal o cistadenomas mucinosos. A menudo presentan áreas sólidas o papilares que pueden ser suaves y mucoides o firmes, hemorrágicas y necróticas. En los tumores de mucinosos ovario, en especial en áreas más sólidas es crítico realizar un muestreo amplio para la estadificación debido a que componentes benignos, malignos y limítrofes pueden coexistir dentro de un solo espécimen y las áreas malignas pueden involucrar solo una parte del tumor <sup>14</sup>.

### *Patología Molecular.*

Las mutaciones de KRAS son comunes en los tumores mucinosos y se presentan de manera temprana. La secuencia del gen del receptor a factor de crecimiento epidérmico humano 2 o HER2 se encuentra amplificada en un 15-20% de los casos. Los tumores mucinosos son uniformemente negativos a receptor a estrógenos alfa y WT1 <sup>15</sup>.

### *Pronóstico.*

El estadio de la FIGO es el único y más importante factor pronóstico y aquellos estadificados dentro del estadio 1 tienen un excelente pronóstico, sin embargo, el pronóstico en los casos con diseminación extraovárica es pobre. La tasa de supervivencia de las pacientes con carcinomas mucinosos estadio 1 es del 83%, del estadio 2 en 55%, del estadio 3 en 21% y el estadio 4 en 9% <sup>14</sup>.



**Imagen 4.-** Corte de un tumor mucinoso teñido con hematoxilina y eosina donde se observan células epiteliales con vacuolas llenas de mucina en la parte apical y núcleos basales.

### **Tumores de células claras**

#### *Características clínicas*

Los carcinomas de células claras tienen una edad promedio de presentación de 60 años y están asociados frecuentemente con endometriosis. En un 40% de los tumores es unilateral <sup>16</sup>.

#### *Características Macroscópicas*

Los tumores de células claras no tienen una apariencia macroscópica característica y poseen un diámetro promedio entre 10-12 cm, son predominantemente sólidos aunque a menudo son quísticos con morfología unilocular o multilocular que contiene una o varias masas polipoides blancas, amarillas o cafés que protruyen a la luz del quiste <sup>16</sup>.

#### *Características Microscópicas*

Los tumores de células claras están compuestos de los siguientes tipos epiteliales: células claras (ricas en glucógeno) similares a los del carcinoma renal, se observan también células en forma de clavo con núcleos largos que protruyen mediante sus límites citoplásmicos hacia el lumen de los quistes y cúmulos. Se observan de manera menos frecuentemente células aplanadas, cuboidales, oxifílicas (células acidófilas) y células en anillo que contienen mucina <sup>16</sup>.

### *Patología Molecular*

Se conoce poco de las alteraciones genéticas en este tipo de carcinoma. No poseen anormalidades en el gen de BRCA, inestabilidad cromosómica o los complejos cariotipos observados en otros tumores, como los serosos. Son positivos al factor nuclear de hepatocitos beta 1 o HNF1- $\beta$  y negativos para receptor a estrógenos alfa y WT1 en la mayoría de los casos <sup>15</sup>.

### *Pronóstico*

Se considera que este subtipo histológico posee el peor pronóstico en estadios avanzados comparado con otros tumores estromales-epiteliales, debido a que presenta una respuesta pobre a la quimioterapia. Generalmente el pronóstico de la paciente con carcinoma de células claras asemeja al del carcinoma indiferenciado. La tasa de supervivencia para los pacientes con un carcinoma estadio 1 es del 69%, estadio 2 un 55%, estadio 3 un 14% y estadio 4 un 4% <sup>15</sup>.

### **Tratamiento del cáncer epitelial de ovario.**

El tratamiento inicial para las pacientes incluye exploración abdominal, estadificación meticulosa y resección del tejido. Los carcinomas avanzados son tratados mediante salpingo-ooforectomía bilateral con histerectomía total. De manera alterna, una salpingo-ooforectomía unilateral puede ser realizada en pacientes jóvenes si el tumor es de bajo grado para preservar la capacidad reproductiva de la paciente. El tratamiento postoperatorio es general sin importar el subtipo histológico que presenten, las pacientes son sometidas a quimioterapia. Los agentes quimioterapéuticos usados comúnmente para los cánceres epiteliales de ovario son compuestos derivados de platino como cisplatino y carboplatino y de igual manera se pueden adicionar agentes alquilantes y taxol <sup>14</sup>.

## **Factores asociados con la etiología del cáncer epitelial del ovario.**

El estudio epidemiológico del CEO es en general complejo, debido a que es dependiente de la población, la zona geográfica y el tiempo del estudio. Como resultado, se observa una variabilidad en los datos recolectados de la incidencia de los subtipos histológicos. Sin embargo, se han descrito diversos factores de riesgo y de protección que son comunes en todas las poblaciones estudiadas y donde la mayoría de éstos, están asociados a eventos hormonales presentes en la vida de la mujer.

### **Factores Protectores**

Los factores protectores más consistentes entre las poblaciones estudiadas son la multiparidad y el uso de anticonceptivos orales; mientras que la ligación tubárica y el amamantar aparentemente también reducen el riesgo de CEO. Otros factores que parecen reducir el riesgo es la menarca tardía, la actividad física, el gemelismo, una dieta baja en grasas, el uso de agentes antiinflamatorios como aspirina y los nuevos fármacos antiinflamatorios no esteroideos <sup>9, 13, 17</sup>.

### **Factores de Riesgo**

La edad parece ser uno de los factores más importantes de padecer cáncer epitelial de ovario, la patología es poco común antes de los 35 años pero su incidencia aumenta continuamente hasta la edad de 80 años, donde la tasa de incidencia aparentemente se hace constante <sup>9</sup>.

El factor de riesgo más consistente para el cáncer de ovario es la historia familiar, en las que mujeres con un pariente de primer grado tienen un 5% de riesgo en toda la vida (1 en 20, en comparación al 1/70 de la población en general), mientras que aquellas que poseen dos parientes de primer grado su riesgo aumenta en un 7%. El cáncer de ovario hereditario es relativamente poco frecuente <sup>9</sup>.

Los síndromes hereditarios que han sido definidos como factores de riesgo están asociados a defectos en los genes de reparación del ADN; el Síndrome de Lynch tipo II, el cáncer colorrectal hereditario no polipósico. Además el cáncer de mama-ovario correlacionado con mutaciones en los genes BRCA 1 y 2 <sup>9, 13</sup>.

Otros factores de riesgo asociados involucran cambios hormonales en la mujer como la infertilidad, la menopausia tardía, la menarca temprana, el síndrome del ovario poliquístico, la nuliparidad y la terapia de reemplazo hormonal. La presencia de eventos inflamatorios como el uso de talco en la región genital en edades tempranas, patología inflamatoria pélvica, endometriosis, una dieta alta en grasas y obesidad central, han sido correlacionados como factores de riesgo para el CEO. Finalmente el tabaquismo ha sido descrito como un factor de riesgo para el subtipo mucinoso <sup>9, 13, 17</sup>.

## **Etiología del cáncer epitelial del ovario**

En la actualidad la etiología del CEO es ampliamente discutida; se han descrito dos vías de origen diferentes: la primera es de manera espontánea y más agresiva, sin una lesión previa aparente, y la segunda ocurriría más lentamente a partir de inclusiones epiteliales quísticas o lesiones malignas de bajo potencial que evolucionan a carcinomas <sup>18</sup>.

### **Teorías de origen del cáncer epitelial del ovario <sup>19</sup>**

No se conoce con claridad que induce la malignización del epitelio superficial del ovario. Sin embargo, factores descritos en la epidemiología se han relacionado con el origen del CEO y actualmente se han propuesto diversas teorías sobre este proceso:

#### **a) Teoría de la ovulación incesante.**

La teoría de la ovulación incesante propone que la ovulación juega un papel importante en la etiología del CEO. La ovulación provoca la pérdida de la integridad del ESO debido a la ruptura de las uniones intercelulares para liberar el ovocito. El epitelio superficial prolifera para recuperar la integridad del tejido y con el transcurso del tiempo, el proceso continuo de daño y reparación incrementa la probabilidad de que se generen errores y que se fijen en el genoma. Por lo tanto, un mayor número de ovulaciones se correlaciona con un mayor riesgo de inestabilidad cromosómica y con la probabilidad de padecer CEO. Eventos que disminuyen la ovulación, como la lactancia, el embarazo y el uso de anticoncepción oral, disminuyen el riesgo de sufrir esta patología.

#### **b) La teoría de las gonadotropinas.**

La teoría de las gonadotropinas propone que un exceso de estas hormonas incrementa la estimulación estrogénica del epitelio superficial del ovario o actúa de una manera alterna durante la menopausia llevando a la transformación maligna. Los niveles de gonadotropinas incrementan con la edad y son particularmente altos durante la menopausia de manera consistente con las tasas específicas para la edad del CEO, mientras que el embarazo y el uso de la píldora anticonceptiva disminuyen los niveles de gonadotropinas circulantes, han sido relacionados como factores protectores.

**c) La teoría de la inflamación.**

La teoría de la inflamación plantea que la ovulación, un proceso fisiológico normal es un evento que estimula una reacción inflamatoria con infiltración leucocitaria y producción de mediadores de la inflamación como citocinas y agentes oxidantes, como el óxido nítrico, que afectan al material genético. Apoyándose en la idea de que factores externos que estimulan reacciones inmunes a nivel de ovario como la presencia de talco o asbestos han sido correlacionados con un aumento de la tasa de incidencia de CEO.

**d) Teoría hormonal enfocada en los esteroides sexuales.**

La teoría hormonal intenta conciliar las diversas teorías y propone que la estimulación por andrógenos y estrógenos, de la pre y postmenopausia, inducen la proliferación del epitelio superficial e incrementan el riesgo de CEO. En la etapa reproductiva, los andrógenos son producidos en los ovarios por los folículos en crecimiento a tasas tan altas como los estrógenos. Estas hormonas son los principales esteroides sexuales en el licor folicular y entran en contacto directo con el ESO durante la ovulación. En la menopausia, etapa donde aumenta el riesgo CEO, la tasa entre estrógenos y andrógenos disminuye. Los efectos observados por la anticoncepción oral y el embarazo pueden ser debidos al aumento de los niveles de progestágenos en sangre que inhiben la proliferación del ESO y por tanto, actúan como factores protectores.

## Receptores a esteroides sexuales

Las hormonas esteroides actúan sobre sus células diana a través de dos mecanismos: uno que activa la vía clásica o nuclear y otro que estimula una vía alterna o membranal.

### Receptores Nucleares

Los receptores a esteroides sexuales pertenecen a la superfamilia de receptores nucleares que tienen una estructura modular con diferentes dominios funcionales.

#### Figura 3

##### *Dominio A/B*

El dominio A/B también conocido como función de activación 1 o AF1, es responsable de interacciones proteína-proteína y de la transactivación independiente de ligando, en contraste con el dominio C terminal AF2 que es dependiente de ligando <sup>20</sup>.

##### *Dominio C*

El dominio C, consiste en un dominio de unión al ADN (DBD) y posee dos motivos de dedos de zinc, responsables de la unión a los elementos de respuesta a hormonas, permiten la dimerización de los receptores en homo y heterodímeros de los receptores. Además, existen también dos motivos alfa hélice dentro del DBD, donde la primera hélice interactúa directamente con el surco mayor del ADN mientras que la segunda hélice estabiliza el complejo. Este dominio presenta una alta homología entre los receptores nucleares <sup>20</sup>.

##### *Dominio D*

El dominio D es reconocido como el dominio bisagra y en algunos casos posee aminoácidos capaces de ser fosforilados <sup>20</sup>.

