



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA

**DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E
INVESTIGACIÓN**

INSTITUTO DE SEGURIDAD Y SERVICIOS SOCIALES

DE LOS TRABAJADORES DEL ESTADO

HOSPITAL REGIONAL

“LIC. ADOLFO LOPEZ MATEOS”

ASOCIACIÓN DE CARCINOMAS DE MAMA

**Y EXPRESIÓN DE INMUNOMARCADORES E-CADHERINA
(ECAD), CITOQUERATINA 8 (CKH) Y GROMOGRANINA (CGR)**

TRABAJO DE INVESTIGACIÓN QUE PRESENTA:

DRA. DENESE ABIGAIL GONZÁLEZ MIRANDA

PARA OBTENER EL DIPLOMA DE LA ESPECIALIDAD:

ANATOMÍA PATOLÓGICA

ASESOR DE TESIS:

DR. FERNANDO DE LA TORRE RENDÓN

NO. DE REGISTRO

171.2008



MÉXICO, D.F.

2011



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Dr. Félix Octavio Martínez Alcalá
Coordinador de Capacitación, Desarrollo e
Investigación

Dra. Martha Eunice Rodríguez Arellano
Jefe de Investigación

Dr. Guilebaldo Patiño Carranza
Jefe de Enseñanza

Dr. Luis Cisneros Sotelo
Jefe de Servicio de Anatomía Patológica

Dr. Fernando E. de la Torre Rendón
Jefe de Patología Quirúrgica
Asesor de tesis

Dr. Fernando E. de la Torre Rendón
Jefe de Patología Quirúrgica
Vocal Titular del Comité de Investigación

Resumen

El carcinoma mamario representa una neoplasia maligna de alta incidencia y prevalencia, generalmente se clasifica por su patrón histológico en los dos tipos clásicos: ductal y lobulillar; sin embargo existe una baja proporción de casos que no tienen un patrón histológico usual que se presenta como grupos celulares en mantos, el carcinoma sólido. Debido a la falta de diferenciación usual requerimos el empleo de tinciones especiales y de inmunotinciones para la clasificación del carcinoma. El propósito de este estudio fue resaltar el papel de la inmunohistoquímica para distinguir entre las lesiones de tipo ductal, lobulillar y neuroendocrinas en los carcinomas con patrón histológico sólido. Para tal propósito empleamos inmunomarcadores que en estudios previos han mostrado ser útiles, tales como la E-cadherina que se muestra ausente en la diferenciación lobulillar; cromogranina y sinaptofisina en el caso de la diferenciación neuroendocrina y la citoqueratina 8 que diferencia mejor el tipo ductal del lobulillar por su patrón de tinción en las células tumorales. Se estudiaron 19 casos de los cuales la mitad tenían un patrón histológico distinguible de diferenciación ductal o lobulillar y en el resto de los casos se trataba de carcinomas sólidos. Encontramos que hubo un grado nuclear mayor para los carcinomas sólidos que para los clásicos. El 100% de los carcinomas sólidos se clasificó como ductal valorando de manera conjunta las características histológicas e inmunohistoquímicas con los marcadores de E-cadherina, CKH y CK8. Sólo el 20% de los carcinomas sólidos mostraban una diferenciación mixta y su componente lobulillar sólo en la mitad de los casos mostró las características inmunohistoquímicas esperadas. La inmunotinción para cromogranina fue positiva en el 20% de los casos del carcinoma sólido.

Abstract

Breast carcinoma is a malignancy with high incidence and prevalence, is generally classified by its histological pattern in the two classical types: ductal and lobular, but there is a low proportion of cases that do not have a usual histologic pattern that occurs as groups cellular mantles, solid carcinoma. Due to the lack of differentiation usually require the use of special stains and immunostains for its classification of carcinoma. The purpose of this study was to highlight the role of immunohistochemistry in distinguishing between lesions of ductal, lobular and neuroendocrine carcinoma with solid histological pattern. For this purpose we use immunomarkers that previous studies have proved useful, such as E-cadherin that is absent in lobular differentiation, chromogranin and synaptophysin in the case of neuroendocrine differentiation and cytokeratin 8 better differentiates ductal type lobular pattern by staining in tumor cells. We studied 19 cases of which half had a distinct histologic pattern of ductal or lobular differentiation and in other cases it was solid carcinomas. We found that there was a nuclear grade greater for solids carcinomas than for classical carcinomas. 100% solid carcinomas were classified as ductal jointly assessing the histological features and immunohistochemical markers E-cadherin, CKH and CK8. Only 20% of solid carcinomas showed a mixed differentiation and its lobulillar component in only half of the cases showed immunohistochemical characteristics expected. Immunostaining for chromogranin was positive in 20% of cases of solid carcinoma.

Dedicatoria

A todos los astros maravillosos, altos, brillantes e infinitos, que no están más lejos que los hombres que trato.

Y trato padres (Emma y Raúl), hermanos y hermanas (Mavie y Mildred), maestros y maestras (Fernando de la Torre, Sergio González y Esperanza Tamariz), amigos y amigas (Marce y Ana); siempre resplandecientes.

Agradecimientos

A Jehová Dios por ser mi Refugio y mi Plaza Fuerte

A Emma Miranda García y Raúl González Castillo, mis amados padres, por su apoyo constante y comprensión amorosa

A Marce y Ana, mis entrañables amigos incondicionales, por su veracidad y ternura

A mis maestros (mexicanos y chilenos) de los que tuve el gran privilegio de ser discípula, por entregarme la perla del conocimiento

Pensamiento

“...El cuerpo se purifica por el saber, se eleva en el esfuerzo inteligente. Para el que busca el conocimiento todos los instintos se santifican; el alma del que se eleva se alborozca.

Ayúdate a ti mismo, médico, y así ayudas también a tu enfermo. Que la mejor asistencia del enfermo sea ver por sus propios ojos al que se cura a sí mismo.

Hay mil sendas que jamás fueron holladas, mil fuentes de salud y mil tierras ocultas de la vida. Aún no han sido descubiertos y agotados el hombre y la tierra del hombre.

En verdad la tierra será un día un lugar de curación. Ya la envuelve un olor saludable y de él nacerá el Superhombre y una nueva esperanza...”

Friedrich Nietzsche

“...La Sabiduría es la cosa principal. Ámala, y ella te salvaguardará. Adquiere sabiduría, y con todo lo que adquieres, adquieres entendimiento. Estímalas altamente, y ella te ensalzarán. Te glorificarán porque la abrazas. Dará a tu cabeza una guirnalda de encanto, te otorgará una corona de hermosura...”

Proverbios 4:6-9

“...El cuerpo es una gran razón, una multiplicidad con un solo sentido, una guerra y una paz, un rebaño y un pastor. Y tu pequeña razón a la que llamas Espíritu, es instrumento de tu cuerpo, hermano mío; instrumento y juguete pequeño de tu gran razón...”

Friedrich Nietzsche

Índice

Introducción	10
Planteamiento del problema	12
Marco teórico	13
Objetivos	29
Hipótesis	30
Justificación	31
Material y Método	34
Resultados	39
Análisis de resultados	46
Discusión	59
Conclusiones	70
Referencias bibliográficas	75
Anexos	78

Introducción

Este trabajo se elaboró debido a la alta incidencia del carcinoma de mama y a la baja frecuencia del tipo histológico sólido que representa un reto diagnóstico para el anatomopatólogo. El carcinoma de mama de tipo histológico sólido se compone de grupos celulares en grandes mantos sin formación de estructuras glandulares o lobulillos expandidos que permitan reconocer los dos grupos clásicos de carcinoma mamario, expresa inmunomarcadores que lo clasifican dentro de los grupos de arreglo histológicos conocidos (ductal o lobulillar) que reciben tratamiento específico. Los dos grupos histológicos conocidos y que aquí nombraremos como “clásicos” son: el tipo ductal y el tipo lobulillar, además estudiaremos el tipo neuroendocrino, que en ocasiones se presenta como parte de los dos tipos histológicos clásicos y en otras como componente mayoritario del carcinoma; con el consecuente diferente pronóstico para la paciente. Emplearemos criterios histológicos usuales para separar el carcinoma ductal del lobulillar así como el de tipo neuroendocrino resaltando la importancia que tiene la inmunohistoquímica en el diagnóstico de lesiones confusas y evidenciando la existencia de formas combinadas y formas verdaderamente híbridas. Los inmunomarcadores que decidimos usar en este estudio son accesibles y aplicables para separar y clasificar cada subtipo histológico, el marcador de mayor utilidad en el carcinoma de tipo histológico sólido para separar los dos subtipos clásicos es la E-caherina, que es una molécula de adhesión celular que no se expresa en la mayoría de los carcinomas lobulillares y que se expresa en la mayoría de los carcinomas ductales. La citoqueratina 8 y la cromogranina son marcadores auxiliares en la clasificación de los carcinomas ductal y lobulillar, además de que la

cromogranina como marcador neuroendocrino se empleará para separar al carcinoma de este tipo. El carcinoma neuroendocrino como fenotipo principal es muy raro en el carcinoma mamario y su significado pronóstico permanece poco claro; pero el diagnóstico de “carcinoma mamario con diferenciación neuroendocrina focal”, constituye casi la mitad de los carcinomas mamaros y no se le ha dado valor pronóstico significativo en estudios recientes. Nuestro propósito es resaltar el valor de la inmunohistoquímica en apoyo a la histología para la clasificación de los tipos de carcinoma mamario con patrón histológico sólido que se presentan con frecuencia en nuestra práctica diaria.

Planteamiento del problema

¿En las biopsias de carcinoma de mama con patrón histológico sólido, la expresión de inmunomarcadores E-cadherina (ECAD), Citoqueratina 8 (CK8) y Cromogranina (CGR) se presenta en una mayor proporción que en las biopsias de carcinoma de mama con patrón histológico clásico?

Marco teórico

La glándula mamaria está cubierta por piel y tejido subcutáneo y descansa sobre el músculo pectoral del que está separada por una fascia. La unidad morfofuncional del órgano es una estructura ramificada compleja que se compone de dos partes principales: unidad ducto-lobulillar terminal (conductillos revestidos por epitelio o ácidos) y el sistema de conductos mayores (conducto subsegmentario, segmentario, galactóforo y colector). La unidad ducto-lobulillar terminal (UDLT) está formada por el lobulillo y el conducto terminal y representa la porción secretora de la glándula. La UDLT se reconoce debido a su arquitectura distintivamente lobulillar; la presencia de un estroma especializado de tejido conectivo que responde a estímulos hormonales.

Todo el sistema epitelial ducto-lobulillar de la mama está revestido por dos tipos especializados de células epiteliales: el epitelio interno con funciones secretorias y absortivas (frecuentemente llamado sólo epitelio) y el externo de células mioepiteliales. Estos dos tipos de células tienen distintas características ultraestructurales y de inmunohistoquímica (por ej. células epiteliales son CK 8, 18, 19 y EMA positivo; células mioepiteliales son S-100, AEM, Calponina positivo).¹

De la misma manera que el endometrio en el útero, la mama crece y decrece con cada ciclo menstrual, durante la primera mitad (fase folicular) los lobulillos permanecen relativamente quiescentes. Tras la ovulación y bajo la influencia de los estrógenos y de los niveles cada vez mayores de progesterona, se incrementa la proliferación y el número de ácidos por lobulillo y a parecen

vacuolas en las células epiteliales basales. Se hace prominente el edema del estroma lobulillar.

Sólo con el comienzo del embarazo la mama asume su maduración morfológica y su actividad funcional completas. De cada conducto terminal surgen numerosas glándulas secretoras verdaderas. Se produce una reversión de la relación habitual estroma:componente glandular; de forma que al final de la gestación la mama esta casi totalmente compuesta por lobulillos separados por una cantidad relativamente escasa de estroma.

Después de la lactación, las glándulas regresan y se atrofian de nuevo y el tamaño total de la mama disminuye notablemente. Después del tercer decenio de vida, los conductos y lobulillos se atrofian progresivamente con disminución de volumen del estroma intralobulillar e interlobulillar.²

La importancia fundamental de la división de la glándula mamaria en dos partes principales reside en su relación con las enfermedades de este órgano.

El sitio de origen de la enfermedad fibroquística (incluyendo la acompañada por la formación de grandes quistes), la “hiperplasia ductal” (epiteliosis o papilomatosis) y la mayoría de carcinomas (incluyendo los llamados de “tipo ductal”) es la unidad ducto-lobulillar terminal y no el sistema de conductos mayores. Este último es sitio primario de papilomas solitarios, ectasia ductal y unos pocos tipos raros de carcinoma ductal.¹

En la glándula mamaria se presentan diferentes tipos de tumores benignos y malignos. De los tumores malignos existen aquellos de estirpe epitelial, mesenquimatosa, linfoide y mixtos. Los tumores de estirpe epitelial pueden adoptar patrones de crecimiento que incluyen el tipo sólido, es decir un

crecimiento difuso dispuesto en grandes mantos de células neoplásicas malignas.

La **clasificación del carcinoma mamario** tradicionalmente esta basada en el fenotipo histológico del tumor. La **Organización Mundial de la Salud** ha clasificado los tumores de mama de la siguiente manera:

- ***Tumores epiteliales***
- Lesiones mioepiteliales
- Tumores mesenquimatosos
- Tumores fibroepiteliales
- Tumores del pezón
- ***Linfoma***
- Tumores metastásicos
- Tumores de la mama masculina

De los tumores epiteliales, **los que presentan un patrón histológico sólido**, incluyen, carcinoma: ductal, lobulillar, cribiforme, medular, mucinoso, neuroendocrino y epidermoide.

Los carcinomas de mama se clasifican como carcinoma ductal o lobulillar de acuerdo a características morfológicas distintivas observadas por examen microscópico.³

Los carcinomas se dividen en carcinomas in situ y carcinomas invasores. El carcinoma in situ hace referencia a una población neoplásica de células

limitada a conductos y lobulillos por la membrana basal. El carcinoma invasor o infiltrante ha invadido más allá de la membrana basal hasta el estroma, donde las células también pueden invadir los vasos sanguíneos y de ahí llegar a los ganglios linfáticos regionales y a distancia.^{2, 14}

Para una adecuada valoración de la etapa en que se encuentra el carcinoma se emplean marcadores de inmunohistoquímica tales como p63, actina específica de músculo liso y Calponina entre otros para establecer la presencia de células mioepiteliales que como se mencionó al inicio son células basales que delimitan a las células epiteliales en el lobulillo mamario y que si éstas se pierden reflejan la falta de integridad de las células epiteliales (en este caso, neoplásicas) al interior del lobulillo y por lo tanto invasión al estroma mamario que convierte al carcinoma de una variante in situ a una variante invasora, aun en los casos de que se trate de invasión mínima, ésta se podrá identificar certeramente, llamándola, si es el caso, microinvasión.¹⁷

Características morfológicas de carcinoma ductal

El carcinoma ductal in situ (CDIS) está formado por una población maligna de células limitadas a conductos y lobulillos por la membrana basal. Las células mioepiteliales están conservadas, aunque pueden disminuir de número. El CDIS es una proliferación de clonas y suele afectar a un único sistema ductal. Sin embargo, las células pueden diseminarse por conductos y lobulillos y producir lesiones amplias que afecten a todo un sector de la mama.²

El CDIS se ha dividido en tipos arquitecturales:

Papilar

Comedocarcinoma

Sólido

Cribiforme

Micropapilar

Cohesivo (“clinging”)

Hipersecretorio quístico

El carcinoma papilar es un tipo distinto que se piensa se origina de los conductos grandes. Los otros tipos, se piensa se originan de la unidad terminal ducto-lobulillar) aunque frecuentemente se extienden a los conductos grandes.

El carcinoma ductal in situ se han dividido en:

a) Alto grado, caracterizado por células pleomórficas asociadas con necrosis

a. Comedocarcinoma (corresponde al grado 3 de CDIS)

b) Bajo grado, compuesto de células más pequeñas uniformes no asociadas con necrosis

a. Sólido

b. Cribiforme

c. Micropapilar (los tres corresponden al grado 1 del CDIS)

Las lesiones “clinging” se han incluido dentro de estas dos categorías dependiendo de sus características citológicas.¹

Tabla traduccional simplificada para Neoplasia intraepitelial ductal (DIN <i>del inglés ductal intraepithelial neoplasia</i>) ⁴	
DIN 1 ^a	Atipia epitelial plana
DIN 1b	Hiperplasia ductal atípica
DIN 1c	CDIS grado I
DIN 2	CDIS grado II
DIN 3	CDIS grado III

En el **patrón histológico sólido del CDIS**, *la luz glandular está llena por la proliferación de células de tamaño mediano* las cuales son más grandes que aquellas del CLIS, pero más pequeñas y más uniformes que aquellas del comedocarcinoma. Se ha puntualizado que los *bordes celulares angulados* (lo opuesto a una cualidad “sincicial”) y la *palidez del citoplasma* (lo opuesto a una acidofilia prominente) frecuentemente se exhibe por estas células.¹

Las variantes citoarquitecturales del carcinoma ductal invasor son:

- a) Tipo no especificado de otra manera
- b) Carcinoma tubular
- c) Carcinoma cribiforme
 - a. Sólido
- d) Carcinoma mucinoso
 - a. Sólido

- e) Carcinoma medular
 - a. Sólido
- f) Carcinoma papilar invasor
- g) Carcinoma apocrino
- h) Carcinoma juvenil (secretor)

El empleo de *marcadores de inmunohistoquímica* en el carcinoma ductal tiene valor pronóstico bien establecido. Se usan anticuerpos para receptores de estrógenos (RE) y progesterona (RP), además de Her 2. Se han hecho estudios comparativos que han mostrado por ejemplo, que en el carcinoma ductal invasor de alto grado (que puede pertenecer a un tumor sólido), la expresión de RE/RP parecida se correlaciona inversamente con la amplificación o sobreexpresión de Her 2. Desde que Her 2 se ha demostrado como un factor pronóstico negativo importante, la diferencia de su sobreexpresión puede dar una explicación para los diferentes comportamientos clínicos en un estudio realizado entre el carcinoma medular y el carcinoma medular atípico y el carcinoma ductal invasor de alto grado, pudiéndose tratar de los dos últimos de tumores sólidos. También es potencialmente útil en el diagnóstico y tratamiento de aquellos tumores con morfología muy similar pero con diferentes resultados clínicos.¹³

Grado histológico para el carcinoma de mama invasivo		
Clasificación de Scarff Bloom Richardson		
Característica	Puntuación	
Formación de túbulos		
Mayoría del tumor (>75%)	1	
Grado moderado (10-75%)	2	
Poco o nada (<10%) <i>Debe estar presente luz clara para puntuación adecuada</i>	3	
Pleomorfismo nuclear		
Células uniformes, regulares, pequeñas <i>Tamaño normal de células, cromatina uniforme</i>	1	
Incremento moderado en tamaño y variabilidad	2	
Núcleo vesicular abierto con nucléolo visible Variación marcada, especialmente núcleos grandes y bizarros <i>Vesiculosos con nucleolos múltiples o prominentes</i>	3	
Cuenta mitótica con objetivo 40x		
Diámetro del campo 0.44 (área 0.152mm ²)	Diámetro del campo 0.59 (área 0.24mm ²)	Puntuación
0-5 mitosis por 10 CAP	<10 mitosis por 10 CAP	1
6-10 mitosis por 10 CAP	10-20 mitosis por 10 CAP	2
>10 mitosis por 10 CAP	>20 mitosis por 10 CAP	3

Criterios citológicos para el Grado nuclear de Black Fisher			
Característica	1 (bien)	2 (moderado)	3 (pobre)
Tamaño nuclear en relación al conducto normal	Similar, agrandamiento mínimo	Dos veces de variación; uniformidad es la regla con variación leve	Tres veces de variación en el diámetro nuclear
Membrana nuclear		Redonda, lisa	Irregular
Cromatina		Uniforme, fina	Hipercromática, gruesa
Nucleolo		Macro ±	Macro ±
Mitosis		Moderadas	Frecuentes

Características morfológicas de carcinoma lobulillar

Las células anormales de la hiperplasia lobulillar atípica, el carcinoma lobulillar in situ y el carcinoma lobulillar invasor son idénticas, siendo células pequeñas de núcleos ovales o redondos con nucleolos pequeños que no se adhieren entre sí.⁵

El CLIS también se conoce como neoplasia lobulillar, no tiene características macroscópicas distinguibles y usualmente se encuentra de forma incidental en glándulas mamarias extirpadas por otras razones. Es multicéntrico en aproximadamente 70% de los casos y bilateral en aproximadamente 30 a 40% de los casos.

Microscópicamente los lobulillos están distendidos y llenos de células relativamente uniformes, redondas y de tamaño pequeño a mediano con núcleo redondo y normocromático (o sólo levemente hipercromático). En un caso típico, generalmente son mínimos o están ausentes atipia, pleomorfismo, actividad mitótica y necrosis, y existe falta de cohesividad entre las células tumorales. Cuando *las células tumorales son de tamaño mediano a grande,*

con pleomorfismo moderado a marcado, nucleolo prominente ocasional y citoplasma moderado a abundante, la lesión se refiere como CLIS pleomórfico. También incluye patrones de crecimiento **sólido**, cribiforme o micropapilar.

El carcinoma lobulillar invasor es de diferentes tipos^{1,6}:

- a) Tipo clásico
- b) Pleomórfico
- c) Histiocitoide
- d) Células en anillo de sello
- e) Tubulolobulillar
- f) Sólido**
- g) alveolar
- h) Cribiforme
- i) Micropapilar

El tipo clásico se caracteriza por la presencia de células tumorales redondas y relativamente uniformes, creciendo de forma suelta y en fila india y en un patrón concéntrico (pagetoide), alrededor de los lobulillos afectados por la neoplasia lobulillar in situ. La formación glandular no es una característica de este carcinoma. El estroma usualmente es abundante, de tipo fibroso denso y contiene focos de elastosis periductal y perivenosa en casi todos los casos.

El carcinoma lobulillar pleomórfico muestra un patrón de crecimiento como el tipo clásico pero las células son grandes con núcleos irregulares y nucleolos prominentes, las células tumorales generalmente tienen abundante citoplasma y actividad mitótica alta, la presencia de carcinoma in situ es muy usual. Las características celulares son distintivas con diferenciación apocrina, y gran expresión de **cromogranina** y proteína **p53** con baja expresión de receptores de estrógeno y progesterona, en comparación con el carcinoma lobulillar de tipo clásico. La determinación de la sobreexpresión de p53 y la expresión reducida o ausente **RE** y **RP** ayuda a predecir el comportamiento de esta variante del carcinoma lobulillar, que puede incluir la variante sólida.⁶

A continuación se muestra el perfil inmunohistoquímico observado por Radhi JM⁶:

Marcadores	Carcinoma lobulillar pleomórfico	Tipo clásico
AME	+++	+
CK bajo peso molecular	+++	+
CK alto peso molecular	±	±
Cromogranina	+ (3-5%)	+ (1-2%)
RE	+ (0-20%)	+++ (100%)
RP	+ (0-20%)	++ (90%)
p53	++ (10-45%)	+ (0-5%)

Las **cromograninas** son marcadores neuroendocrinos específicos que pertenecen a la familia de proteínas ácidas originalmente identificadas en los gránulos cromafines de la médula suprarrenal y más tarde distribuidos en el tejido endocrino. En microscopía electrónica se observan como gránulos

neurosecretorios electro-densos y se detectan rara vez en el carcinoma lobulillar, su presencia se asocia con luces citoplásmicas de las células tumorales. El carcinoma lobulillar pleomórfico muestra un número un poco mayor de células inmunorreactivas a cromogranina. La diferenciación neuroendocrina en el carcinoma mamario aún sigue en debate.⁶

Carcinoma con patrón histológico sólido: ductal vs lobulillar

Aunque generalmente los criterios histológicos aceptados sirven para distinguir el carcinoma ductal del lobulillar de la mama, este diagnóstico diferencial puede representar un desafío en los carcinomas pobremente diferenciados que muestran características histológicas imprecisas con un patrón de infiltración difuso (sólido) y en la variante pleomórfica del carcinoma lobulillar invasor.

Un desafío diagnóstico similar ocurre también en los carcinomas in situ de la mama. Aunque algunos carcinomas in situ tienen componentes ductal y lobulillar y se han categorizado como lesiones mixtas verdaderas, otros tumores desobedecen a una clasificación clara debido a la presencia de características histológicas ambiguas. El carcinoma lobulillar in situ (CLIS) puede ser imitado por un carcinoma ductal in situ (CDIS) de bajo grado con un patrón de crecimiento sólido que afecta lobulillos y conductos.