##### *Dominios E y F*

El dominio carboxi terminal E o función de activación 2, AF2 representa el dominio de unión a ligando (LBD) y permite la interacción con co-activadores y co-

represores dependientes de ligando. El dominio F está representado por los últimos aminoácidos de la proteína que probablemente actúen como inhibidor de la dimerización en ciertos receptores, pero su función aún no está del todo clarificada <sup>20</sup>.

En la ausencia de hormonas esteroides, los receptores existen como monómeros unidos a complejos de chaperonas como la proteína de choque térmico 90 (Hsp90) y p23; así como a cochaperonas que contengan el motivo tetratricopéptido como la proteína fosfatasa 5 (PP5). Estos receptores son dinámicos y cambian su localización entre citoplasma y núcleo; la distribución subcelular en ausencia de ligando es específica de receptor, el receptor a andrógenos o AR se encuentra de manera constitutiva en el citoplasma mientras que los receptores a estrógenos alfa ER $\alpha$ , a estrógenos beta o ER $\beta$ , a progesterona A o PRA y progesterona B o PRB se encuentran predominantemente en el núcleo <sup>21</sup>.

En la vía clásica, tras la unión del ligando los receptores nucleares se fosforilan y forman homodímeros o heterodímeros entre ellos mismo o con otros miembros de la familia de receptores nucleares. De manera alterna, la fosforilación y la subsecuente activación pueden ocurrir en ausencia de ligando acopladas a otras vías de señalización. Estos dímeros se unen a elementos de respuesta en ADN y reclutan un complejo coactivadores, cuyo objetivo es modificar la cromatina y facilitar la transcripción de genes blanco. Los receptores pueden interactuar de manera indirecta con el ADN, actuando sobre otros factores de transcripción permitiendo estabilizar los complejos de transcripción e incrementar la expresión de genes blanco <sup>20, 21</sup>. Figura 3

### **Receptor a Progesterona.**

El receptor a progesterona (PR) se encuentra codificado en el cromosoma 11q22-q23 con tres sitios de inicio de traducción presenta tres isoformas funcionales: PRA PRB y PRC <sup>17</sup>. PRA y PRB son expresados en mama, cerebro y corazón, mientras que PRC es específico del útero. La isoforma con mayor tamaño es PRB y posee un peso molecular de 116kDa; PRA carece en el extremo N terminal de 164 aminoácidos y posee un peso de 94 kDa. A diferencia de PRA y PRC, la localización de PRB es

nuclear y citoplásmica, por lo cual, se encuentra disponible para activar cascadas de señalización acopladas a membrana <sup>20</sup>.

Los PR son modificados postraduccionalmente por fosforilación, sumoilación, ubiquitinación y acetilación. Estos cambios varían su sublocalización celular, actividad transcripcional, formación de complejos de proteínas y la especificidad de unión a genes blanco. En cultivo de células de mama, estos receptores interactúan con la vía de señalización de MAPK e inducen arresto celular mediante la disminución de ciclina D1, ciclina D3 y ciclina E <sup>22</sup>.

La isoforma PRA tiene la capacidad de actuar como un inhibidor dominante trans de PRB y puede inhibir a otros miembros de la familia de los receptores nucleares, incluyendo al receptor a estrógenos, a andrógenos, a mineralocorticoides y a glucocorticoides <sup>20</sup>.

### **Receptor a Estrógenos $\alpha$**

El gen que codifica para el receptor a estrógenos  $\alpha$  está localizado en el locus cromosomal 6q25.1, tiene una longitud y está organizado en 8 exones. En humano se han descrito más de cinco diferentes variantes a partir del uso alternativo de los 8 exones no transcritos, así como de duplicaciones exónicas, empalmamiento alternativo y exones intrónicos <sup>20</sup>.

La longitud de la forma completa de la proteína ER $\alpha$  es de 595 aminoácidos, mientras que en distintas líneas celulares humanas se han descrito además de ésta diversas variantes derivadas del empalmamiento alternativo conocidos como hER $\alpha$ -36kDa, hER $\alpha$ -46kDa y hER $\alpha$ -66kDa. La isoforma hER $\alpha$ -36 no posee ambos extremos de activación transcripcional y contiene un exón que codifica para sitios de miristoilación (adición de un ácido graso saturado de 14 carbonos) mientras que hER $\alpha$ -46kDa no posee el extremo AF1 y actúa como antagonista con hER $\alpha$ -66kDa <sup>20</sup>.

## **Receptor a Estrógenos $\beta$**

El gen del receptor a estrógenos beta está localizado en el cromosoma 14q 23.2 y tiene un tamaño aproximado de 61.2 kb. Es transcrito y traducido a partir de ocho exones, sin embargo, posee dos exones en la región 5', ON y OK, que no se traducen; así como en el extremo final 3' el empalmamiento alternativo del exon siete produce una isoforma alternativa del ER $\beta$ <sup>23</sup>.

El ER $\beta$  posee un tamaño de 530 aminoácidos y presenta una alta homología con ER $\alpha$ ; a pesar de esto, el dominio A/B es la región más variable entre ER $\alpha$  y ER $\beta$ , mientras que el dominio C tiene una homología del 95%. Múltiples isoformas de ER $\beta$  se forman a partir de empalmamiento alternativo de los últimos exones codificantes, la delección de uno o más exones codificantes o el uso de los exones no codificantes en el extremo 5', por lo cual se han descrito al menos cinco transcritos completos designados ER $\beta$ 1-5 en el humano<sup>23</sup>.

## **Receptor a Andrógenos.**

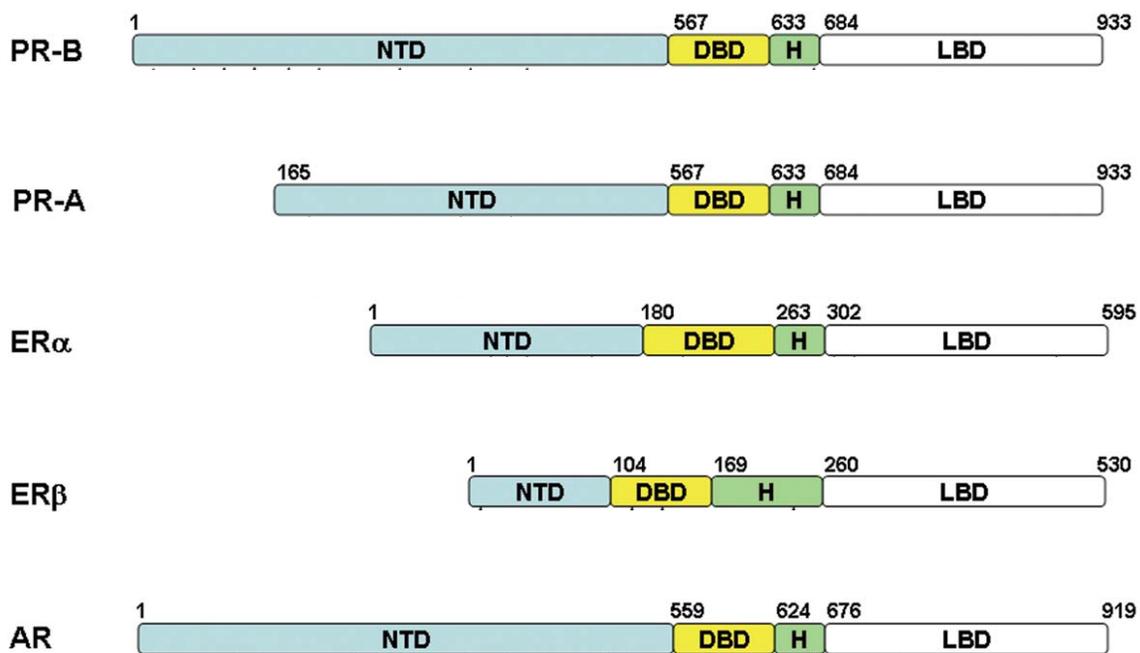
El receptor a andrógenos (AR) se encuentra codificado en el cromosoma Xq11.2-q12, posee un tamaño de 90kb y se encuentra organizado en 8 exones. El exón 1 contiene dos secuencias repetidas de trinucleótidos altamente polimórficos que son conocidas como CAG o poliglutamina y GGN o poliglicina y que son reguladores de la activación e inhibición del AR<sup>25</sup>.

En el humano se han identificado dos isoformas para el receptor: AR-A de 87 kDa y AR-B de 110 kDa. La isoforma A no posee los primeros 187 aminoácidos de la región N-terminal, en comparación con la isoforma B. Esta región es un dominio que permite diversos cambios conformacionales para permitir la unión de cofactores o del ADN, lo que sugiere que este dominio es una plataforma que permite el reclutamiento y el ensamblaje de co-reguladores y de la maquinaria transcripcional y podría servir como el mediador primario<sup>25</sup>.

En el AR la región entre el dominio DBD y LBD contiene una señal de localización nuclear e importantes sitios de fosforilación, acetilación y es sitio de

marcaje de degradación como ubiquitinación; mientras que la región AF-1 puede actuar de manera ligando independiente y cuando es separada de manera artificial del LBD actúa como un receptor activo <sup>26</sup>.

Además de la acción genómica se describen otros eventos celulares atribuidos al efecto de los andrógenos que consisten en aumento de calcio intracelular y la activación de cascadas intercelulares que incluyen a PKA, PKC y MAPK/ ERk. Sin embargo la presencia de un receptor membranal es aún discutido <sup>26</sup>.



**Figura 3.-** Se observan la estructura modular de los distintos receptores a hormonas esteroides así como la homología funcional entre ellos. NTD.- Dominio N terminal; DBD.- Dominio de unión al DNA; H.- Dominio Bisagra; LBD.- Dominio de unión a ligando. Modificada de Li et al 2009.

## Receptores Membranales

### Receptor acoplado a proteína G 30

El gen para el receptor acoplado a proteínas G 30 (GPR30/GPER1) se encuentra codificado en el cromosoma 7p22.3 y está codificado por 3 exones. Esta proteína pertenece a la familia de receptores de 7 dominios transmembranales acoplados a proteína G y posee un tamaño de 375 aminoácidos con una masa teórica de aproximadamente 41 KDa. Se propone que su dominio N-terminal se encuentra en la cara extracelular y que los aminoácidos de esta región pueden ser modificados por glicosilación. Se sugiere que es activado cuando los estrógenos tienen interacción con la región N-terminal, mientras que las proteínas G triméricas efectoras se unirían en la tercera asa, en la cara intracelular <sup>24</sup>.

La acción de GPR30 está descrita con base en estudios de células de cáncer de mama MCF-7, donde se describe que el estradiol se asocia con GPR30 membranaral llevando a la activación de las proteínas G triméricas. La subunidad  $\alpha$  de las proteínas G induce la activación de la adenilato ciclasa que produce de AMPc; por otro lado, las unidades  $\beta$  y  $\gamma$  activan a la tirosina cinasa Src que puede unir a la integrina  $\alpha 5\beta 1$  a través de una proteína adaptadora Shc. Esta interacción activa a metaloproteinasas de matriz, liberando a pro HB EGF hacia al espacio extracelular; esta proteína activa al receptor de EGF a través de un mecanismo autócrino/parácrino y por tanto, la activación de GPR30 puede activar las vías de PI3K y de ERK, así como la inducción de c-fos PS2 las ciclinas A, D1 y E y la proteína BCL-2 <sup>24</sup>.

## Esteroides sexuales, sus receptores y cáncer epitelial del ovario.

Dada la importancia de las hormonas esteroides en la fisiología normal del ovario se han correlacionado con el desarrollo del CEO. Se han realizado diversos estudios que analizan los niveles hormonales de las mujeres en riesgo, la presencia de los receptores a esteroides sexuales, las enzimas involucradas en su síntesis y su relación con el pronóstico de las pacientes.