Aunque la distinción clara de los tipos ductal y lobulillar en el carcinoma invasor es más o menos un ejercicio académico, la distinción de las lesiones in situ pueden ser importantes. El CLIS generalmente se trata de forma conservadora, desde que recientemente es considerado como un factor de alto riesgo para el desarrollo de carcinoma invasivo, más que una lesión precancerosa obligada.

Por otro lado el CDIS es considerado una lesión precancerosa obligada y el manejo quirúrgico está encaminado a la extirpación completa del tumor.³

Características inmunohistoquímicas frecuentemente observadas de carcinoma ductal vs lobulillar:

Perfil inmunohistoquímico del carcinoma ductal vs lobulillar		
Inmunotinción	Carcinoma ductal	Carcinoma lobulillar
Receptores de estrógenos	Positivo/Negativo	Positivo
Receptores de progesterona	Positivo/Negativo	Positivo
Her 2	Positivo	Negativo
E- cadherina	Positivo	Negativo
Citoqueratina de alto peso molecular	Negativo	Positivo
Cromogranina	Negativo	Positivo/Negativo
Sinaptofisina	Negativo	Positivo/Negativo
p53	Elevado	Moderado

El perfil inmunohistoquímico esperado en el carcinoma ductal y lobulillar es el mostrado arriba en los **casos típicos** pero hay variaciones consistentes de acuerdo al grado histológico del tumor analizado.

Enfatizaremos el uso de **E-cadherina** que es el marcador inmunohistoquímico de mayor utilidad para diferenciar el carcinoma lobulillar del ductal. La E-cadherina es miembro de una familia de glucoproteínas transmembrana responsables del mecanismo de adhesión célula-célula dependiente de canales de calcio y se ha demostrado que participa en la organogénesis y morfogénesis. En las células epiteliales, E-cadherina es considerada una de las moléculas claves en la formación de complejos de unión intercelular y para el

establecimiento de la polarización celular.⁵⁻⁸ La expresión de un número reducido de moléculas E-cadherina funcionalmente activas se ha observado en tumores agresivos de esófago, ovario y estómago y la baja expresión de E-cadherina se ha pensado asociar con la invasividad de las células tumorales. Debido a que en el carcinoma lobulillar de mama se pierde la expresión de E-cadherina y en el carcinoma ductal se conserva debido a la cohesividad de las células, la emplearemos en este estudio para establecer la diferencia adecuada entre los dos tipos de carcinoma más frecuentemente observados en la población de nuestra institución.

La molécula E-cadherina (cadherina epitelial) es una proteína de adhesión celular de 120Kd que se expresa en las células epiteliales. Es una proteína transmembrana dependiente de calcio que es crucial para la adhesión célula-célula por las uniones adyacentes entre las células.

Varios estudios han implicado la pérdida del gene supresor de tumor de la E-cadherina relacionado a la disminución de la adhesión celular, aumentando las metástasis del tumor y empobreciendo la sobrevida. La E-cadherina (ECAD) presente en el epitelio ductal se demuestra por un patrón de inmunotinción intenso de la membrana celular.

El gene de la ECAD, CDH1, es un gene grande localizado en 16q22.1. La proteína ECAD tiene una porción intracitoplásmica y una intramembranosa y un dominio extracelular. La adhesión de célula a célula a través de la ECAD es también, críticamente dependiente de los complejos subplasmalemales intracitoplásmicos de cateninas (alfa, beta, gamma, isoformas) que unen ECAD a la actina del citoesqueleto de la célula. Las anomalías de la expresión de

los genes de ECAD y cateninas pueden resultar en una variedad de características inmunohistoquímicas patológicas de ECAD.¹⁸

Características morfológicas del carcinoma neuroendocrino

Los tumores del sistema endocrino difuso son un grupo de neoplasias malignas heterogéneas que tienen algunas características citológicas y al microscopio óptico. Sin embargo, estas características no son específicas e identificar tumores neuroendocrinos requiere evaluaciones adicionales que incluyen análisis histoquímico y ultraestructural, y más comúnmente, inmunotinciones para marcadores neuroendocrinos, tales como enolasa neurona específica, sinaptofisina y cromogranina.

Se ha propuesto que estos tumores resultan de una diferenciación dual de un precursor neoplásico, célula madre que da lugar a ambos linajes epitelial y endocrino. Por tanto se ha recomendado que el tratamiento de carcinomas de mama con diferenciación endocrina deba ser el mismo que el de los tipos de carcinoma mamario usual. El significado pronóstico de este fenotipo no está claro. Sin embargo, estudios recientes han mostrado que la diferenciación endocrina focal no es de valor pronóstico.¹⁰

El **linfoma** se puede presentar como una neoplasia primaria o afectar la mama como parte de un proceso sistémico, se estudia aquí debido a su imagen histológica difusa, de grandes grupos de células neoplásicas monomorfas dispuestas en mantos, dando una apariencia histológica de tipo sólida en la microscopía de luz. Se encuentran múltiples nódulos en ocasiones. La afección bilateral sucede en una de cada cuatro pacientes. En adultos, los

linfomas primarios de mama son casi siempre de tipo no Hodgkin y usualmente de células B. Ellos pueden estar hechos de cualquiera de las dos, células grandes o pequeñas y pertenecer a la categoría de linfomas tipo MALT. Esto incluye la tendencia a rodear e invadir la pared y luz de las estructuras epiteliales, resultando en la llamada lesión linfoepitelial. Los estudios de inmunohistoquímica muestran que en la mayoría de los casos no tienen evidencia de diferenciación marginal o de células de la zona del manto. El patrón en tiro al blanco algunas veces puede rodear los conductos y puede simular la apariencia de carcinoma lobulillar invasivo; en tales casos, las inmunotinciones para CD45, CD20 y citoqueratinas deben resolver el dilema diagnóstico. La sobrevida de pacientes con linfoma de mama se relaciona con el estadio y tipo microscópico.

Objetivos

General

Determinar si las características histopatológicas e inmunohistoquímicas de los carcinomas de mama con patrón histológico sólido y clásico para su clasificación por etapa del carcinoma (in situ o invasor) y su diferenciación (ductal, lobulillar, neuroendocrino) son diferentes en ambos grupos

Específicos

- a) Determinar las características histológicas: tamaño nuclear, presencia de nucleolo, grado de Scarff Bloom Richardson, grado nuclear de Black Fisher (tinción de hematoxilina y eosina)
- b) Determinar las características histoquímicas respecto a argirofilia y presencia de moco (tinciones de Grimelius, PAS con diastasa, mucicarmín y azul alciano)
- c) Determinar características inmunohistoquímicas: receptores de estrógenos, receptores de progesterona, Her-2, E-cadherina, citoqueratina de alto peso molecular, sinaptofisina, cromogranina, citoqueratina 8, p63, actina específica de músculo liso, calponina)

Hipótesis

Alternativa

En las biopsias de carcinoma de mama con patrón histológico sólido, la expresión de inmunomarcadores ECAD, CK8 y CGR se presenta en una *mayor proporción de 0.40* que en las biopsias de carcinoma de mama con patrón histológico clásico.

Nula

En las biopsias de carcinoma de mama con patrón histológico sólido, la expresión de inmunomarcadores ECAD, CK8 y CGR se presenta en una *misma proporción* que en las biopsias de carcinoma de mama con patrón histológico clásico.

Justificación

Realizamos este estudio debido a la gran incidencia de carcinoma de glándula mamaria en nuestro medio y en nuestro país. Gracias a los procedimientos diagnósticos actuales y a tratamientos dirigidos específicos, se ofrece mejor atención a este padecimiento.

Con la realización de esta investigación queremos establecer la frecuencia de presentación del carcinoma mamario con patrón histológico de tipo sólido en la población de nuestra institución hospitalaria.

Para el médico patólogo representa dificultad diagnóstica el carcinoma mamario con patrón histológico sólido debido a que los dos principales tipos pueden asemejarse entre sí, pues por ejemplo el carcinoma ductal con patrón histológico sólido no forma luces glandulares y en un grado nuclear bajo las células malignas presentan poca atipia, características que se presentan en el carcinoma lobulillar clásico, en el cual, el patrón histológico sólido, puede por otro lado formar falsas luces glandulares, simulando un carcinoma ductal de bajo grado, debido a la falta de cohesividad que presentan las células malignas, propiedad específica del carcinoma lobulillar, que es altamente demostrable con el uso del anticuerpo contra E-cadherina y que definitivamente apoya el diagnóstico histopatológico a favor del carcinoma lobulillar cuando se encuentra negativa la reacción, pues esta molécula refleja la pérdida de cohesividad de las células malignas, dando por resultado la separación entre ellas y la formación de falsas luces glandulares. Esta tinción de inmunohistoquímica, en conjunto con la positividad de los receptores de

estrógenos y progesterona y la negatividad de el Her2, dan un diagnóstico de certeza para el carcinoma lobulillar.

La diferenciación adecuada entre el carcinoma lobulillar y ductal de patrón sólido determina el comportamiento biológico y por tanto el pronóstico clínico de las pacientes con carcinoma de glándula mamaria.

Con esta investigación obtendremos mayor experiencia en la caracterización de una neoplasia lobulillar de una ductal y otras con patrón de crecimiento sólido, desde la observación morfológica e histoquímica para después apoyarlo con pruebas de inmunohistoquímica y brindar un diagnóstico de certeza.

Una vez establecida la diferencia se incide directamente en el tratamiento posterior a la cirugía de la paciente, ya que si se trata de carcinoma ductal Her-2 positivo 3+, la institución debe proporcionar Trastuzumab, que es un medicamento específico y de costo elevado y que en el caso del carcinoma lobulillar no está indicado. En cambio si se trata de un carcinoma lobulillar morfológica e inmunohistoquímicamente caracterizado, el seguimiento clínico de la paciente posterior a la cirugía, debe ser estrecho; pues este tipo de carcinoma se ha relacionado con multicentricidad y bilateralidad.

En otros tumores con patrón sólido, establecer un diagnóstico adecuado es un parteaguas en el manejo de la paciente. Esto es de gran relevancia en tumores con diferenciación neuroendocrina o linfomas de glándula mamaria, que también se han presentado en la población de nuestra institución y el tratamiento es rotundamente distinto al del carcinoma ductal; que es el tipo de carcinoma más frecuentemente observado.

La importancia de esta investigación radica en efectuar diagnósticos fundamentados que conduzcan a tratamientos específicos que determinen un mejor pronóstico, supervivencia y calidad de vida de las numerosas pacientes que padecen carcinoma de la glándula mamaria. De esta manera se optimizan recursos y procedimientos, además de medicamentos costosos para la institución, dirigiéndolos a las candidatas apropiadas para ellos.

Material y método

Seleccionamos biopsias de carcinoma de mama de pacientes femeninos derechohabientes del ISSSTE pertenecientes al Hospital Regional “Lic. Adolfo López Mateos”; que se procesaron de forma convencional, exponiendo el tejido mamario a la fijación en Bouin durante una hora y posteriormente en alcohol durante 24 horas o en su defecto, en formol durante 24 horas. El tejido una vez seccionado se procesó en el laboratorio de histopatología con la técnica histológica habitual para obtención de laminillas de cortes histológicos, en primera instancia, teñidos con hematoxilina y eosina para análisis morfológico. Los médicos que revisaron las biopsias se encontraron cegados para los resultados de este estudio. El resultado obtenido estuvo dado por dos de tres observaciones de diferentes médicos patólogos.

De las biopsias seleccionadas, 50% biopsias correspondieron al patrón histológico clásico encontrado en los carcinomas ductal, lobulillar y neuroendocrino. Este grupo fue el grupo *control* en el cual se conoce el patrón histológico, las características histoquímicas y el perfil inmunohistoquímico esperado para cada carcinoma. Y el otro 50% biopsias correspondieron al patrón histológico sólido, el cual se puede presentar en cualquiera de los tres carcinomas ductal, lobulillar o neuroendocrino. Este grupo correspondió al grupo de *casos* debido a que en este patrón histológico se determinaron las características histoquímicas e inmunohistoquímicas para clasificar al carcinoma de mama, pudiendo corresponder a cualquiera de las tres diferenciaciones, ductal, lobulillar o neuroendocrina. Se realizó histoquímica a los dos grupos, al de patrón histológico sólido y al de patrón histológico clásico. Las tinciones especiales utilizadas fueron Grimelius, PAS con diastasa,

mucicarmín y azul alciano, que se reportaron positivos o negativos de acuerdo a la captación del tejido de biopsia del colorante en cuestión. Posteriormente se aplicaron pruebas de inmunohistoquímica a los dos grupos por igual siendo las inmunotinciones receptores de estrógenos, receptores de progesterona, Her-2, E-cadherina, citoqueratina de alto peso molecular, sinaptofisina, cromogranina, citoqueratina 8, p63, actina específica de músculo liso, calponina.

Se obtuvieron tres laminillas de corte histológico de tumor por cada espécimen quirúrgico estudiado. Se hizo una determinación general de las características morfológicas de los cortes obtenidos y después se realizaron pruebas de histoquímica e inmunohistoquímica para clasificar el carcinoma de mama.

En el análisis microscópico de los cortes histológicos teñidos con hematoxilina y eosina, que es la tinción habitual para el análisis morfológico, fueron caracterizados y clasificados por su patrón histológico sólido.

Una vez identificado el patrón histológico sólido en el carcinoma mamario, se realizaron tinciones especiales para determinar la producción de mucina intracelular, con tinción de PAS, azul alciano y mucicarmín y hierro coloidal. Por otro lado, usamos la tinción de Grimelius para demostrar la argirofilia de las células neuroendocrinas presentes en el carcinoma neuroendocrino.

Las tinciones de inmunohistoquímica son un método para localizar antígenos específicos en los tejidos o células basados en el reconocimiento antígeno-anticuerpo; esto busca aprovechar la especificidad provista por la unión de un anticuerpo con su antígeno en un nivel de microscopía de luz. Estudiamos los perfiles de inmunohistoquímica esperados, reportados en la literatura, para

clasificar los carcinomas mamarios y de esta forma establecer un diagnóstico de certeza.

Por último de acuerdo al análisis histológico, histoquímico e inmunohistoquímico se llegó a una conclusión diagnóstica basada en una combinación de técnicas y resaltando el valor de la inmunohistoquímica en este campo para clasificar el carcinoma mamario con patrón histológico sólido.

Se registraron los siguientes datos:

a) Características histológicas

- tamaño nuclear
- presencia de nucleolo
- Grado de Scarf Bloom Richardson
- Grupo de Scarf Bloom Richardson Modificado
- Grado nuclear de Black Fisher

b) Características histoquímicas

- PAS con diastasa
- Azul alciano
- Mucicarmín

- Grimelius

c) Características inmunohistoquímicas

- Receptores de estrógenos (RE)
- Receptores de progesterona (RP)
- Her2
- E-cadherina (ECADH)
- Citoqueratina de alto peso molecular (CKH)
- Citoqueratina 8 (CK8)
- Actina específica de músculo liso (AEM)
- Calponina (CALP)
- Sinaptofisina (SNF)
- Cromogranina (CGR)
- p63

Al término del registro se realizó una descripción estadística de los mismos y se comparó la expresión de inmunomarcadores principales de E-cadherina, CK8 y CGR así como RE, RP, Her2, CKH, AEM, CALP, SNF y p63, entre los dos grupos estudiados, con el objetivo de determinar cómo se expresaron éstos en cada grupo. También se compararon las variables histológicas (tamaño

nuclear, presencia de nucleolo, Grado de Scarff Bloom Richardson y Grado nuclear de Black Fisher) e histoquímicas (positividad o negatividad para tinción de PAS con diastasa, azul alciano, mucicarmín y Grimelius). Las variables nominales se compararán con una prueba de X^2 , y las variables continuas con una prueba de "t" de student no parada. Se realizará riesgo relativo para determinar causalidad. Debido a que el tamaño de la muestra en este trabajo es muy bajo, este análisis estadístico descrito aquí se realizará posteriormente; una vez ampliada de forma prospectiva esta serie. En su lugar y a manera de informe preliminar usaremos estadística descriptiva para analizar los casos incluidos en este trabajo.

El tamaño de muestra se calculó para una diferencia de proporciones en la expresión de inmunomarcadores ECAD, CKH y CGR en las biopsias de carcinoma de mama con patrón histológico sólido (proporción de 0.80), y en las biopsias de carcinoma de mama con patrón histológico clásico (proporción 0.40). Para una hipótesis de una cola, con un error alfa de 0.05 y un error beta de 0.20.

Resultados

Se estudiaron 19 casos de carcinoma mamario; 10 de carcinoma sólido y 9 casos carcinoma de tipo histológico convencional o clásico.

Las tinciones especiales que se evaluaron fueron PAS con diastasa, Azul alciano, Mucicarmín y Grimelius. La tinción de PAS evalúa la producción de mucina neutra y su positividad se presenta en color fucsia y en diferentes localizaciones en el tejido y en la célula. Sólo se consideró útil para la diferenciación lobulillar la tinción de PAS, cuando se presentaba como color fucsia en vacuolas intracitoplásmicas. Se registró como positiva la tinción cuando se presentó extracelularmente pero no se consideró útil como auxiliar en la clasificación de la diferenciación del carcinoma lobulillar. Las tinciones Azul alciano y Mucicarmín sirven para evaluar la producción de mucina ácida. Y resultaron positivas en los mismos casos en los que se consideró como positiva la tinción de PAS. La tinción de Grimelius evalúa argirofilia del tejido con la presencia de gránulos neuroendocrinos intracitoplásmicos. En todos los casos la tinción de Grimelius resultó negativa, lo que indica solamente que no hubo argirofilia del tejido y no se orientó hacia diferenciación neuroendocrina.

El resultado de las características histológicas por la tinción habitual de hematoxilina y eosina (HE), características histoquímicas evaluadas por las tinciones especiales y las características inmunohistoquímicas evaluadas por las inmunotinciones; se muestra en las tablas siguientes:

CARCINOMA SÓLIDO

A. CARACTERÍSTICAS HISTOLÓGICAS HE				
Caso	Tamaño nuclear (μ)	Presencia de nucleolo	Grado de Scarff Bloom Richardson	Grado nuclear de Black Fisher
(2848-08)1	Grande	Pequeño	II	2
(7595-07)2	Pequeño	Inaparente	I	1
(9020-07)3	Grande	Evidente	III	3
(6003-07)4	Mediano	Inaparente	I	1
(1931-08)5	Grande	Evidente	III	3
(5362-08)6	Mediano	Inaparente	II	2
(10316-08)7	Pequeño	Inaparente		2
(10316-08)7	Grande	Pequeño	III	3
(646-09)8	Mediano	Inaparente	II	2
(10788-08)9	Grande	Pequeño	III	3
(10930-08)10	Grande	Grande	II	3
(10930-08)10	Pequeño	Inaparente	II	2

B. CARACTERÍSTICAS HISTOQUÍMICAS DE CARCINOMA SÓLIDO

Caso	PAS con diastasa	Azul alciano	Mucicarmín	Grimelius
(2848-08)1	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
(7595-07)2	Negativo	Positivo extracelular	Negativo	Negativo
(9020-07)3	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
(6003-07)4	Positivo extracelular	Positivo extracelular	Negativo	Negativo
(1931-08)5	Negativo	Positivo focal	Negativo	Negativo
(5362-08)6	Negativo	Positivo extracelular	Negativo	Negativo
(10316-08)7	Positivo extracelular	Positivo focal	Negativo	Negativo
(10316-08)7	Positivo extracelular	Positivo focal	Negativo	Negativo
(646-09)8	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
(10788-08)9	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
(10930-08)10	Positivo extracelular	Negativo	Positivo focal extracelular	Negativo
(10930-08)10	Positivo extracelular	Negativo	Positivo focal extracelular	Negativo

C. CARACTERÍSTICAS INMUNOHISTOQUÍMICAS DE CARCINOMA SÓLIDO

Caso	Receptores de estrógenos	Receptores de progesterona	Her 2	E- cadherina	CKH	CK8
(2848-08)1	100%	90%	Negativo 1+	Positivo membrana moderada	Negativo	Positivo fuerte P
(7595-07)2	70%	60%	Negativo 0	Positivo membrana débil	Negativo	Positivo débil C
(9020-07)3	Negativo	Negativo	Positivo 3+	Positivo membrana débil focal	Negativo	Positivo débil M
(6003-07)4	90%	60%	Negativo 0	Positivo membrana débil	Negativo	Positivo fuerte P
(1931-08)5	60%	40%	Negativo 0	Positivo membrana débil	Negativo	Positivo fuerte M
(5362-08)6	90%	Negativo	Negativo 0	positivo focal periférico	Positivo débil	Positivo fuerte M
(10316-08)7	100%	30%	Negativo 0	Negativo	Negativo	Positivo fuerte P
(10316-08)7	100%	30%	Negativo 0	Positivo	Positivo	Positivo fuerte M
(646-09)8	90%	5%	Negativo 1+	Positivo	Negativo	Positivo focal M
(10788-08)9	100%	10%	Positivo 2+	Positivo	Positivo focal	Positivo P
(10930-08)10	80%	10%	Negativo 0	Positivo	Positivo focal	Positivo M
(10930-08)10	80%	10%	Negativo 0	Positivo	Positivo focal	Positivo P

C. CARACTERÍSTICAS INMUNOHISTOQUÍMICAS DE CARCINOMA SÓLIDO

Caso	AEM	Calponina	Sinaptofisina	Cromogranina	p63
(2848-08)1	Negativo en células mioepiteliales	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo focal células mioepiteliales
(7595-07)2		Negativo	Positivo citoplasma débil	Negativo	Positivo células mioepiteliales
(9020-07)3	Negativo en células mioepiteliales	Negativo	Pos/Neg	Negativo	Positivo focal
(6003-07)4	Negativo	Positivo focal	Positivo citoplasma débil	Positivo citoplasma	Negativo
(1931-08)5	Negativo	Negativo	Positivo citoplasma débil	Negativo	Negativo
(5362-08)6	Positivo estromal	Positivo estromal		Negativo	Negativo
(10316-08)7	Negativo	Positivo estromal		Negativo	Negativo
(10316-08)7	Positivo	Negativo		Negativo	Negativo
(646-09)8	Positivo estromal	Positivo focal		Negativo (núcleo)	Positivo unifocal
(10788-08)9	Positivo estromal	Negativo		Negativo	Negativo
(10930-08)10	Positivo estromal	Negativo		Negativo	Positivo focal
(10930-08)10	Positivo estromal	Negativo		Negativo	Positivo focal

CARCINOMA CLÁSICO

A. CARACTERÍSTICAS HISTOLÓGICAS HE					
Caso	Tamaño nuclear (μ)	Presencia de nucleolo	Grado de Scarff Bloom Richardson	Grupo de SBR modificado	Grado nuclear de Black Fisher
(1445-07)1	Grande	Pequeño	II		2
(8916-07)2	Grande	Grande	III		3
(7596-07)3	Pequeño	Inaparente		1	1
(9196-08)4	Mediano	Inaparente		2	2
(9083-07)5	Mediano	Grande	III		3
(9079-07)6	Grande	Pequeño	II		2
(9270-07)7	Grande	Pequeño	II		2
(9086-07)8	Pequeño	Inaparente		1	2
(8135-08)9	Pequeño	Inaparente		1	2

B. CARACTERÍSTICAS HISTOQUÍMICAS				
Caso	PAS con diastasa	Azul alciano	Mucicarmín	Grimelius
(1445-07)1	Positivo focal débil	Negativo	Negativo	Negativo
(8916-07)2	Positivo focal	Positivo débil	Negativo	Negativo
(7596-07)3	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo
(9196-08)4	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
(9083-07)5	Negativo	Positivo focal	Negativo	Negativo
(9079-07)6	Positivo focal	Negativo	Negativo	Negativo
(9270-07)7	Positivo	Negativo	Negativo	Negativo
(9086-07)8	Positivo focal	Positivo	Negativo	Negativo
(8135-08)9	Positivo intraluminal	Positivo intraluminal	Negativo	Negativo