Los estudios de los niveles hormonales en las mujeres con CEO son altamente controversiales, debido a que:

- 1) El metabolismo de los esteroides no puede ser evaluado eficientemente mediante una medición plasmática.
- 2) El método de medición y los diversos metabolitos que se generan.
- 3) Los niveles hormonales varían a lo largo del día.

Los principales problemas observados es que los niveles hormonales que se miden no necesariamente son los que tienen la función activa *in vivo*, debido a que precursores inactivos de esteroides son convertidos en andrógenos o estrógenos activos en tejidos periféricos, un proceso que depende de la expresión de enzimas esteroidogénicas en estos tejidos permitiendo que la acción sea regulada localmente <sup>27</sup>.

El tejido adiposo es un tejido que expresa enzimas esteroidogénicas, por lo que podría actuar como un órgano capaz de sintetizar esteroides sexuales. En el cual, se ha detectado la presencia de testosterona, dehidroepiandrostenediona, dehidroepiandroestenediona sulfatada, estrona, estradiol, progesterona y 17 hidroxiprogestero <sup>27</sup>.

De igual manera, los esteroides pueden actuar sin especificidad entre los distintos receptores, además pueden metabolizarse a elementos que no son detectados en el laboratorio. La dihidrotestosterona o DHT es el andrógeno más afín al AR; el cual es metabolizado enzimáticamente y reducido a 5 alfa androstendiol, 3 alfa diol y 3 beta diol, que son incapaces de unir al AR. Sin embargo 3 alfa diol es un reservorio de DHT

porque puede sufrir reversión, mientras que 3 beta diol actúa como un estrógeno débil debido a que es afín al ER $\beta$ , pero no a ER $\alpha$  <sup>28</sup>. Se ha realizado el estudio del CEO en diferentes poblaciones con el objetivo de detectar la presencia de los receptores a hormonas esteroides y se ha llegado a la conclusión que entre el 30 y el 70% de los tumores de CEO son ER $\alpha$  positivos, la presencia de AR se ha observado en un 70-95% de los tumores, mientras que PR, sin discriminar entre isoformas, se encuentra en más del 50% de estos carcinomas. Debido al difícil acceso a las muestras no se ha descrito una diferencia entre los subtipos histológico, sólo en el caso de los tumores mucinosos se ha reportado que son ER $\alpha$  y PR negativos <sup>29, 30</sup>.

La presencia del AR en los tumores epiteliales de ovario se ha correlacionado con un peor pronóstico para las pacientes <sup>31</sup>. Se han descrito dos isoformas para AR de acuerdo al número de secuencias repetidas CAG, las mayores y menores a 19 repeticiones. Las isoformas que poseen menos de 19 repeticiones están relacionadas con una mayor actividad transcripcional y se observan en pacientes que son diagnosticadas de manera más temprana, mientras que más de 27 repeticiones están relacionadas con una protección para el CEO <sup>29</sup>.

Al igual que los andrógenos, la acción de los estrógenos podría estar relacionada con la etiología del CEO. En un estudio realizado en una línea celular derivada de cáncer epitelial de ovario se observó que una pérdida de expresión de ER $\beta$  o un cambio en la razón de la expresión ER $\beta$ /ER $\alpha$  está correlacionada con un aumento de la agresividad de los tumores. Por lo cual, se ha asociado que la sobre-expresión de ER $\alpha$  se correlaciona con un peor pronóstico en las pacientes, mientras que la sobre-expresión de ER $\beta$  podría ejercer un efecto antitumoral <sup>23</sup>.

El metabolismo de los estrógenos en productos secundarios no funcionales parece jugar un papel importante en la etiología del CEO. En un estudio se describe que pacientes con polimorfismos en el gen que codifican para la enzima CYP1B1, proteína clave en la transformación de los estrógenos a catecol estrógenos, tienen un mayor riesgo de padecer CEO, relacionándolos de esta manera como elementos oxidantes y por tanto como sustancias carcinógenas <sup>32</sup>.

Sin embargo el efecto de los estrógenos en el CEO se encuentra aún en discusión. Un análisis sobre el tamoxifen, un antagonista de la señalización del ER $\alpha$  y que es usado en la quimioterapia preventiva del cáncer de mama, ha demostrado promover una función anormal ovárica e inducir la formación de quistes foliculares <sup>33</sup>; sin embargo éste antagonista de los receptores nucleares a estrógenos se ha correlacionado con la activación del receptor a estrógenos GPR30.

En el caso de los factores protectores, la presencia del receptor a progesterona en tumores ha sido correlacionada con un mejor pronóstico y sobrevida de las mujeres con CEO <sup>31</sup>. Se ha descrito que las pacientes con polimorfismos en los PR conocidos como Proginas; a diferencia de lo que ocurre con el AR, no presentan asociación con el estadio, el subtipo histológico, el comportamiento o la edad de aparición del CEO. Sin embargo se ha observado que las mujeres que poseen al menos un alelo con este tipo de polimorfismos y que no reciben contracepción oral presentan una elevación del riesgo de cáncer de ovario, aunque esto aún se encuentra a discusión <sup>17</sup>.

Un estudio se analiza la presencia de las isoformas de PR en el epitelio normal de ovario, así como en tumores benignos, limítrofes y malignos de ovario, en estos se observa una positividad para PRA de 100, 100, 50 y 25% respectivamente; mientras que para PRB se observa 100, 100, 100 y 95.8%. Este estudio sugiere que la isoforma B del receptor a progesterona puede ser un marcador de mal pronóstico en las muestras de tumor, mientras que la isoforma PRA parece ser un marcador de buen pronóstico <sup>34</sup>.

Sólo un estudio ha correlacionado la presencia de GPR30 con el CEO, incluyéndola como valor predictivo en el diagnóstico. En esa evaluación se observó que la presencia de este receptor en muestras de tumores epiteliales de ovario se ha correlacionado con un peor pronóstico sin discriminar por subtipo histológico <sup>35</sup>. En relación a la coexpresión de los receptores canónicos y el CEO, un análisis que correlaciona la positividad entre los distintos receptores sugiere que la expresión de AR y ER $\alpha$  es interdependiente, mientras que la expresión de AR y PR es independiente en

los tumores. Sin embargo, en muchos de los casos los valores pronósticos de ER $\alpha$  y AR aún son controversiales <sup>31</sup>.

La presencia de grasa abdominal, un factor de riesgo para el CEO, se relaciona con niveles altos de andrógenos en plasma, totales o libres. La presencia de estas hormonas esta asociada con una elevación de la expresión de P450 aromatasa y 11 $\beta$  hidroxisteroide deshidrogenasa 1, que podrían correlacionar los niveles de andrógenos y estrógenos con la etiología del CEO <sup>36</sup>.

Finalmente, se ha demostrado en muestras de CEO la presencia de 17 $\beta$  HSD, sulfatasa de estrona, 3 $\alpha$  hidroxisteroide deshidrogenasa y 3 $\beta$  hidroxisteroide deshidrogenasa, enzimas necesarias para la síntesis de andrógenos y estrógenos, a través de la vía de CYP17 y de la sulfatasa de esteroides, a partir de precursores inactivos como DHEA, androstenediona y sulfato de estrona presentes en la circulación sanguínea <sup>37</sup>.

De igual manera se han correlacionado los valores de los diversos receptores a esteroides en tumores epiteliales de ovario, con el fin de encontrar valores pronósticos para las pacientes. En un estudio longitudinal a 5 años que asocia la positividad a los receptores nucleares y su relación con la sobrevida de las pacientes con CEO se observó que fue de 83% para ER-/PR+, 79% para ER+/PR-, 61% para ER+/PR+, 48% para ER-/PR- <sup>38</sup>.

Se ha descrito que la pérdida de la heterocigocidad en una región del cromosoma 11q23.3-24.3, donde se encuentra PR, está relacionada con una elevación del riesgo de CEO y un peor pronóstico. El 91% de los tumores mucinosos de bajo potencial es ER-/PR- mientras que el 65% de los tumores endometrioides y serosos de bajo grado son ER+/PR+. Finalmente se sugiere que la muestra de CEO que presente ER-/PR+ esta correlacionada con un mejor pronóstico <sup>38</sup>.

Se ha analizado la presencia de ER y PR en tumores epiteliales de ovario con el objetivo de una correlación entre su aparición y la edad de las pacientes. Aunque los

resultados aún no son concluyentes, dependiendo de la edad de las pacientes, los tumores presentan una positividad distinta entre los dos receptores, por lo cual se propone que la biología de los receptores es variable dependiendo de la edad de la paciente <sup>39</sup>.

## PROBLEMA DE ESTUDIO

Con base en los antecedentes epidemiológicos sobre la importancia de los esteroides sexuales en la posible etiología del cáncer epitelial de ovario, así como la variabilidad que se observa en las poblaciones, se necesitan estudios que relacionen los receptores a estas hormonas con los subtipos histológicos del CEO que se presentan en la población mexicana, con el fin de realizar una descripción de sus perfiles a receptores de hormonas esteroides sexuales como propuesta de apoyo para el diagnóstico y seguimiento clínico, así como su posible utilidad en el diseño de terapias hormonales adyuvantes y que podría también servir como un reporte de salud pública de la población mexicana.

## OBJETIVOS

Determinar los patrones de expresión de los receptores a hormonas esteroides en tumores epiteliales de ovario, por subtipo histológico y correlacionando los resultados con las historias clínicas de la paciente para realizar una aproximación epidemiológica.

### **Objetivos Particulares**

- Obtener muestras de pacientes mexicanas con diagnóstico de cáncer epitelial de ovario del Instituto Nacional de Cancerología.
- Determinar los patrones de expresión del receptor a andrógenos, receptor a estrógenos  $\alpha$  y a estrógenos  $\beta$ , a progesterona y GPR30 en las muestras de tumores epiteliales de ovario discernidas por subtipo histológico.
- Obtener información de las historias clínicas de las pacientes sobre datos generales, antecedentes familiares, antecedentes personales no patológicos, antecedentes gineco-obstétricos, antecedentes personales patológicos, datos clínicos al ingreso al Instituto Nacional de Cancerología.

## **MATERIAL Y MÉTODO**

---

Se plantea un proyecto prospectivo, descriptivo y longitudinal sobre los esteroides sexuales y el CEO en las pacientes del Instituto Nacional de Cancerología. Este proyecto fue aprobado por la Comisión de Ética de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) y las Comisiones de Investigación y Ética del Instituto Nacional de Cancerología (INCan).

### **Criterios de inclusión**

Para poder participar en el estudio, las pacientes debían cumplir los siguientes criterios de inclusión:

- 1.- Firmar un consentimiento informado antes de obtener una muestra. (Apéndice 2)
- 2.-. Primera cirugía citorreductiva.
- 3.-. Sin quimioterapia previa a la toma de la muestra.
- 4.-. Diagnóstico confirmado de CEO por un patólogo del INCan.

### **Inmunodetección de receptores a esteroides sexuales.**

Los detalles sobre el material y métodos se describen en el apéndice 1.

### **Procesamiento de la muestra.**

La muestra fue obtenida durante el diagnóstico transoperatorio de la cirugía citorreductiva de pacientes con sospecha de cáncer de ovario en el INCan; la muestra fue transportada al Departamento de Embriología de la Facultad de Medicina en solución salina en un lapso menor a 30 min. de que fue obtenida.