C. CARACTERÍSTICAS INMUNOHISTOQUÍMICAS DE CA CLÁSICO

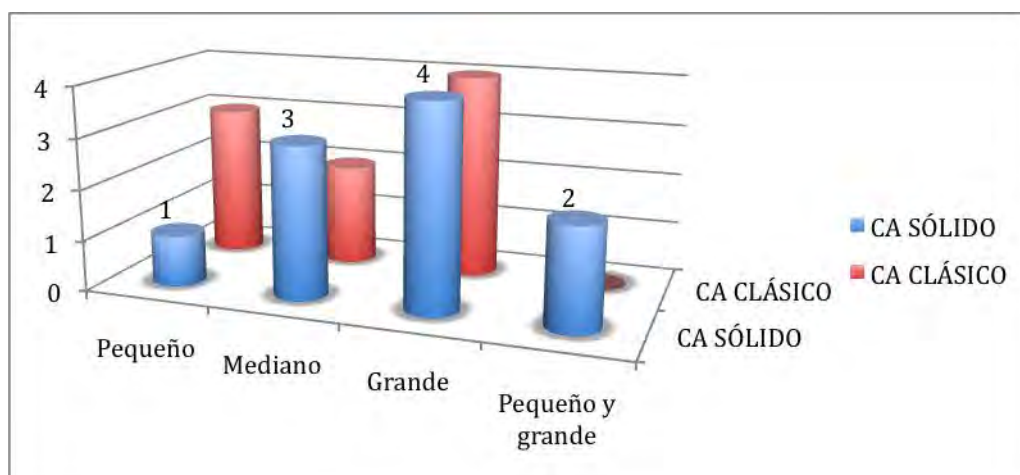
Caso	Receptores de estrógenos	Receptores de progesterona	Her 2	E- cadherina	CKH	CK8
(1445-07)1	20%	5%	Positivo 2+	Positivo	Negativo	Positivo M
(8916-07)2	Negativo	Negativo	Negativo 0	Negativo	Negativo	Negativo
(7596-07)3	90%	90%	Negativo 0	Negativo	Negativo	Positivo focal débil P
(9196-08)4	100%	80%	Negativo 0	Negativo	Negativo	Positivo P
(9083-07)5	0%	0%	Negativo 1+	Positivo	Positivo	Positivo focal débil M
(9079-07)6	40%	60%	Negativo 1+	Positivo	Negativo	Positivo P
(9270-07)7	2%	5%	Negativo 1+	Positivo	Negativo	Positivo M
(9086-07)8	90%	5%	Negativo 0	Positivo unifocal	Negativo	Positivo fuerte P
(8135-08)9	60%	30%	Negativo 1+	Negativo	Positivo	Positivo fuerte P

Caso	AEM	Calponina	Sinaptofisina	Cromogranina	p63
(1445-07)1	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
(8916-07)2	Positivo estromal	Positivo débil	Negativo	Negativo	Negativo
(7596-07)3	Positivo estromal	Positivo focal	Negativo	Negativo	Negativo
(9196-08)4	Negativo	Negativo		Negativo	Negativo
(9083-07)5	Negativo (núcleo)	Neg/Pos	Negativo	Positivo	Negativo (núcleo)
(9079-07)6	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
(9270-07)7	Positivo estromal	Positivo débil	Negativo	Negativo	Negativo
(9086-07)8	Negativo (núcleo)	Positivo débil	Negativo	Negativo	Negativo
(8135-08)9	Negativo	Positivo		Positivo focal mínimo	Positivo

Análisis de resultados

Diecinueve casos de carcinoma mamario evaluados mediante características histológicas por la tinción convencional de hematoxilina y eosina, que incluyeron: **tamaño nuclear**; que se consideró como grande de $>30\mu$, mediano de 20 a $<30\mu$ y pequeño de $<20\mu$. La **presencia de nucléolo**; que se consideró como pequeño cuando se observó sólo con el objetivo de mayor aumento (40x), grande y evidente cuando se observó con el objetivo de mediano aumento (10x) e inaparente cuando no estaba presente o se observaba en una baja proporción de células neoplásicas.

TAMAÑO NUCLEAR	CA SÓLIDO	CA CLÁSICO
Pequeño	1	3
Mediano	3	2
Grande	4	4
Pequeño y grande	2	0
	10	9



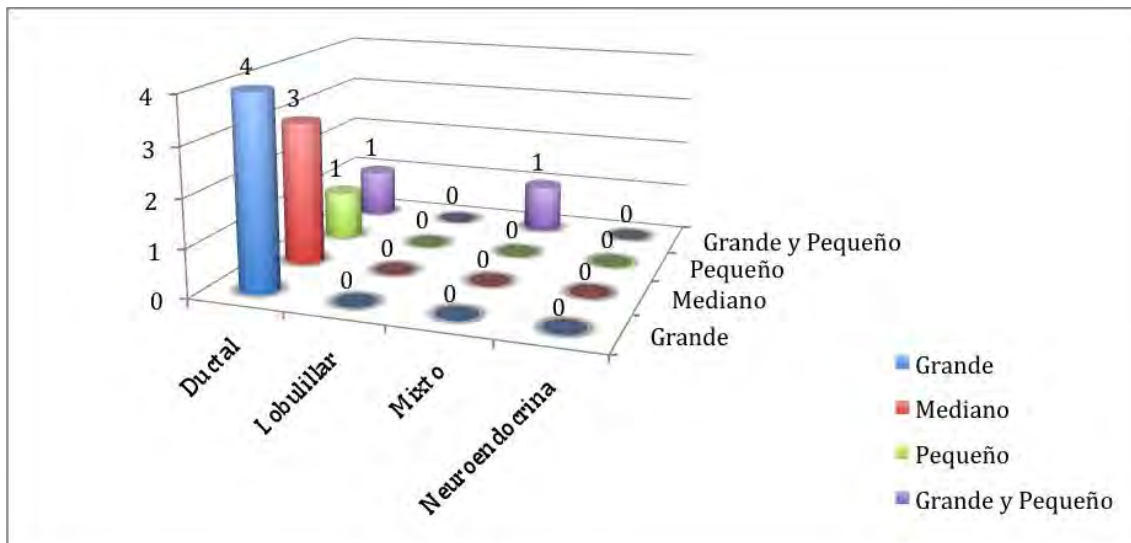
Se comparó el tamaño nuclear de los carcinomas en relación con la diferenciación; hacia ductal, lobulillar o neuroendocrina. Como es de notarse se encontró un caso mixto, es decir, que tenía diferenciación ductal y lobulillar. Se relacionó el tamaño nuclear grande hacia carcinoma ductal y el tamaño nuclear pequeño con carcinoma lobulillar y también con diferenciación neuroendocrina pero no se corroboró con los marcadores inmunohistoquímicas como sinaptofisina y cromogranina, sólo hubo un caso de carcinoma sólido con tamaño nuclear grande y sinaptofisina y cromogranina, positivas; que indica que hay diferenciación ductal por la morfología pero con características neuroendocrinas, en la literatura revisada se ha observado cromogranina negativa para el carcinoma ductal y sólo 1 a 5% de los carcinomas lobulillares presentan cromogranina positiva. ⁶

Se presenta la tabla que relaciona tamaño nuclear y diferenciación; contrario a lo reportado en la literatura, el único caso con tamaño nuclear pequeño que orientaría hacia diferenciación lobulillar, en realidad se trató de un carcinoma ductal, de acuerdo a sus características inmunohistoquímicas principalmente.

Tamaño nuclear en relación a la Diferenciación en los Carcinomas Sólidos

Tamaño nuclear	Ductal	Lobulillar	Mixto	Neuroendocrina
Grande	4	0	0	0
Mediano	3	0	0	0
Pequeño	1	0	0	0
Grande y Pequeño	1	0	1	0

Tamaño nuclear y Diferenciación en los Carcinomas Sólidos

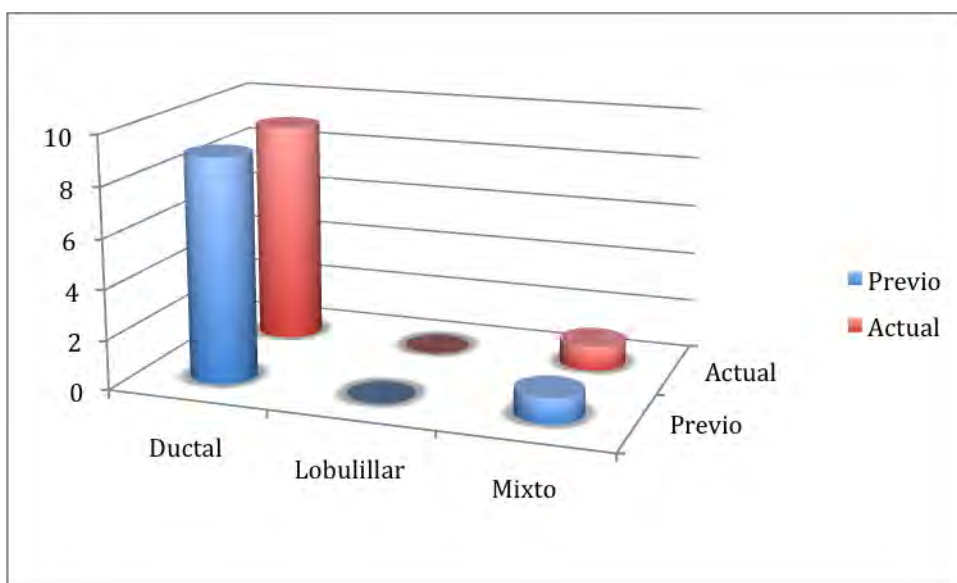


Sólo uno de los casos con doble componente en tamaño nuclear de las células que orientaría hacia una diferenciación mixta, se corroboró como tal, mientras que el segundo caso con doble componente también de tamaño nuclear correspondió en ambos casos en células de tamaño nuclear pequeño y grande a la diferenciación ductal, de acuerdo a sus características inmunohistoquímicas.

Encontramos 70% de coincidencia en el diagnóstico de los carcinomas, con respecto el diagnóstico previo del reporte original del caso, basados solamente en las características histopatológicas con la tinción convencional de hematoxilina y eosina y reclasificados en el trabajo actual, de acuerdo a sus características histológicas, histoquímicas y fundamentando el diagnóstico en las características inmunohistoquímicas principalmente.

A continuación se muestra la tabla y el gráfico de la coincidencia en el diagnóstico de los Carcinomas Sólidos:

Diagnóstico coincidente	Ductal	Lobulillar	Mixto
Previo	9	0	1
Actual	9	0	1



No se diagnosticaron carcinomas lobulillares puros ni antes ni después de la valoración de las características histológicas, histoquímicas e inmunohistoquímicas.

Se coincidió en el diagnóstico de nueve de nueve carcinomas con diferenciación ductal, pero en dos casos, previamente se habían diagnosticado tipo específicos de carcinoma ductal como carcinoma mucinoso y carcinoma medular, en el caso del carcinoma ductal clasificado como medular esperaríamos encontrar triple negativo en la inmunomarcación para receptores de estrógeno, receptores de progesterona y Her2; sin embargo éste último fue

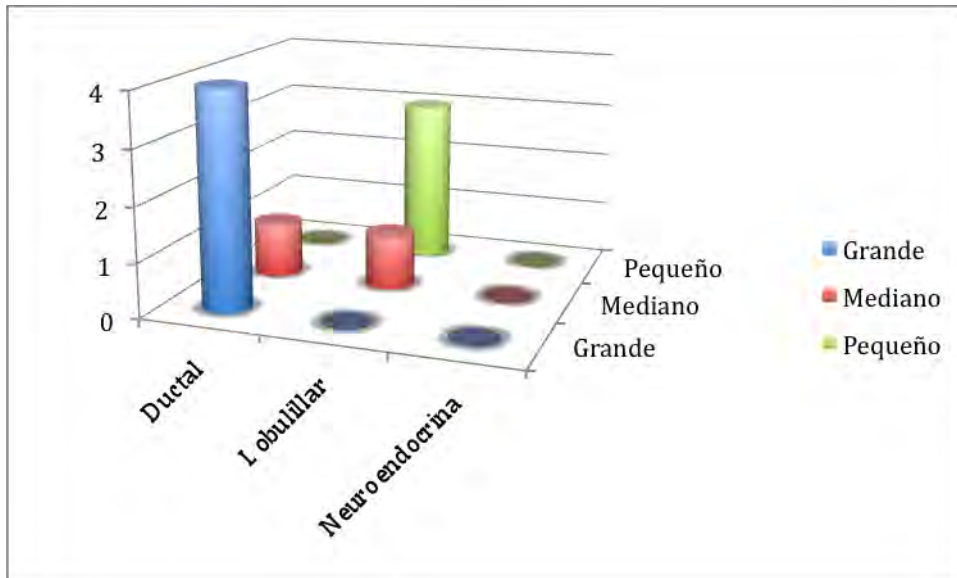
fuertemente positivo valorado como 3+; por lo tanto no se clasificó en este estudio como carcinoma medular, sino como carcinoma ductal NOS (de tipo no específico). El segundo caso de carcinoma ductal clasificado como mixto de componente ductal NOS y mucinoso, previamente en el reporte original del caso, no se reclasificó de igual forma en este estudio debido a que el componente sólido era el predominante y no se encontraron lagos de moco extracelulares que marcarían con las tinciones especiales para mucina utilizadas en este trabajo, tales como PAS con diastasa, azul alciano y mucicarmín, que marcaron negativas; por lo que se clasificó como carcinoma ductal NOS.