Se tomó un fragmento del tumor y se procesó para histología. Se fijó en paraformaldehído 4% en PBS toda la noche a 4°C, se realizaron lavados en amortiguador salino de fosfatos (PBS) y se deshidrató en series graduales ascendentes de etanol. La muestra se aclaró en xilol y se procedió a realizar la inclusión de las muestras en parafina. Se realizaron cortes de 5µm de grosor en micrótopo y se sometieron a inmunodetección.

## **Inmunodetección**

Los cortes de tejidos fueron desparafinados toda la noche a 57°C, y se eliminó el exceso de parafina con xilol, se procedió a la rehidratación de las muestras en series graduales descendientes de etanol. Se realizaron lavados de PBS y se prosiguió con el desenmascaramiento de antígeno en buffer de citratos mediante una olla de presión, después del cual se lavó con PBS.

### *Inmunohistoquímica*

Se incubaron las laminillas en solución de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> durante 15 minutos a temperatura ambiente, se realizaron lavados de PBS y seguido se incubaron en suero de caballo al 5% diluido en PBS durante 15 minutos a temperatura ambiente. Se realizó un lavado con PBS y se procedió a incubar con los anticuerpos primarios diluidos en PBS contra las proteínas ER $\alpha$  (dilución 1:100), ER $\beta$  (dilución 1:100), AR (dilución 1:100) y PR (dilución 1:100) durante toda la noche a 4°C. Se realizaron lavados con PBS y se procedió a incubar con el anticuerpo secundario específico en contra del anticuerpo primario, durante 2 horas a temperatura ambiente. Se realizaron lavados con PBS y se procedió a revelar con DAB. Se realizó un lavado con PBS y se contratiñó con hematoxilina y eosina. Fueron observadas en un microscopio óptico de luz.

### *Inmunofluorescencia.*

Se incubó con suero de caballo al 5% diluido en PBS durante 15 min. a temperatura ambiente, se realizó un lavado con PBS y se procedió a incubar con el anticuerpos primario contra GPR30 (dilución en PBS 1:50) toda la noche a 4°C. Al día siguiente se lavaron en PBS y se incubaron con los anticuerpos secundarios acoplados a fluorocromos durante 2 horas a temperatura ambiente. Se realizaron lavados con PBS y se incubó un minuto con DAPI, se realizó un lavado con PBS y se montó usando medio de montaje Vecta-Shield. Se observó mediante microscopía confocal en un microscopio Leica TCS-SP5.

## **Análisis de las historias clínicas**

En la base de datos del Instituto Nacional de Cancerología se buscaron las historias clínicas de las pacientes para obtener los siguientes datos:

**Datos Generales:** Edad, lugar de nacimiento y lugar de residencia

**Antecedentes heredofamiliares:** Antecedentes familiares de cáncer en general y parentesco; antecedentes de cáncer ginecológico y su parentesco.

**Antecedentes gineco obstétricos:** La edad de menarca y ritmo, número de gestas, de partos, de abortos, número de hijos que amamantó, número de cesáreas, métodos de planificación familiar, fecha de última menstruación y otros tratamientos hormonales.

**Antecedentes Personales Patológicos:** Presencia de hábitos de tabaquismo, alcoholismo, padecimientos alternos como hipertensión arterial sistólica, diabetes mellitus, síndrome metabólico, niveles sanguíneos de glucosa y colesterol así como la presencia de neoplasias anteriores.

**Antecedentes Personales No patológicos:** Peso, talla y el índice de masa corporal.

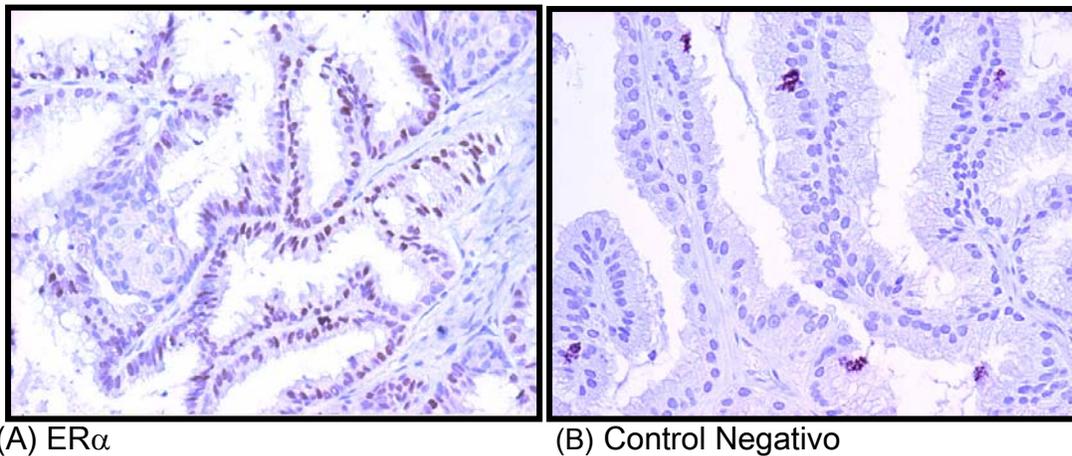
**Datos Clínicos:** Diagnóstico clínico, fecha de diagnóstico, diagnóstico histopatológico, nivel de CA125 en sangre, tipo de citorreducción, recurrencia y fecha de recurrencia.

# RESULTADOS

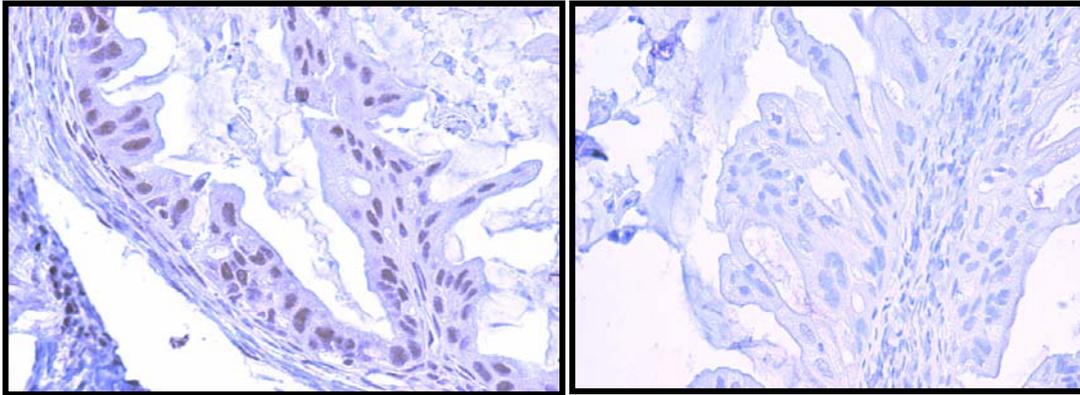
## 1.- Inmunodetecciones para los Receptores a Hormonas Esteroides

Se realizaron inmunohistoquímicas para los receptores a estrógenos alfa y beta, receptor a andrógenos y a progesterona e Inmunofluorescencia para el GPR30. A continuación se muestran imágenes representativas de las distintas inmunodetecciones observadas a 20X.

Figura 4



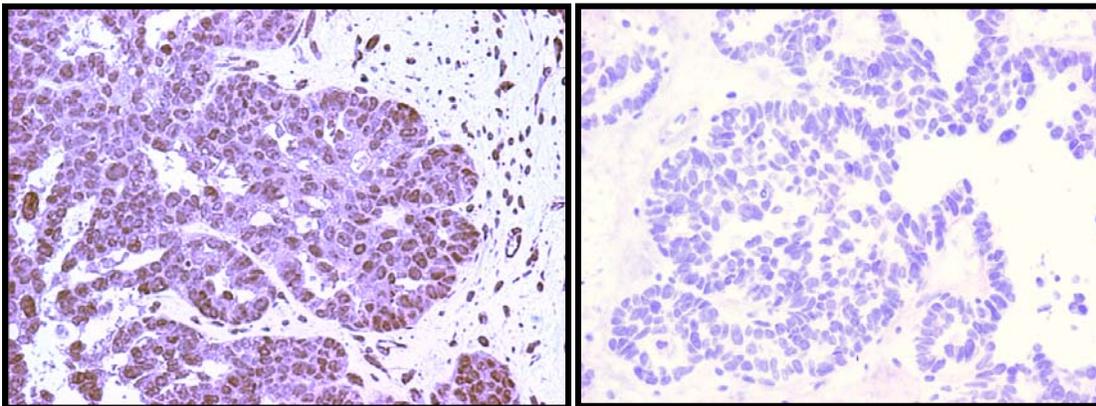
**Figura 4.-** En la figura se observa la inmunodetección para el receptor a estrógenos alfa en un tumor endometriode, en éste se observan células epiteliales rodeando una estructura con células estromales y presenta una apariencia fenestrada. En la imagen A se observa la marca positiva para el receptor a estrógenos en los núcleos de las células de tipo epitelial de este tumor, mientras que no se observa marca en las células del estroma. En B no se le adicionó el anticuerpo primario, no se observa marca y nos sirve como control de la reacción.



(A) ER $\beta$

(B) Control Negativo

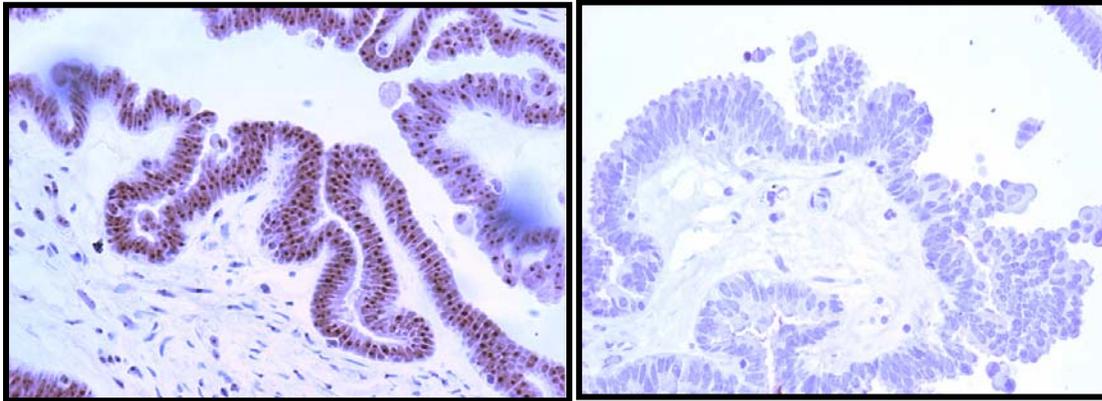
**Figura 5.-** Se observa la inmunodetección para el receptor a estrógenos beta en un tumor mucinoso de tipo endocervical; en este tejido se observan células epiteliales en una estructura papilar con células estromales en el interior; se aprecia de igual manera una cavidad con secreción mucinosa. En la imagen A un corte histológico se observa la marca positiva para receptor a estrógenos beta en los núcleos de las células de tipo epitelial de este tumor, no hay marca en las células del estroma. En B observamos el control negativo de la reacción.



(A) PR

(B) Control Negativo

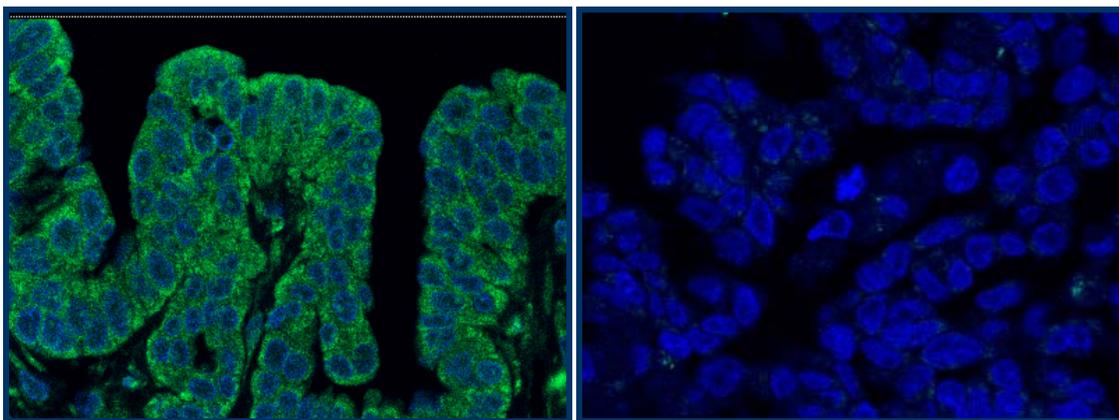
**Figura 6.-** En la figura se observa la inmunodetección para el receptor a progesterona en un tumor endometriode; en este tejido se aprecia un grupo de células agrupadas dentro del estroma en una estructura glandular con apariencia fenestrada. En la imagen A se observa la marca positiva para el receptor a progesterona en los núcleos de las células epiteliales del tumor subtipo endometriode. El estroma también hay marca nuclear para este receptor. En B se observa el control negativo de la reacción para ER $\beta$ .



(A) AR

(B) Control negativo

**Figura 7.-** En las figura se observa la inmunodetección para el receptor a andrógenos en un tumor seroso tipo papilar; presenta invaginaciones de las células de tipo epitelial dentro del estroma, en algunas regiones se distingue un epitelio estratificado con células altas y núcleos mediales. En la imagen A se observa la marca nuclear positiva para receptor a andrógenos en los núcleos de las células de tipo epitelial de un corte histológico de este tumor tipo seroso, no se observa marca en las células estromales. En la imagen B en la que no se le adicionó el anticuerpo primario no hay inmunomarcaje.



(A) GPR30

(B) Control negativo

**Figura 8.-** En la figura se observa la inmunodetección para el receptor GPR30 en un tumor tipo seroso; en este tejido se observan invaginaciones de un epitelio pseudoestratificado dentro del estroma del ovario. En la imagen A se observa la marca positiva para GPR30 en el citoplasma y la membrana celular del tipo epitelial de este tumor seroso, al igual que en las células del estroma. En la imagen B se encuentra el control negativo.

En las tablas I-V se hace una descripción de los resultados obtenidos de las inmunodetecciones en las muestras de CEO para los receptores a esteroides sexuales, entre los distintos subtipos celulares: estroma, endotelio vascular y epitelio.

(+).- Positivo (-).- Negativo ND- No disponible

**Tabla I.- Receptor a Estrógenos alfa.**

Muestra	Tipo Celular		
	Epitelio	Estroma	Endotelio
	Localización Nuclear		
1-3	-	-	ND
2-17	-	+	-
3-14	+	-	ND
4-18	-	-	-
5-20	-	-	ND
6-25	+	-	-
7-10	+	-	+
8-19	+	+	ND
9-21	+	-	-
10-23	+	-	-
11-26	+	-	-

**Tabla II.- Receptor a Estrógenos beta.**

Muestra	Tipo Celular		
	Epitelio	Estroma	Endotelio
	Localización Nuclear		
1-3	+	+	-
2-17	+	+	-
3-14	+	-	ND
4-18	+	-	-
5-20	+	+	-
6-25	+	-	+
7-10	+	-	-
8-19	+	-	-
9-21	-	+	-
10-23	+	+	ND
11-26	+	+	-

**Tabla III.- Receptor a Progesterona.**

Muestra	Tipo Celular		
	Epitelio	Estroma	Endotelio
	Localización Nuclear		
1-3	+	-	-
2-17	+	+	-
3-10	+	-	-
5-18	+	+	-
7-20	+	+	-
10-25	+	+	ND
3-14	+	-	-
6-19	-	-	+
8-21	+	+	+
9-23	+	+	+
11-26	+	+	+

**Tabla IV.- Receptor a Andrógenos.**

Muestra	Tipo Celular		
	Epitelio	Estroma	Endotelio
	Localización Nuclear		
1-3	+	+	+
2-17	-	-	-
3-10	+	+	+
5-18	+	+	+
7-20	-	-	-
10-25	+	+	ND
3-14	+	+	ND
6-19	+	+	+
8-21	+	-	+
9-23	+	+	ND
11-26	+	+	+

Tabla V.- GPR30

	Tipo Celular		
	Epitelio	Estroma	Endotelio
No de muestra	Localización Citoplasmática/Membranal		
1-3	+	+	ND
2-17	+	+	ND
3-14	-	-	ND
4-18	-	+	ND
5-20	-	-	ND
6-25	-	+	ND
7-10	-	-	ND
8-19	+	+	ND
9-21	+	+	ND
10-23	-	-	ND
11-26	+	ND	ND

En la tabla VI se muestra un resumen de los resultados de las inmunodetecciones para los cinco receptores estudiados en donde se observa positividad nuclear en las células epiteliales de CEO discriminadas por subtipo histológico. (+).- Positivo (-).- Negativo

Tabla VI.- Resumen de resultados observados en las inmunodetecciones.

Subtipo	No de Muestra	Tipo de Receptor				
		AR	ER $\alpha$	ER $\beta$	PR	GPR30
Mucinoso	1	+	-	+	+	+
	2	-	-	+	+	+
Endometrioides	3	+	+	+	+	-
	4	+	-	+	+	-
	5	-	-	+	+	-
	6	+	+	+	+	-
Papilar	7	+	+	+	+	-
	8	+	+	+	-	+
	9	+	+	-	+	+
	10	+	+	+	+	+
	11	+	+	+	+	+

## 2.-Análisis de Historias Clínicas

Ficha de Identificación				Antecedentes Heredofamiliares	
Muestra	Edad	L de R	L de N	Tipo de Cáncer	Parentesco
1	77	DF	ND	0	0
2	68	Guerrero	Guerrero	0	0
3	53	Hgo	Hgo	0	0
4	26	DF	DF	Próstata; gástrico; colon	Abuelo paterno; tío paterno
5	58	Guerrero	Guerrero	Próstata	Padre
6	43	Hgo	Hgo	Tumor maligno de riñón	Padre
7	42	DF	EdoMex	NE	NE
8	48	EdoMex	EdoMex	0	0
9	63	Morelos	Morelos	0	0
10	37	DF	EdoMex	0	0
11	61	Puebla	Puebla	0	0

**L de R.-** Lugar de Residencia **L de N.-** Lugar de Nacimiento **EdoMex.-**Estado de México. **Hgo.-** Hidalgo. **NE.-** No especificado

APNP			Antecedentes Personales Patológicos			
Muestra	Peso en kg	Talla en m	IMC	Tabaquismo	Alcoholismo	HAS
1	55	1.5	24.4	0	0	1
2	60	1.5	26.6	0	0	0
3	76	1.59	30	0	0	0
4	51	1.55	21.2	0	0	0
5	50	1.5	22.2	ND	ND	1
6	64	1.57	25.9	0	0	1
7	59	1.47	27.3	0	0	1
8	45	1.3	26.6	0	0	0
9	57	1.63	21.4	ND	ND	1
10	58	1.49	26.1	0	0	0
11	62	1.5	27.5	ND	ND	1

**APNP.-** Antecedentes Personales No Patológicos **IMC.-** Índice de Masa Corporal **HAS.-** Hipertensión arterial sistémica **ND.-** No disponible

Antecedentes Gineco-Obstétricos				
Muestra	Edad de Menarca y Ritmo	Gestas y Partos	Met. PF	Edad del Climaterio
1	15 I	2	0	ND
2	15 R	0	0	Fértil
3	13 R	3	0	Fértil
4	14 R	0	0	Pre
5	14 I	0	ND	Pre
6	15 R	0	ND	Pos
7	12 I	3	OTB	Climaterio
8	13 R	4	0	Fert
9	12 R	0	ND	Pos
10	12 R	0	Hormonales	Pos
11	14 I	2	Hormonales	Pos

**Met.PF.-** Método de planificación familiar **FUM.-** Fecha de la última menstruación **Tx. Hormonal.-** Tratamiento Hormonal **Pre.-** Mujer Premenopáusica **Pos.-** Mujer posmenopáusica **OBT.-** Oclusión Tubárica Bilateral **ND.-** No disponible **I.-** Irregular **R.-** Regular

Muestra	Dx. Clínico.	Fecha de Dx.	Dx. Histopatológico**
1	Probable Tumor de ovario.	01/09/2008	Tumor seromucinoso limítrofe
2	Cistadenoma de ovario.	23/01/2009	Cáncer de ovario mucinoso limítrofe asociado a tumor de Brenner benigno.
3	Triple primario: ovario, endometrio y endocervical.	21/09/2008	Ovario: adenocarcinoma endometriode bien diferenciado.
4	Adenocarcinoma de ovario.	26/12/2008	Adenocarcinoma endometriode bien diferenciado bilateral.
5	Masa abdominopélvica probable de ovario.	30/01/2009	Carcinoma combinado mucinoso y endometriode moderadamente diferenciado.
6	Adenocarcinoma de ovario.	06/05/2009	Adenocarcinoma endometriode bien diferenciado. Sincrónico con endometrio.
7	Adenocarcinoma de ovario.	25/09/2008	Papilar seroso de bajo grado.
8	Adenocarcinoma de ovario.	05/01/2009	Seroso papilar de alto grado.
9	Tumor pélvico en estudio.	17/02/2009	Adenocarcinoma de tipo combinado seroso papilar de alto grado y de células claras
10	Adenocarcinoma de ovario.	02/03/2009	Seroso papilar limítrofe de ovario.
11	Tumor anexial.	06/05/2009	Cistoadenocarcinoma papilar seroso de bajo grado bilateral asociado a limítrofe.

Dx.- Diagnóstico    \*\*Diagnóstico realizado por un histopatólogo del INCan.