El carcinoma mixto diagnosticado no coincidió, debido a que no se trató del mismo caso pues previamente el caso numero 6 de los carcinomas sólidos se había diagnosticado como ductal y lobulillar, nosotros lo reclasificamos únicamente como carcinoma ductal y en nuestro estudio fue el caso número 7 el que por las características histológicas, histoquímicas e inmunohistoquímicas se reclasificó como mixto ya que previamente se había diagnosticado solamente como carcinoma ductal.

Se analizaron también los carcinomas de patrón clásico en relación al tamaño nuclear y a su diferenciación que sólo se registró como carcinoma ductal y carcinoma lobulillar, en estos casos si se mostraron sólo patrones puros y ninguno mixto o con diferenciación neuroendocrina; cuando se analizaron antes de las características histoquímicas e inmunohistoquímicas.

Tamaño nuclear en relación a la Diferenciación en los Carcinomas Clásicos

Tamaño nuclear	Ductal	Lobulillar	Neuroendocrina
Grande	4	0	0
Mediano	1	1	0
Pequeño	0	3	0

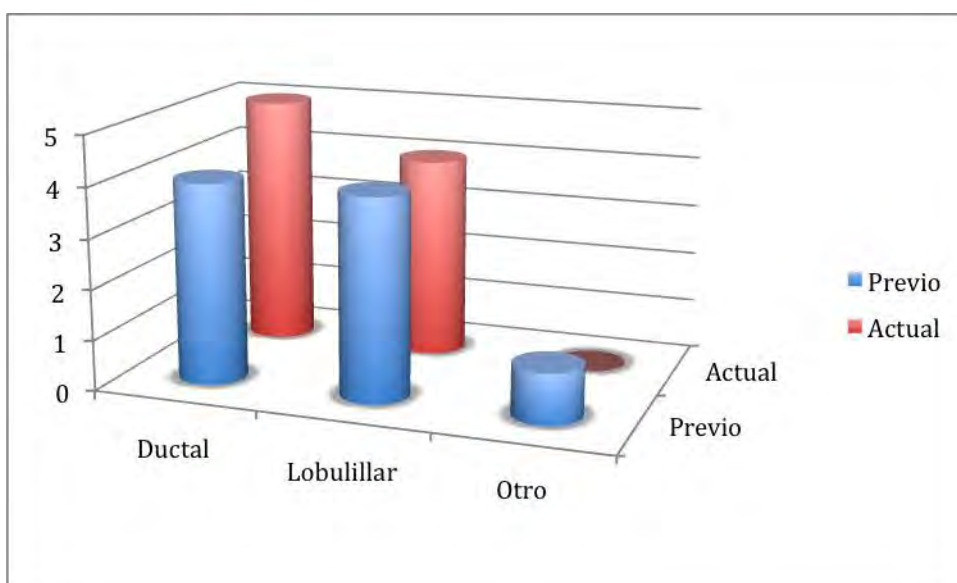


Relación de tamaño nuclear y Diferenciación en Carcinomas Clásicos

En el caso de los carcinomas con patrón histológico clásico identificable con la tinción convencional de hematoxilina y eosina, el tamaño nuclear orientó adecuadamente en los carcinomas ductales ya que el tamaño nuclear evaluado fue mediano sólo en un caso y grande en cuatro de cinco casos con esta diferenciación. Y también de forma adecuada resultó para los carcinomas con patrón clásico lobulillar que fueron tres de cuatro carcinomas con tamaño nuclear pequeño y diferenciación lobulillar; solamente un carcinoma lobulillar correspondió a tamaño nuclear mediano que no está fuera de la regla y que representó minoría como lo reportado en la literatura.

A continuación se muestra la tabla y el gráfico de la coincidencia en el diagnóstico de los Carcinomas Clásicos:

Diagnóstico coincidente	Ductal	Lobulillar	Otro
Previo	4	4	1
Actual	5	4	0



Coincidencia del diagnóstico previo y la reclasificación actual en los Carcinomas Clásicos

En el caso de los Carcinomas Clásicos la coincidencia del diagnóstico fue del 89%, en los que todos los casos de carcinoma lobulillar diagnosticados antes y después de este trabajo fueron los mismos y las características previamente observadas sólo con la tinción de hematoxilina y eosina se corroboraron con las tinciones especiales y las inmunotinciones. Solamente un caso de carcinoma ductal con alto pleomorfismo, fue clasificable previamente y se registra en la columna con el nombre de “otro”, pues se reportó como

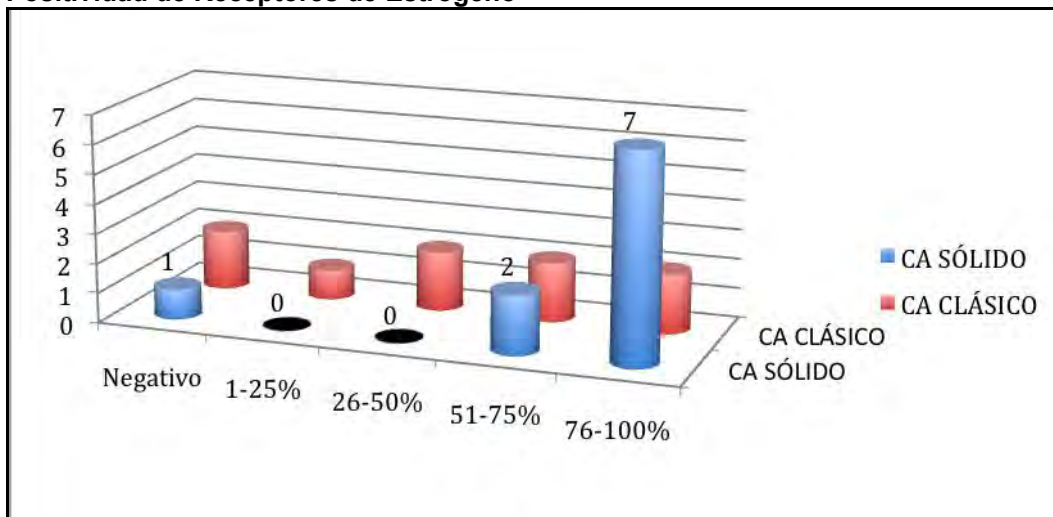
carcinoma poco diferenciado; en nuestro trabajo a partir de las características histológicas con la tinción de hematoxilina y eosina se clasificó como carcinoma ductal y después sus características histoquímicas e inmunohistoquímicas corroboraron nuestro diagnóstico de carcinoma ductal.

En seguida presentaremos las características inmunohistoquímicas de los carcinomas sólidos y de patrón convencional o clásico relacionados con la reclasificación del diagnóstico concluido en este trabajo:

Receptores de Estrógeno en Carcinomas Sólidos y Clásicos

RE	CA SÓLIDO	CA CLÁSICO
Negativo	1	2
1-25%	0	1
26-50%	0	2
51-75%	2	2
76-100%	7	2

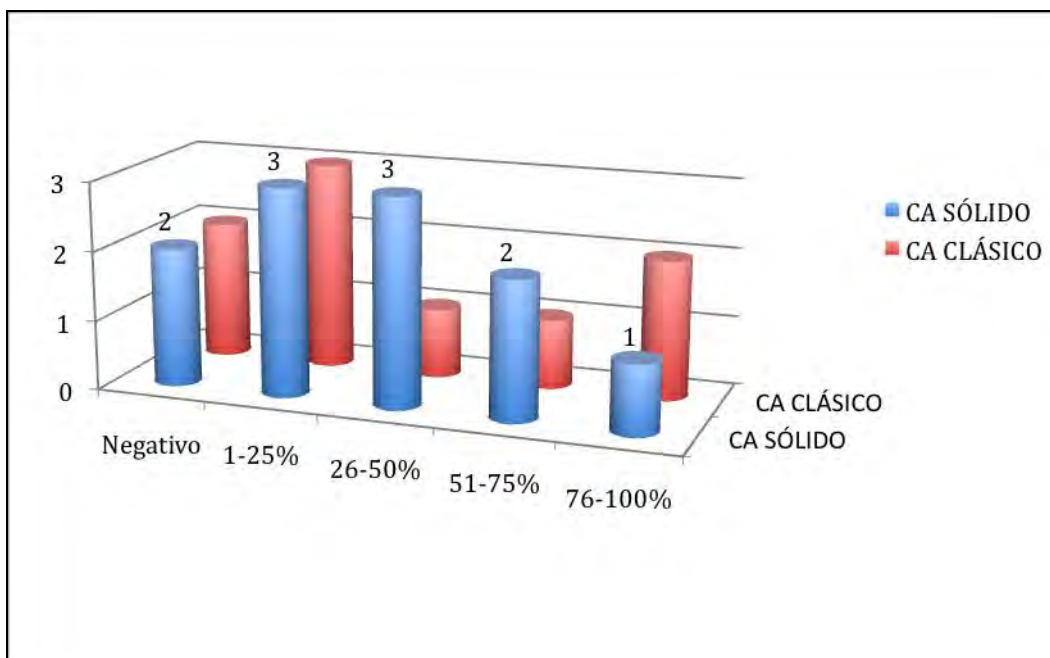
Positividad de Receptores de Estrógeno



Receptores de Progesterona en carcinomas Sólidos y Clásicos

RP	CA SÓLIDO	CA CLÁSICO
Negativo	2	2
1-25%	3	3
26-50%	3	1
51-75%	2	1
76-100%	1	2

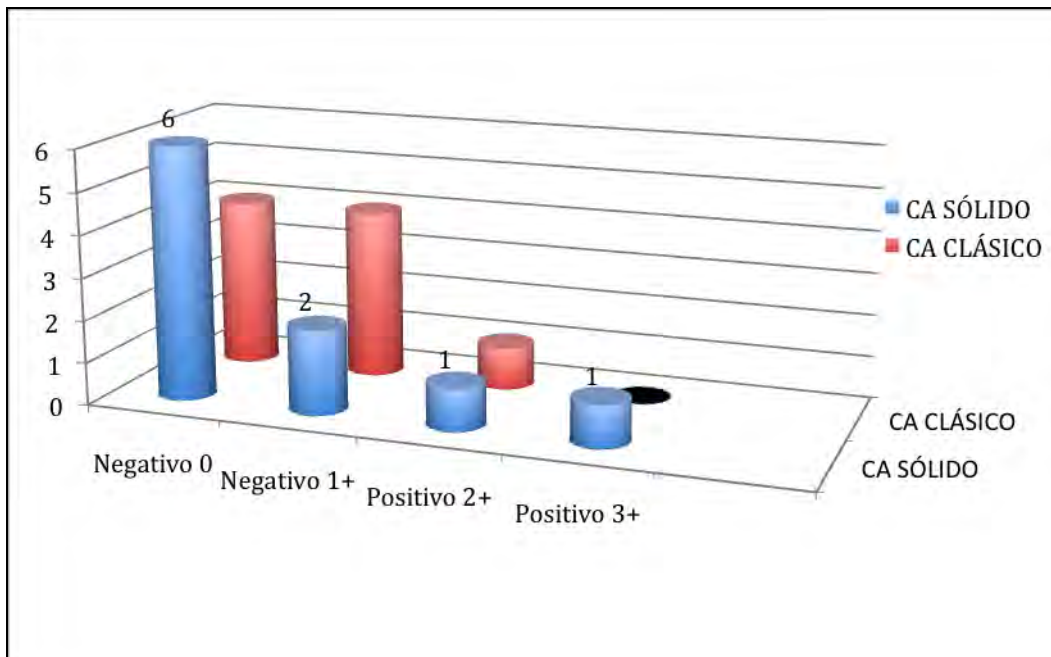
Positividad de Receptores de Progesterona



Sólo un caso de los carcinomas sólidos fue negativo a los receptores de estrógeno y fue clasificado como carcinoma ductal, es este mismo caso que también presentó negatividad para los receptores de progesterona y de éstos últimos también fueron negativos en un segundo caso clasificado como carcinoma sólido mixto (ductal y lobulillar); sin embargo este caso de carcinoma mixto si fue positivo para los receptores de estrógeno (90%).

Relación de los Carcinomas de Mama Sólidos y Clásicos y su expresión de Her2

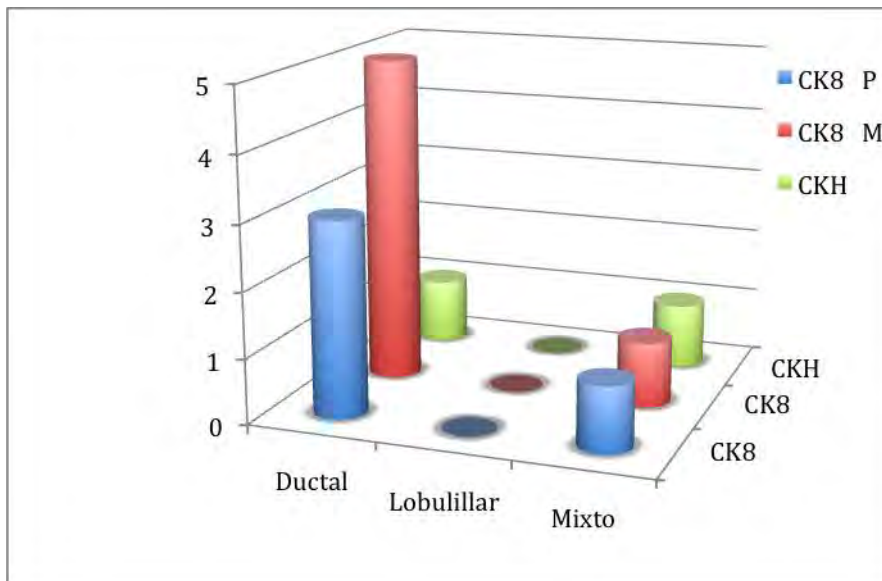
Her2	CA SÓLIDO	CA CLÁSICO
Negativo 0	6	4
Negativo 1+	2	4
Positivo 2+	1	1
Positivo 3+	1	0



La mayoría de los carcinomas fueron negativos para Her2, los casos positivos fueron clasificados como carcinomas sólidos ductales en los tres casos, dos sólidos y uno con patrón clásico.

Relación de los Carcinomas Sólidos con la expresión presentada para CK8 y CKH

Positividad	Ductal	Lobulillar	Mixto
CK8 P	3	0	1
CK8 M	5	0	1
CKH	1	0	1



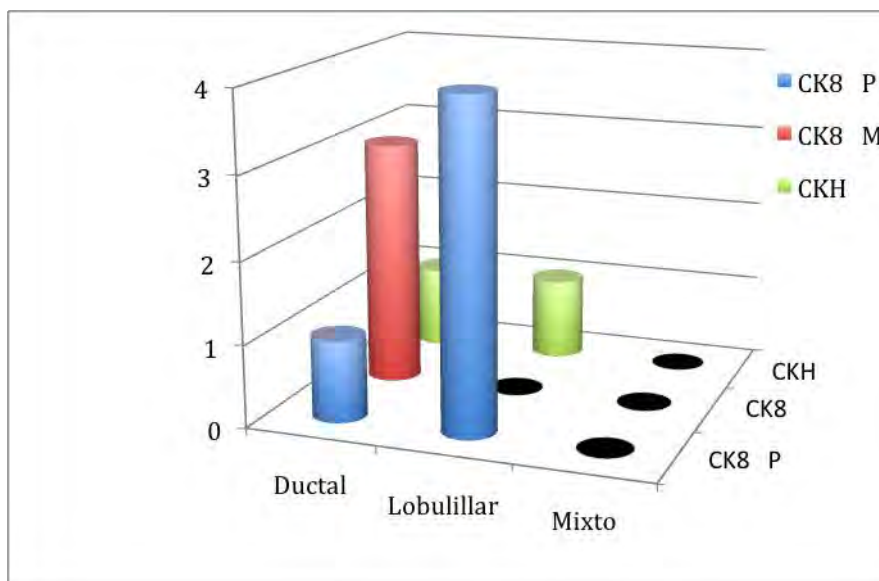
La valoración de la expresión de citoqueratina 8 en los carcinomas sólidos se estableció de acuerdo al patrón de tinción entre las células tumorales: tinción citoplásmica marginal en la diferenciación ductal y tinción tipo anillo perinuclear en la diferenciación lobulillar; de ahí que se halla puesto como referencia una “M” para la tinción citoplásmica marginal y una “P” para la tinción perinuclear característica de los carcinomas con diferenciación lobulillar, por supuesto en combinación con la citoqueratina de alto peso molecular (CKH) y la E-cadherina; sólo conjuntando las tres inmunotinciones podemos concluir en la adecuada clasificación del carcinoma.⁵

La citoqueratina de alto peso molecular (CKH), según la literatura se espera negativa en los carcinomas ductales, sin embargo en este estudio hubo dos casos con CKH positiva, uno clasificado como ductal y el otro clasificado como mixto; en el mixto la positividad se presentó también en el componente con diferenciación ductal.

Es un solo caso de carcinoma sólido mixto con positividad para CK8 en patrón de tinción perinuclear y marginal que correspondía perfectamente a la diferenciación lobulillar y ductal respectivamente, es también en este caso en el único que la E-cadherina resultó negativa, confirmando la diferenciación lobulillar del componente de células pequeñas.

Relación de los Carcinomas Clásicos con la expresión de CK8 y CKH

Positividad	Ductal	Lobulillar	Mixto
CK8 P	1	4	0
CK8 M	3	0	0
CKH	1	1	0



En los carcinomas clásicos no se clasificaron patrones mixtos, sino lobulillares puros y ductales puros. Los cuatro casos de carcinoma con patrón clásico lobulillar puro tuvieron el patrón de tinción descrito en la literatura como perinuclear y se denota con CK8 "P", sólo un carcinoma ductal fue positivo en este patrón de tinción, los otros tres carcinomas ductales tuvieron el patrón de tinción esperado y descrito como citoplásmico marginal, es por eso que se asignan como CK8 "M". Un caso de carcinoma ductal resultó negativo para CK8. Por ello, en esta tabla sólo se muestran los casos positivos. De igual manera para la inmunotinción de CKH, en la que sólo resultaron positivos dos casos de carcinoma clásico, lo esperado, un caso de carcinoma lobulillar y contrario a lo reportado en la literatura un caso de carcinoma ductal también resultó positivo; el resto de los casos de carcinoma clásico resultaron negativos y no se incluyen en la tabla.⁶

Los marcadores de inmunohistoquímica para células mioepiteliales fueron Actina específica de músculo liso (AEM), Calponina y p63. Consideramos para fines de este estudio que el mejor marcador para células mioepiteliales fue p63 debido a que este marcador en conjunto con la calponina se encontraron positivos en zonas de carcinoma in situ y sólo el *p63* se encontró *negativo* en todos los casos de carcinoma sólido o clásico *infiltrante*. La calponina y la *Actina específica de músculo liso* resultaron *fuertemente positivas* en el estroma entre las células neoplásicas de las *zonas de infiltración evidente* y negativas o con positividad débil en las zonas de carcinoma in situ o microinvasor, mostrando un patrón de expresión, al parecer, sólo en el estroma nuevo recién formado por las células neoplásicas que infiltran.

Discusión

La distinción entre carcinoma lobulillar in situ (CLIS) y carcinoma ductal in situ (CDIS) ha sido relativamente sencilla desde la descripción que hicieron los doctores Frank W. Foote y Fred W. Stewart en 1941. Los carcinomas de bajo grado in situ que crecen en sábanas poco cohesivas se clasificaron como lobulillares y aquellos que formaban glándulas o que mostraban pleomorfismo nuclear o necrosis como ductales. La experiencia subsecuente reveló que hay dos limitaciones para este enfoque. Primero, el análisis de ciertas características morfológicas clásicas tales como pleomorfismo y, en menor grado, el tamaño celular es subjetivo, y esta subjetividad hace difícil aplicar y reproducir estos criterios. Segundo, se ha aclarado que cada forma de carcinoma puede mostrar hallazgos más característicos que otros. Por ejemplo, CLIS puede mostrar pleomorfismo o necrosis; ciertos carcinomas ductales in situ no tienen formación de glándulas, pleomorfismo o necrosis; y en casos ocasionales de carcinomas in situ hay una mezcla de características ductales y lobulillares. Como resultado, la **clasificación de carcinomas sólidos** in situ ha llegado a ser compleja¹⁷.

El enfoque a esta tarea puede ser mejor comprendido por separado considerando las siguientes características:

- 1.- Patrón de compromiso
- 2.- Relación célula-célula
- 3.- Características citoplásmicas
- 4.- Características nucleares

5.- Necrosis

6.- Inmunohistoquímica

7.- Casos híbridos (indeterminados) y combinados

Patrón de compromiso

Las estructuras redondas y grandes, falta de organización, arreglo de tipo nidos de ácinos y conductillos terminales conectados identificables, son interpretados como conductos. Son frecuentes en la residencia de un carcinoma in situ con patrones de crecimiento cribiforme, micropapilar y sólido, convencionalmente clasificados como CDIS. Los lobulillos mamarios con ácinos organizados cercanamente, conductos terminales y estroma especializado, es el asiento del CLIS clásico, y a pesar de la expansión acinar provocada por el CLIS, uno puede reconocer esta unidad anatómica básica a bajo aumento. Aunque estos patrones apoyan el diagnóstico en muchos de los casos, las excepciones a esta distribución topográfica ocurren con frecuencia para ambas formas de carcinoma in situ y los cambios preexistentes pueden oscurecer la anatomía que esta detrás.

El CDIS puede afectar los lobulillos mamarios preservando su forma, un fenómeno conocido como “cancerización” de los lobulillos y el CLIS frecuentemente se extiende dentro de los conductos. El compromiso ductal por el CLIS puede tomar la forma de cualquiera de los dos crecimientos sólidos, en el cual las células llenan los conductos completamente o por extensión pagetoide, en la que las células neoplásicas crecen en nidos con células sueltas por debajo del epitelio ductal. Este patrón es una fuente de gran dificultad diagnóstica ya que semeja la apariencia de un CDIS sólido. La

extensión pagetoide es infrecuente en el CDIS pero puede observarse ocasionalmente^{17,3,19}.

Relación célula-célula

La presencia de células con atributos citológicos clásicos de CLIS o luces intracitoplásmicas, patrón pagetoide de extensión o coexistencia de carcinoma lobular invasor permite clasificar un carcinoma sólido in situ ambiguo como carcinoma lobular in situ. De la misma manera, la presencia de formas convencionales de CDIS (p. ej. Micropapilar o cribiforme) favorecerá el diagnóstico de carcinoma ductal in situ. Se debe recordar, sin embargo, que el CLIS puede coexistir con alguna forma de CDIS, incluyendo carcinoma papilar. En casos poco comunes la relación célula-célula no proveerá información diagnóstica debido a que las células no muestran ninguna de las dos, apariencia “despeinada” no cohesiva y bordes celulares pobremente definidos (CLIS) o disposición cercana de las células que resalta los bordes nítidos de las membranas celulares (CDIS). Se requiere la evaluación de características citológicas e inmunohistoquímicas para establecer el diagnóstico en esta situación.

Características citoplásmicas

La presencia de luces intracitoplásmicas que contienen mucina teñible se observa mas frecuentemente en el CLIS que en el CDIS. La manifestación extrema de este fenómeno es la existencia de células en anillo de sello en el carcinoma lobular in situ. Las inclusiones en tiro al blanco tienen menos valor y no son raras en el CDIS. El citoplasma claro, acompañado de las membranas celulares nítidamente definidas, es una característica que favorece el

diagnóstico de CDIS, la excepción en contra llega a ser el “patrón en mosaico” del CLIS.

Características nucleares

Los núcleos del carcinoma lobular son definidos clásicamente como pequeños, redondos a ovoides, monomórficas y generalmente desprovisto de nucleolo las lesiones con estas características se conocen como CLIS tipo A. Por otro lado, el CLIS tipo B muestra algo de pleomorfismo nuclear y nucleolo. Esencialmente las mismas características se pueden encontrar en todas las formas de CDIS así que las características nucleares no pueden distinguir entre estas dos lesiones. La separación de CDIS de CLIS puede hacerse con las características auxiliares del CLIS pleomorfo tales como la apariencia no cohesiva de las células tumorales, presencia de células en anillo de sello, relación núcleo:citoplasma elevada, extensión pagetoide y asociación con más formas de CLIS convencional.