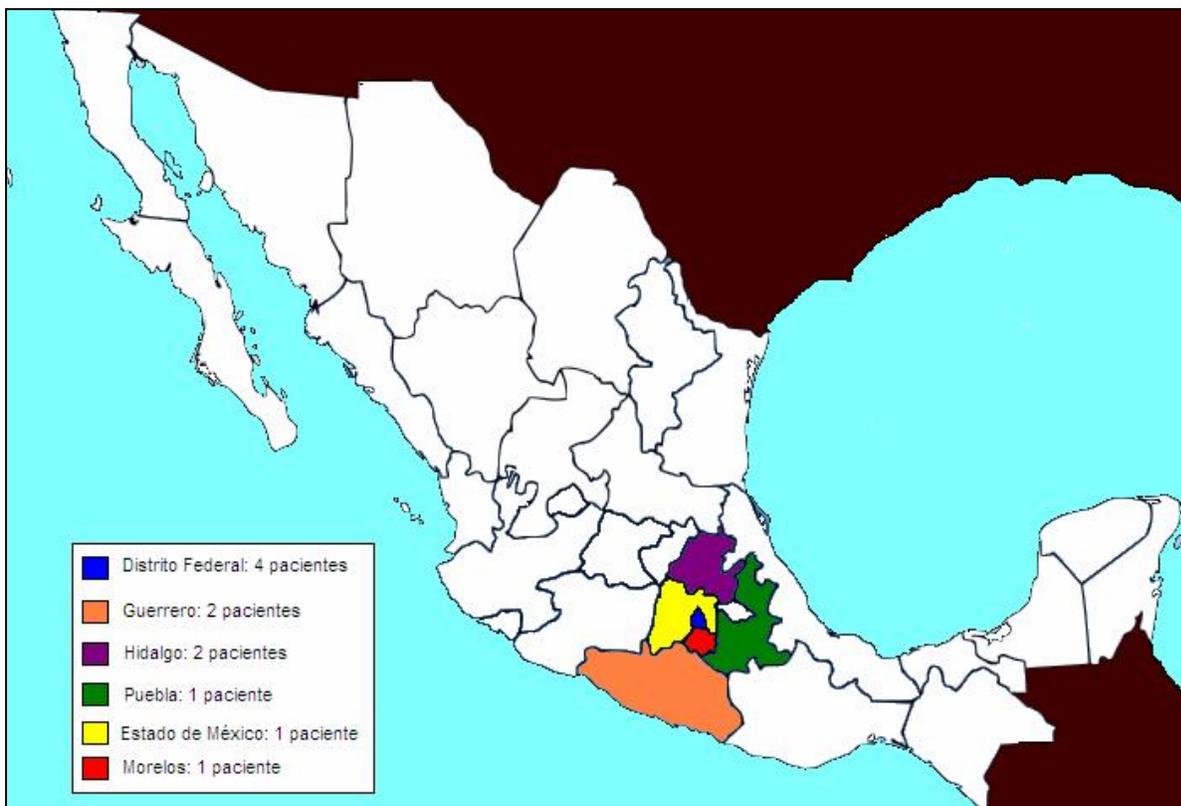
Otros Datos Clínicos			
Muestra	CA125 en INCan (U/ml)	Citorreducción	Otros
1	2.23	1	0
2	1194	1	Histerectomía.
3	95.1	ND	0
4	2739	1	Embarazo Molar e Histerectomía
5	8.1	1	0
6	4.45	1	Tratamiento hormonal para embarazo
7	141	1	0
8	99.3	1	0
9	54.9	ND	Histerectomía sin salpingooferectomía
10	3.69	1	0
11	4.26	2	0

**ND.-** No disponible

**Citorreducción1.-** Cirugía Subóptima **2.-** Cirugía Óptima.

### Análisis de las historias clínicas

El análisis de los datos contenidos en las historias clínicas de nuestras 11 pacientes del Instituto Nacional de Cancerología es el siguiente. El promedio de la edad de nuestro grupo de estudio es de 53 años, con un rango entre 26 y 77 años. En 7 de las pacientes, el lugar de origen y residencia no es el Distrito Federal, mientras que de las 4 que habitan en el DF solo una es originaria del mismo. En 10 de los casos las pacientes son amas de casa y la única que manifestó trabajar fuera de su casa lo hace también en labores del hogar.



**Figura1.-** Distribución del lugar de residencia de las pacientes con cáncer epitelial del ovario, incorporadas en este estudio.

En relación a sus antecedentes familiares relevantes se observa el padecimiento de cáncer en la familia de 3 pacientes, todos por línea paterna. En relación a sus antecedentes ginecobstétricos de relevancia se observa una edad promedio de menarca de 13 años mientras que el uso de anticoncepción hormonal se observa en 3

de las pacientes. Finalmente en 10 de los 11 casos aún en las más jóvenes, ya no se observa menstruación hasta la última fecha de la recolección de los datos (diciembre del 2009).

De acuerdo a los antecedentes patológicos personales, en ninguna de las pacientes se reportan antecedentes de cáncer. Sin embargo, en el estado general de salud se observa sobrepeso en 10 casos y una presenta obesidad (paciente 7) con un promedio de peso de 57.9kg y un rango de 50 a 76 kg, se observa una talla promedio de 1.50 m con un rango de 1.30 a 1.66 m y un promedio de índice de masa corporal de 25.4 y un rango de 21.4 a 30, sólo una de las pacientes padece Diabetes mellitus sin especificar el tipo (paciente 5).

No se observan antecedentes de alcoholismo o tabaquismo en ninguno de los casos, pero 5 de las pacientes padecen hipertensión arterial sistémica. Finalmente en otros antecedentes, se observa que una de las pacientes tuvo un embarazo molar, mientras que tres pacientes fueron sometidas a histerectomía sin salpingo-ouferectomía previas a la detección de cáncer epitelial de ovario. Hasta la última ocasión donde se recogieron los datos de la base de datos (enero 2010) no se ha reportado recurrencia en ninguna de éstas pacientes.

## DISCUSIÓN

---

---

El cáncer de ovario ocupa el tercer sitio en mortalidad por cáncer ginecológico en México y en el mundo; el 90% de éste es de tipo epitelial. GLOBOCAN reporta una incidencia anual de 6.3 por cada 100, 000 habitantes a nivel mundial mientras que para México reporta una incidencia de 5.6 por cada 100, 000 habitantes <sup>6</sup>. Sin embargo las estadísticas para nuestro país deben tomarse con reserva debido a que son estimaciones en relación a estadísticas regionales. A pesar de la alta tasa de letalidad; en México a diferencia de otros países, el cáncer epitelial de ovario no se ha abordado como un problema creciente de salud. Consideramos que no se ha atendido de manera adecuada dentro de las políticas públicas, hecho que bien podría deberse a la falta de información estadística, de información clínica a nivel asistencial y escasa o nula difusión en la población en general.

Este estudio realiza una descripción del CEO que conjunta un enfoque biomédico y médico, y hasta donde hemos revisado es el primer trabajo que describe la presencia de un perfil completo de receptores a esteroides sexuales AR, ER $\alpha$ , ER $\beta$ , PR y del receptor membranal a estrógenos GPR30 en muestras de tumores epiteliales de ovario de pacientes mexicanas del Instituto Nacional de Cancerología. Además intenta realizar una descripción epidemiológica a través de las historias clínicas de las pacientes, en busca de factores de riesgo o de protección propios de nuestra población.

El inicio, progresión y metástasis del cáncer epitelial del ovario es desconocido, pero es claro que está relacionado con la edad de la mujer, con factores de riesgo como el sobrepeso y el tabaquismo, pero sobre todo, se encuentra asociado a eventos hormonales. La fisiopatología podría relacionarse con la expresión de receptores esteroides sexuales, de acuerdo a esto consideramos realizar un estudio de la distribución conjunta de AR, PR, ER $\alpha$ , ER $\beta$  y GPR30 discriminando por subtipo

histológico de esta neoplasia. De igual manera creemos que es importante incluir la descripción de los factores epidemiológicos de las pacientes como un punto clave en el estudio del CEO en nuestro país.

Este trabajo fue planteado de manera prospectiva, descriptiva y longitudinal y por lo tanto requiere la recolección de muestras de tumor epitelial de ovario recién obtenidas para que sean procesadas ex profeso para inmunodetección y nos asegure que la calidad del tejido sea idónea para la investigación. Este tipo de estudio es también una limitante debido a que el número de muestras con las que se trabajó es dependiente de las pacientes que se sometieron a cirugía en el INCan y que aceptaron formar parte de nuestro estudio durante el periodo del 2009-2010.

Para las inmunodetecciones trabajamos con cortes de 5  $\mu\text{m}$  de grosor y un área de al menos 1 $\text{cm}^2$  que nos permite apreciar la histología del tumor, debido a que en algunos casos puede ser poco homogéneo en las características celulares o puede ser mixto, es decir en algunos casos contiene más de un tipo histológico dentro del mismo tumor. Para estandarizar la técnica se usaron como controles positivos de la reacción cortes de testículo de ratón para AR, de cáncer de mama dependiente de estrógenos para ER $\alpha$ , de mama normal para ER $\beta$  y de útero humano para PR, a la par se realizó un control negativo para asegurar la especificidad de la reacción.

Una muestra fue clasificada como positiva cuando dos observadores de manera independientes coincidieron en que al menos un 30% de las células con morfología epiteliales presentaban marca nuclear. No se detalla la presencia de los receptores en otros subtipos celulares dentro del tumor, como el estroma y los vasos sanguíneos, debido a la falta de homogeneidad de la positividad dentro de los mismos y solo nos enfocamos en las células epiteliales.

Nuestros resultados muestran que 10 de 11 de los tumores fueron positivos a PR y ER $\beta$ . Ambos se han reportado en la literatura como marcadores de tumores con un mejor pronóstico, sin embargo en el caso del receptor a progesterona el anticuerpo con

el que trabajamos no discrimina entre las las dos isoformas de éste receptor: PRA y PRB los cuales presentan acciones de activación e inhibición de la transcripción respectivamente <sup>20</sup>, por lo cual sería interesante realizar de nuevo el análisis con anticuerpos específicos para cada una de las isoformas del receptor a progesterona para confirmar si hay diferencia entre estas isoformas. Sin embargo es probable que los tumores estudiados sean poco agresivos debido a que en la última fecha de análisis de las historias clínicas ninguna de las pacientes había presentado recidiva.

En los resultados describimos que en los tumores se presentan una expresión consistente entre los diferentes receptores y no se observa una distribución específica dependiente del tipo de tumor, exceptuando para GPR30. En el caso de AR se observa que 9/11 tumores son positivos, sin discriminar entre el subtipo histológico, lo que sugiere el posible papel de los andrógenos en la fisiopatología del CEO <sup>28</sup>.

En los tumores endometrioides se describe que 4/4 son negativos para GPR30, 2/4 son positivos para ER $\alpha$  y 4/4 son positivos para ER $\beta$  lo que refuerza que pueden ser estrógeno-dependientes. Este dato es interesante debido a que este subtipo podría ser considerado con un menor grado de malignidad en comparación al mucinoso y al seroso.

De acuerdo a lo revisado a la literatura los tumores mucinosos son descritos como negativos a ER $\alpha$  y PR, sin embargos los dos tumores mucinosos estudiados son negativos a ER $\alpha$  y positivos a PR, sin embargo este resultado debe ser corroborado aumentando el número de muestras.

Un punto importante a discusión es la medida se pueden realizar comparaciones con otros estudios sobre CEO y hormonas esteroides. El principal problema en el estudio del CEO mediante inmunodetección es la falta de un estándar de oro para determinar positividad; este conlleva a una diferencia de análisis de la positividad de los tumores entre grupos de investigación debido a que cada uno posee un criterio propio de determinación de la positividad, por lo cual se impide de la posibilidad de hacer un

análisis comparativo de manera correcta entre los tumores de diferentes poblaciones así dificulta realizar meta-análisis de la investigación sobre el CEO en relación a las hormonas esteroides.

El análisis de las historias clínicas, no es concluyente por el número de muestras, podría nos abre el panorama para investigar las tendencias y características propias de nuestra población. Observamos que todas nuestras pacientes padecen sobrepeso u obesidad, lo que nos indica que tienen antecedentes patológicos previos lo que confirma que el CEO esta relacionado con malos hábitos de salud <sup>13</sup> o que puede ser un evento sesgado e independiente de la aparición del cáncer epitelial del ovario debido a que México ocupa el primer lugar en sobrepeso y el 2do lugar en obesidad a nivel mundial. De igual manera, aunque esta reportado en la literatura, el tabaquismo no se observa en ninguna de nuestras pacientes.

Las pacientes se dedican sólo a labores del hogar, lo que podría correlacionarse como un factor de riesgo ocupacional, que sin embargo, puede deberse a un sesgo de muestreo, debido a que para ser atendidas en Instituto Nacional de Cancerología no deben contar con servicios de IMSS, ISSSTE o servicios estatales de salud.

Algunas de las pacientes son de talla menor a la media nacional con una mediana de 1.50 m. evento que también puede ser sesgado debido a que la mayoría de las pacientes son del centro del país donde la talla tiende a ser pequeña. Aunque la edad promedio de presentación 56 años, es parecida a lo que se reporta en la literatura para los tumores epiteliales de ovario en la población mundial <sup>14,16</sup>.

En relación a los eventos hormonales, observamos que 6/11 de las pacientes son nulíparas, un factor de riesgo relacionado con el cáncer epitelial de ovario <sup>13</sup>. Sin embargo no tenemos una estadística del número de mujeres nulíparas en edad reproductiva y postreproductiva en nuestro país para realizar la comparación necesaria. De igual manera se describe que 10/11 de nuestras pacientes presentan amenorrea, aún en las más jóvenes, evento también correlacionado con la incidencia de CEO.

Finalmente un dato que no esperábamos es que en 3/11 se presenta la incidencia de cáncer en línea paterna sería conveniente realizar la búsqueda intencional de éste dato en una población mayor.

En la actualidad existe una nueva teoría sobre el origen del cáncer epitelial del ovario. Se plantea que el origen de los tumores de ovario que clasificamos como de origen epitelial no provienen *per se* del epitelio superficial del ovario y que las células que los conforman podría venir de otros tipos celulares, el seroso podría tener origen en las células de la tuba uterina, el endometriode podría derivar de un grupo de células que se implantó en el ovario por endometriosis y que el mucinoso podría derivar del epitelio del colon <sup>40</sup>. Esta nueva hipótesis de origen plantea una serie de retos en el estudio del cáncer epitelial de ovario y que son derivadas del poco conocimiento que poseemos sobre éste, sin embargo, podría esclarecer las discrepancias en el comportamiento y positividad a los diferentes receptores a esteroides sexuales.

Aún con los elementos metodológicos en contra y a la luz de las nuevas evidencias sobre el origen del cáncer epitelial del ovario consideramos que nuestro trabajo es relevante porque:

-La presencia de receptores a esteroides solo se ha reportado de manera parcial en diferentes estudios, por lo cual, este estudio es pionero al describir la presencia del perfil de receptores a esteroides sexuales AR, ER $\alpha$ , ER $\beta$ , GPR30 y PR en una misma muestra de tumor epitelial de ovario.

-Este es el primer estudio que está orientado a describir los tumores epiteliales de ovario de pacientes mexicanas y la detección de marcadores moleculares pronósticos, por tanto, este estudio repercute directamente en la salud de la población de nuestro país, a pesar de las limitaciones técnicas y para la obtención de la muestra.

-Las historias clínicas de las pacientes nos permiten hacer un estudio epidemiológico de las variables que observamos en población mexicana de manera directa y no a través

de aproximaciones realizadas en poblaciones vecinas como hasta ahora se reporta en el GLOBOCAN.

-Resaltamos de manera crucial la necesidad de un banco de tumores en México, no solo para el cáncer epitelial de ovario que se realice bajo los estándares internacionales para realizar investigación que permita continuar con los estudios que repercutan en la salud de las pacientes mexicanas.

-La práctica de la nueva medicina traslacional en problemas de salud nacional es un punto relevante de nuestro trabajo por la correlación entre la historia clínica y la detección de marcadores moleculares en las muestras de tumores permiten el apoyo y mejoramiento de los tratamientos para CEO. En este caso en especial y sólo dependiendo del perfil de receptores a hormonas esteroides de cada paciente, la terapia hormonal podría participar como un tratamiento coadyuvante a la quimioterapia que podría permitir un tratamiento personalizado para cada mujer de acuerdo al perfil hormonal de cada tumor observado por inmunodetección y que podría repercutir finalmente, en la sobrevivencia de las pacientes.

## CONCLUSIONES

-Las muestras de cáncer epitelial de ovario estudiadas expresan los receptores a andrógenos, receptor a estrógenos  $\alpha$  y estrógenos  $\beta$ , receptor a progesterona y GPR30.

-Los tumores de ovario epiteliales subtipo mucinoso y seroso expresan todos los receptores a esteroides sexuales estudiados.

-Los tumores de ovario epiteliales subtipo endometrioides presentan los receptores a andrógenos, a estrógenos  $\alpha$ , a estrógeno  $\beta$  y a progesterona, sin embargo las muestras estudiadas no expresan el receptor GPR30

-Las pacientes estudiadas que presentan cáncer epitelial de ovario presentan sobrepeso u obesidad, amenorrea y nuliparidad, factores de riesgo que concuerdan con lo reportado en la literatura, aunque no con el hábito de tabaquismo.

## PERSPECTIVAS

-Se necesita aumentar el número de muestras para poder hacer las comparaciones estadísticas pertinentes entre las tendencias observadas en la expresión de los receptores a esteroides sexuales. Es necesario constatar el análisis de los datos clínicos con la población en general.

-En las muestras de cáncer epitelial de ovario es posible de las pacientes realizar de manera rutinaria el perfil de los receptores a esteroides sexuales a través de inmunolocalización y asociarlas con el subtipo histológico para determinar si se asocia con el pronóstico de la paciente y su sobrevida.

-El análisis del perfil hormonal para los receptores a esteroides en las muestras de cáncer epitelial de ovario podría generar una terapia que coadyuve a la quimioterapia, de la misma manera que ocurre en el cáncer de mama.

-Es necesario ahondar en los antecedentes familiares de la paciente, donde la presencia de cáncer en línea paterna y su relación con el CEO, hecho que no está descrito en la literatura y que resalta en los datos de estudio.

-Para continuar con el estudio sobre la biología de los tumores epiteliales de ovario y su asociación con marcadores moleculares pronósticos es deseable contar con un banco de tumores.

-Es necesaria correlacionar los estudios clínicos con la investigación básica, para el estudio de patología que pueda incidir directamente en la sobrevida de las pacientes.

## BIBLIOGRAFÍA

---

- 1.- *Chapter 1 Getting Ready for the Pregnancy* 3-25. In Human Embriology and Developmental Biology 4<sup>th</sup> Edition. Editor B. Carlson. Editorial Mosby Elsevier 2009.
- 2.- M. Gopalan, D. Vijayasree, K. Chitrathara. *Chapter 7. Surgical Anatomy of Ovary* 47-51. In Ovarian Cancer: Comprehensive and Contemporary Management. Editores K Chitrathara, S Rajaram, A Maheshwari. Editorial MacGraw Hill 2010.
- 3.- *Capítulo 14. Aparato Reproductor..* 1847-1880. In Anatomía de Gray 38<sup>va</sup> . Editorial Bannister LH y Dyson M. Editorial Churchill Livingstone. 1998.
- 4.- Jamnongjit M, Hammes SR. *Ovarian steroids: the good, the bad, and the signals that raise them.* Cell Cycle. 2006; 5: 1178-83.
- 5.- *Climaterio y Menopausia.* Cuadernos de Medicina Reproductiva. Editores Pellicer A. y Simón C. Editorial Médica Panamericana. S. A. 2000
- 6.-Obtenido de la base de datos de la Agencia Internacional para Investigación en Cáncer, de la Organización Mundial de Salud: proyecto GLOBOCAN 2008 <http://globocan.iarc.fr/>. Abril 2010.
- 7.- Sankaranarayanan R, Ferlay. J. *Worldwide burden of gynaecological cancer: the size of the problem.* Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol. 2006; 20: 207-225.
- 8.- Berry NB, Bapat SA. *Ovarian cancer plasticity and epigenomics in the acquisition of a stem-like phenotype.* J Ovarian Res. 2008; 1: 8.
- 9.- Roett MA, Evans P. *Ovarian cancer: an overview.* Am Fam Physician. 2009; 80: 609-16.
- 10.-Nossov V, Amneus M, Su F, Lang J, Janco JM, Reddy ST, Farias-Eisner R. *The early detection of ovarian cancer: from traditional methods to proteomics. Can we really do better than serum CA-125?* Am J Obstet Gynecol. 2008; 199: 215-23.
- 11.- JL Benedet NF Hacker HYS Ngan. *Staging classifications and clinical practice guidelines of gynaecologic cancers.* Editado por la Federación Internacional de Ginecología y Obstetricia. Elsevier 2000.
- 12.- Auersperg N, Wong AS, Choi KC, Kang SK, Leung PC. *Ovarian surface epithelium: biology, endocrinology, and pathology.* Endocr Rev. 2001; 22: 255-88.

13.- James V. Lacey Jr and Mark E. Sherman. *Chapter 13: Ovarian Neoplasia: Epidemiology and etiology* pp 601-610. In Robboys Pathology of the Femmale Reproductive Tract. Robboy SJ, Mutter GL, Pratt J, Bentley RC, Russel P and Anderson MC. Churchill Livingstone. Elsevier 2009. Second edition.

14.- Jaime Pratt. *Chapter 14: Ovarian Serous and Mucinous epithelial-stromal tumors* pp 611-649. in Robboys Pathology of the Femmale Reproductive Tract. Robboy SJ, Mutter GL, Pratt J, Bentley RC, Russel P and Anderson MC. Churchill Livingstone. Elsevier 2009. Second edition

15.-Gilks CB, Prat J. *Ovarian carcinoma pathology and genetics: recent advances*. Hum Pathol. 2009; 40: 1213-23.

16.- *Chapter 25: Endometrioid, Clear Cell, Brenner and rare epithelial-stroma tumors*. Jaime Pratt. 655-692. In Robboys Pathology of the Femmale Reproductive Tract. Robboy SJ, Mutter GL, Pratt J, Bentley RC, Russel P and Anderson MC. Churchill Livingstone. Elsevier 2009. Second edition.

17.- Modugno F. *Ovarian cancer and polymorphisms in the androgen and progesterone receptor genes: a HuGE review*. Am J Epidemiol. 2004; 159: 319-35.

18.- Kurman RJ, Shih leM. *Pathogenesis of ovarian cancer: lessons from morphology and molecular biology and their clinical implications*. Int J Gynecol Pathol. 2008; 27:151-60.

19.- Fleming JS, Beaugié CR, Haviv I, Chenevix-Trench G, Tan OL. *Incessant ovulation, inflammation and epithelial ovarian carcinogenesis: revisiting old hypotheses*. Mol Cell Endocrinol. 2006; 247: 4-21.

20.- Ellmann S, Sticht H, Thiel F, Beckmann MW, Strick R, Strissel PL. *Estrogen and progesterone receptors: from molecular structures to clinical targets*. Cell Mol Life Sci. 2009; 66: 2405-26.

21.- Ward RD, Weigel NL. *Steroid receptor phosphorylation: Assigning function to site-specific phosphorylation*. Biofactors. 2009; 35: 528-36

22.- Dressing GE, Hagan CR, Knutson TP, Daniel AR, Lange CA. *Progesterone receptors act as sensors for mitogenic protein kinases in breast cancer models*. Endocr Relat Cancer. 2009; 16: 351-61.

23.- Zhao C, Dahlman-Wright K, Gustafsson JA. *Estrogen receptor beta: an overview and update*. Nucl Recept Signal. 2008.

24.- Mizukami Y. *In vivo functions of GPR30/GPER-1, a membrane receptor for estrogen: from discovery to functions in vivo*. Endocr J. 2010; 57:101-7.

25.- Nicolás Díaz-Chico B, Germán Rodríguez F, González A, Ramírez R, Bilbao C, Cabrera de León A, Aguirre Jaime A, Chirino R, Navarro D, Díaz-Chico JC. *Androgens and androgen receptors in breast cancer*. J Steroid Biochem Mol Biol. 2007; 105: 1-15

26.- Li J, Al-Azzawi F. *Mechanism of androgen receptor action*. Maturitas. 2009; 63: 142-8.

27.- Bélanger C, Luu-The V, Dupont P, Tchernof A. *Adipose tissue intracrinology: potential importance of local androgen/estrogen metabolism in the regulation of adiposity*. Horm Metab Res. 2002; 34: 737-45.

28.- Walters KA, Allan CM, Handelsman DJ. *Androgen actions and the ovary*. Biol Reprod. 2008; 78: 380-9.

29.- van Doorn HC, Burger CW, van der Valk P, Bonfrère HM. *Oestrogen, progesterone, and androgen receptors in ovarian neoplasia: correlation between immunohistochemical and biochemical receptor analyses*. J Clin Pathol. 2000; 53: 201-5.

30.- Lindgren PR, Cajander S, Bäckström T, Gustafsson JA, Mäkelä S, Olofsson JI. *Estrogen and progesterone receptors in ovarian epithelial tumors*. Mol Cell Endocrinol. 2004; 221: 97-104.

31.- Cardillo MR, Petrangeli E, Aliotta N, Salvatori L, Ravenna L, Chang C, Castagna G. *Androgen receptors in ovarian tumors: correlation with oestrogen and progesterone receptors in an immunohistochemical and semiquantitative image analysis study*. J Exp Clin Cancer Res. 1998; 17: 231-7.

32.- Holt SK, Rossing MA, Malone KE, Schwartz SM, Weiss NS, Chen C. *Ovarian cancer risk and polymorphisms involved in estrogen catabolism*. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2007; 16: 481-9.

33.- Metindir J, Aslan S, Bilir G. *Ovarian cyst formation in patients using tamoxifen for breast cancer*. Jpn J Clin Oncol. 2005; 35: 607-11.

- 34.- Akahira J, Suzuki T, Ito K, Kaneko C, Darnel AD, Moriya T, Okamura K, Yaegashi N, Sasano H. *Differential expression of progesterone receptor isoforms A and B in the normal ovary, and in benign, borderline, and malignant ovarian tumors.* Jpn J Cancer Res. 2002; 93: 807-15.
- 35.- Smith HO, Arias-Pulido H, Kuo DY, Howard T, Qualls CR, Lee SJ, Verschraegen CF, Hathaway HJ, Joste NE, Prossnitz ER. *GPR30 predicts poor survival for ovarian cancer.* Gynecol Oncol. 2009; 114: 465-71
- 36.- Blouin K, Boivin A, Tchernof A. *Androgens and body fat distribution.* J Steroid Biochem Mol Biol. 2008; 108: 272-80.
- 37.- Chura JC, Ryu HS, Simard M, Poirier D, Tremblay Y, Brooker DC, Blomquist CH, Argenta PA. *Steroid-converting enzymes in human ovarian carcinomas.* Mol Cell Endocrinol. 2009; 301: 51-8.
- 38.- Arias-Pulido H, Smith HO, Joste NE, Bocklage T, Qualls CR, Chavez A, Prossnitz ER, Verschraegen CF. *Estrogen and progesterone receptor status and outcome in epithelial ovarian cancers and low malignant potential tumors.* Gynecol Oncol. 2009; 114: 480-5.
- 39.- Liu JF, Hirsch MS, Lee H, Matulonis UA. *Prognosis and hormone receptor status in older and younger patients with advanced-stage papillary serous ovarian carcinoma.* Gynecol Oncol. 2009; 115: 401-6.
- 40.- Jarboe EA, Folkins AK, Drapkin R, Ince TA, Agoston ES, Crum CP. *Tubal and ovarian pathways to pelvic epithelial cancer: a pathological perspective.* Histopathology. 2008; 53: 127-38.
- 41.- Payne AH, Hales DB. *“Overview of steroidogenic enzymes in the pathway from cholesterol to active steroid hormones”* Endocr Rev. 2004; 25::947-70.

# APÉNDICES

---

---

## Apéndice 1.

### Reactivos

#### PBS

-NaCl	137mM	Merck	-KCl	2.7 mM	Merck
		Cat: K34684504			Cat: A159436 911.
		520. 500g			1Kg.
-Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	10mM	Merck	-KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	2mM	Merck.
		Cat:F1327886			Cat: A476973 328.
		434. 500g			1Kg.

### Procesamiento histológico

- Alcohol etílico del 96. Porron. 19 L.
- Alcohol etílico absoluto. JT Baker. Cat: 9000-03. 4L.
- Xilenos JT Baker. Cat: 9490-03. 4l-
- Paraplast embedding media Paraplast Extra. Sigma-Aldrich. P3808. 1Kg.

### Suero de Bloqueo

- Suero de caballo. Gibco. Cat: 16050. 100mL.

### Solución de peróxido

- Peroxidazed 1. Biocare Medical. X968MM 010407 1L.

### Buffer de Citratos

- Diva Decloaker 10x. Biocare Medical. DV2004MX 111308 500ml.

### Olla de desenmascaramiento de antígenos

- Microwave Tender Cooker. NordicWare. Cat: #62104

-Shandon Coverplates. Thermo Scientific REF: 72110017

-Shandon Squenza Slide Rack. Thermo Scientific

### **Anticuerpos primarios**

-AR N-20 sc-816 Rabbit polyclonal Santa Cruz Biotechnology. Lot #E2508. Dilución empleado 1:100.

-ER $\alpha$  (HC-20) sc-543 Rabbit polyclonal antibody. Santa Cruz Biotechnology. Lot: #H2108. Dilución empleada 1:100.

-ER $\beta$  (1531) sc-53494 Mouse monoclonal IgG. Lot: #J1507. Santa Cruz Biotechnology. Dilución empleada 1:100.

-PR MAB462 Mouse anti human monoclonal antibody. Chemicon. LV1440298. Dilución empleada 1:100.

-GPR30 Rb pAb to GPR30 ab 12563. 50 $\mu$ g. Abcam. lot: 892323. Dilución empleada 1:50.

### **Anticuerpos secundarios**

-Antibody Antirabbit. MACH2 Rabbit HRP-Polymer Reference RHRP520L Lot: 12098. 100ml.

-Antibody Antimouse. MACH Mouse HRP-Polymer Reference MHRP520L Lot: 013009C. 100ml.

-Fluorescein (FITC) AffinPure F(ab')<sub>2</sub> Frag Dk Anti-Rb IgG (H+L). Jackson Immunoresearch Antimouse. Cat: 711-095-152. 0.30mg

### **Material necesario para inmunofluorescencia**

-Vectashield Mounting Medium for fluorescence H-1000. Vector Laboratories Inc. Burlingame, CA 94010

-DAPI. 4',6-Diamidino-2-phenylindole dihydrochloride powder. Sigma-Aldrich. Número de producto D9542-5MG

### **Kit de revelado de diaminobencidina**

-Peroxidase substrate kit DAB SK4100. Vector Laboratories Inc. Burlingame, CA 94010.

## Apéndice 2.

### CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Determinación de receptores hormonales y GPR 30 en pacientes con sospecha de cáncer de Ovario en el Instituto Nacional de Cancerología.

#### JUSTIFICACION

A través de este conducto la invitamos a participar en un estudio de investigación. Los médicos del Instituto Nacional de Cancerología estamos interesados en conocer la expresión de los receptores hormonales en tejido tumoral de cáncer epitelial de ovario y la relación de dicho estado con el tratamiento recibido y la evolución de la enfermedad.

#### PROPOSITO

El cáncer de ovario es un tumor maligno que está asociada con una importante resistencia a los tratamientos sistémicos por lo que es necesario investigar y conocer mejor el comportamiento de las células de este tipo de tumor.

Nuestro propósito es identificar la expresión de receptores hormonales en estas células tumorales y la relación que pueda tener la expresión de estos marcadores moleculares con la respuesta a los diferentes tratamientos que usted pueda recibir, a fin de conocer mejor el comportamiento de su tumor.

Para ello será necesario tomar una pequeña muestra en fresco y al menos un bloque de tumor conservado en parafina, del tumor que le sea quitado al momento de la cirugía laparotomía exploradora y citorreductora con que los médicos cirujanos iniciarán el tratamiento de su enfermedad.

#### RIESGOS

Usted no tendrá ningún riesgo al participar con nosotros ya que únicamente se tomarán las muestras y el procedimiento no tiene riesgo ni implica ninguna manipulación adicional al tratamiento que de por sí debería recibir.

Asimismo, al inicio del estudio, se le realizará una entrevista para llenar un cuestionario con datos sociodemográfico, antecedentes ginecológicos y obstétricos, uso de anticonceptivos hormonales, hábitos y costumbres.

Finalmente, también se revisará su expediente de manera rutinaria a fin de llevar el control de sus tratamientos y conocer su evolución.

#### BENEFICIOS

Los tratamientos que se utilicen serán asignados o establecidos por los médicos del servicio de Gineco-Oncología y Oncología Médica, de acuerdo con la evolución de su padecimiento.

El costo de las tomas adicionales de tumor o sangre corre a cargo de los médicos investigadores.

#### TX ALTERNATIVOS

En caso de que no aceptar participar en el estudio usted tendrá los mismos derechos que los pacientes que acuden al Instituto, es decir recibirá la atención y los tratamientos correspondientes de acuerdo a las características de su enfermedad, sin que su negativa signifique o represente alguna represalia en contra de usted. Además como en todo paciente del Instituto gestionaremos todos los apoyos posibles para evitar que abandone su tratamiento.

#### PARTICIPACION VOLUNTARIA

Tomar parte en este estudio de investigación es su decisión. Usted no tiene que participar en el estudio si no lo desea. En caso de que usted decida participar, también le hacemos saber que está en libertad de abandonarlo en momento que usted lo decida sin tener que dar explicaciones. Su cuidado médico no se verá afectado en ningún momento si decide no participar en el estudio o abandonarlo en algún momento. Al aceptar participar en este estudio usted se compromete a asistir a sus consultas en las fechas señaladas, si usted se cambia de lugar dónde vive o no regresa a la clínica, se le llamará para averiguar donde se encuentra y poder seguir teniendo contacto con usted.

#### INDEMNIZACION

No recibirá remuneración alguna por su participación, tampoco habrá indemnización de ningún tipo ya que **el proyecto no implica algún tipo de riesgo para usted**, los gastos derivados del tratamiento deberán ser cubiertos por usted.

## CONFIDENCIALIDAD

Los resultados que se obtengan del estudio realizado y de la información que usted nos proporcione solo será manejada por el grupo de investigadores, usted será identificada por un código y número de paciente en el estudio. Usted no será identificada en ningún reporte o publicación resultante de este estudio.

## EN CASO DE DUDA

Usted podrá hablar con la Dra. Flavia Morales-Vásquez 56 28 04 00 ext 429.

Dra. Carmen Méndez Herrera 5623 2265

El Dr. Juan Zinser Sierra. Presidente del Comité de Ética 56 28 04 00 ext 125

Con base en la información presentada **ACEPTO VOLUNTARIAMENTE** participar en el estudio "Determinación de los Receptores de estrógeno, progesterona y GPR-30 en cáncer epitelial del ovario y su asociación con la respuesta al tratamiento"

Nombre, apellidos de la participante:

\_\_\_\_\_

Dirección

\_\_\_\_\_

Teléfono

\_\_\_\_\_ Fecha \_\_\_\_\_ Firma \_\_\_\_\_

Nombre, apellidos del investigador

Flavia Morales-Vásquez

Carmen Méndez-Herrera

Dirección San Fernando No 22 col Toriello Guerra, Del. Tlalpan

56.28.04.00 ext 429. Y 5623 2265

Fecha \_\_\_\_\_ Firma \_\_\_\_\_

Nombre, apellidos testigo 1

\_\_\_\_\_

Dirección

Teléfono

\_\_\_\_\_

Fecha \_\_\_\_\_ Firma \_\_\_\_\_

Nombre, apellidos testigo 2

\_\_\_\_\_

Dirección

Teléfono

\_\_\_\_\_

Fecha \_\_\_\_\_ Firma \_\_\_\_\_