Necrosis

Tanto el grado nuclear alto como la necrosis se habían considerado como característica exclusiva del CDIS. Sin embargo, se ha aclarado que aquellos casos con características típicas de carcinoma lobular pueden mostrar necrosis central y calcificación. La necrosis en el CLIS no es tan extensa como la observada en el CDIS de alto grado de tipo comedo; generalmente afecta menos del 50% de la sección intraluminal de un conducto o lobulillo. La necrosis se presenta en ambas formas de CLIS convencional y pleomórfico. La necrosis completa de las células del carcinoma dentro de un conducto dado, como se ve en el CDIS de alto grado, no se observa en el CLIS^{3,17}.

Características inmunohistoquímicas

La clasificación del carcinoma mamario se basa tradicionalmente en el fenotipo histológico del tumor; ductal o lobulillar de acuerdo a ciertas características morfológicas distintivas a la inspección microscópica. La inmunohistoquímica tiene un papel cada vez mas importante en el diagnóstico y tratamiento del carcinoma mamario. Una lista larga y creciente de anticuerpos disponibles, mejoramiento de las técnicas de recuperación de antígenos y una mejor comprensión de la biología han contribuido a la utilidad mas amplia de la inmunohistoquímica para resolver problemas diagnósticos de la práctica diaria en la patología mamaria¹⁹.

Carcinoma ductal versus lobulillar

Aunque ambos carcinomas se originan en la unidad ducto-lobulillar terminal, caracterizar el proceso neoplásico como uno u otro tiene implicaciones clínicas importantes. Esto es lo más importante para carcinoma in situ debido a que el tratamiento actual difiere para los dos fenotipos principales. Debido a que el CDIS se piensa como un precursor no obligado, pero directo, de carcinoma invasor, su erradicación por cirugía y/o radioterapia es la meta terapéutica. La evidencia esta aumentando para apoyar que el carcinoma lobulillar in situ es también un precursor no obligado, directo del carcinoma invasor pero todavía hay duda. Debido a su significado todavía ambiguo, el CLIS en una biopsia por punción no necesariamente supone una biopsia excisional de tal sitio. Se recomienda el seguimiento cercano y la quimioprevención con tamoxifén para algunas pacientes.

En contraste al carcinoma in situ, el carcinoma invasor ductal y lobulillar se tratan de la misma manera, basados en el estadio y perfil del factor predictivo. Como la presentación clínica y patrón de extensión de la enfermedad puede diferir entre carcinoma lobulillar y ductal, conociendo el subtipo histológico se puede ayudar al clínico a detectar el mejor tratamiento de la enfermedad.

La mayoría de los carcinomas lobulillares o ductales, in situ o invasores, son relativamente fáciles de distinguir en cortes teñidos con hematoxilina y eosina, particularmente si es una muestra adecuada. Sin embargo, en los casos con características morfológicas intermedias o ambiguas, la inmunohistoquímica puede permitir la categorización. Los ejemplos incluyen carcinoma in situ sólido de bajo grado, particularmente cuando se identifican en biopsia por punción o carcinomas invasivos de alto grado en los cuales el carcinoma lobulillar pleomorfo es una consideración.

E-cadherina es una proteína de cohesión celular codificada por un gene en el cromosoma 16q22.1, es el **marcador actual de elección** para discriminar entre carcinoma ductal y lobulillar. E-cadherina es un miembro de una familia de glicoproteínas transmembrana responsables del mecanismo de adhesión célula-célula dependiente de Ca^{2++} y se ha demostrado que participa en la organogénesis y morfogénesis. En células epiteliales, E-cadherina se considera una de las moléculas clave para la formación de complejos de unión intercelular y para establecimiento de la polarización celular. La expresión de número reducido de moléculas de E-cadherina funcionalmente activas se ha observado en tumores agresivos de esófago, ovario y estómago, y la expresión disminuida de E-cadherina se piensa está asociada con la invasividad de las células tumorales³.

Hay factores de motilidad celular, tales como el factor disperso y el factor ácido de crecimiento de fibroblastos, que inducen invasión de diversas líneas celulares epiteliales in vitro sin cambiar la expresión de E-cadherina que se ha descrito. Tales factores pueden promover invasión de los carcinomas ductales con alta expresión de E-cadherina. De forma alternativa, la alteración del sistema de adhesión celular de la cadherina sin pérdida de cadherina puede ocurrir como resultado de pérdida de la función de catenina, por ejemplo, como consecuencia de la fosforilación de sus residuos de tirosina. La evidencia sugiere que de hecho una amplia variedad de tirosinas cinasa conducen alteración del sistema de cadherina, posiblemente a través de la fosforilación de proteínas asociadas a cadherina³.

La expresión de E-cadherina está reducida en un 50% de carcinomas mamarios en asociación con alto grado histológico, metástasis ganglionares y pérdida de receptores de estrógeno y progesterona. Sin embargo no todos los estudios concuerdan en estos hallazgos. Se ha observado pérdida completa de expresión en el carcinoma lobulillar invasor y CLIS. Se mostró que las mutaciones del gene de la E-cadherina y la pérdida de los alelos tipo-*wild* por pérdida de la heterocigocidad es el mecanismo predominante por el cual la expresión de la proteína E-cadherina frecuentemente está perdida en el carcinoma lobulillar, indicando que la E-cadherina actúa como un gene supresor de tumor clásico. Se reportaron recientemente mutaciones de línea germinal de E-cadherina en el carcinoma lobulillar de mama y gástrico, señalando la importancia de las mutaciones de E-cadherina en la tumorigénesis. Así que la evidencia muestra que la E-cadherina está asociada específicamente con el fenotipo lobulillar del carcinoma de mama, y la

inactivación de la E-cadherina puede tener un papel crucial en el patrón de crecimiento discohesivo y disperso en el carcinoma lobulillar in situ e invasor. Geza y col. reportaron la sensibilidad y especificidad de la falta completa (score de 0 en un score medido de 0 a 300 como máximo) de la expresión de membrana de E-cadherina para predecir el fenotipo lobulillar en carcinomas invasivos e in situ fueron del 97.6% y 96.0% y 94.3% y 97.7% respectivamente. La sensibilidad y especificidad de alguna tinción de membrana positiva para predecir el fenotipo ductal en carcinomas in situ e invasivos fueron de 96.0% y 97.6% y 97.7% 94.3%, respectivamente. La sensibilidad y especificidad de la falta de expresión de E-cadherina (score de 50 o menos) para predecir el fenotipo lobular en el carcinoma in situ o invasivo fueron de 97.6% y 99% y 100% y 98.5%, respectivamente. En este caso, la sensibilidad y especificidad de la tinción de membrana positiva (score de 50 o más) para predecir el fenotipo ductal en el carcinoma invasivo o in situ fueron 99.0% y 97.6% y 98.5% y 100%, respectivamente³.

Casos combinados e híbridos

Existen verdaderos casos de carcinoma mixto: ductal y lobulillar. De forma alternativa, desde la pérdida de heterocigosidad y otras alteraciones del cromosoma 16q son frecuentes las aberraciones en los carcinomas ductales, también es posible que la pérdida de expresión de E-cadherina debida a la pérdida del cromosoma 16q o a la mutación del gene de la E-cadherina puede ser secundaria a un evento azaroso en la evolución de los carcinomas ductales y por lo tanto, difícil de detectar; hasta ahora, no se ha demostrado ninguna mutación de E-cadherina en los carcinomas ductales. Por otro lado, se demostró la *down-regulation* (regulación hacia la baja) de la expresión de E-

cadherina en experimentos *in vivo*. Puede ocurrir *down-regulation* reversible de E-cadherina por hipermetilación de la región promotora de E-cadherina. La reversibilidad de la *down-regulation* de la expresión de E-cadherina en los carcinomas ductales también se ha demostrado por el hallazgo de que la actividad supresora de invasión de E-cadherina se puede restablecer por tratamiento de las células tumorales con el antiestrógeno tamoxifén. Se demostró que en el desarrollo del carcinoma lobulillar de mama. La mutación del gene de la E-cadherina ocurre en un estadio muy temprano y se encuentra ya presente tanto en el CLIS sin invasión y en el CLIS adyacente a un componente invasivo como en el carcinoma lobulillar invasor. La falta común de E-cadherina es una característica distintiva de CLIS y carcinoma lobulillar invasor que apoya la hipótesis que los dos están cercanamente relacionados y constituyen una entidad tumoral distinta y sugiere que, el carcinoma lobulillar in situ puede, de hecho, representar una lesión precancerosa verdadera. Nunca se ha observado pérdida completa de la expresión de E-cadherina en el carcinoma ductal in situ y no se han detectado mutaciones inactivadas del gene de la E-cadherina en los carcinomas ductales, indicando diferentes vías genéticas para el desarrollo de CLIS y CDIS y dando evidencia más clara de la diferencia molecular entre los dos tipos histológicos principales del carcinoma de mama³.

Existe una correlación fuerte entre el fenotipo histológico de los carcinomas mamarios y la expresión de membrana de E-cadherina por las células tumorales. Estos hallazgos apoyan el papel significativo de la E-cadherina en la morfogénesis de los carcinomas mamarios. En los tumores con características ambiguas la detección inmunohistoquímica de E-cadherina se puede usar

como una herramienta diagnóstica útil en la diferenciación ductal y lobulillar de los carcinomas de mama.

Los tumores que muestran pérdida completa de tinción de membrana de E-cadherina probablemente representan carcinomas lobulillares, mientras que los tumores con expresión de E-cadherina de membrana difusa demostrable más probablemente representan carcinomas ductales.

La unidad ducto-tubular terminal es el origen de dos variantes de neoplasia intraepitelial tradicionalmente separadas dentro de tipos ductal y lobulillar basados en una combinación de características citológicas y arquitecturales. En general, la distinción entre neoplasia intraepitelial lobulillar (NIL) completamente desarrollada o clásica de neoplasia intraepitelial ductal (NID) de varios grados no es un problema. Sin embargo, la variante sólida del carcinoma ductal in situ de bajo grado que simula bien una neoplasia intraepitelial lobulillar puede ser un problema frecuente de confusión diagnóstica. Un número creciente de lesiones que parecen tener características intermedias o que sobreponen características ductales y lobulillares son el motivo de consultas a expertos debido diferentes implicaciones clínicas del los dos diagnósticos. Bratthauer y col. han llamado a estas lesiones neoplasia intraepitelial mamaria (NIM).

La variante sólida de NID 1c y la NIM podrían dar una explicación para la observación de que el 50% de los carcinomas que se desarrollan después de un diagnóstico de neoplasia intraepitelial lobulillar son de naturaleza ductal. Es concebible que algunas lesiones inicialmente diagnosticadas como NIL fueran

ductales desde el comienzo pero con un patrón de crecimiento sólido simulaban y fueron mal interpretadas como, neoplasia intraepitelial lobulillar.

También es posible que las lesiones con características sobrepuestas pueden reflejar una lesión post-célula madre inmediata capaz de producir progresión a cualquier dirección (ductal o lobulillar). El estudio y distinción de estas lesiones es esencial, ya que podrían ayudarnos con misterios no resueltos asociados con neoplasia intraepitelial lobulillar y su progresión. De forma más trascendental, podría impactar en el tratamiento de la paciente.

Se mostró que la molécula de adhesión celular E-cadherina esta típicamente ausente en las células de neoplasia intraepitelial lobulillar. De forma contraria, la E-cadherina esta presente en la mayoría de las neoplasias intraepiteliales ductales. El reconocimiento de la ausencia de inmunorreacción para E-cadherina en neoplasia intraepitelial lobulillar nos ayuda a evaluar lesiones que fueron difíciles de distinguir de la NID de tipo sólido.

Conclusiones

El sitio anatómico de compromiso o afección no es suficiente ni necesario para clasificar el carcinoma in situ sólido^{1,17}; por lo tanto se deben priorizar las características arquitecturales, citológicas e inmunohistoquímicas. Sin embargo, únicamente las características inmunohistoquímicas han probado ser de utilidad en la distinción de estos dos tipos de carcinoma^{5,6,11,18}.

En este trabajo se estudió el tamaño del núcleo en relación a la diferenciación ductal o lobulillar en los *carcinomas sólidos*, encontramos que el tamaño del núcleo grande nos orienta hacia la diferenciación ductal como también se ha visto en la literatura y el tamaño nuclear pequeño nos orienta hacia diferenciación ductal^{1,15}, sin embargo relacionando morfología (tamaño nuclear) y características inmunohistoquímicas encontramos que en un caso de carcinoma sólido con tamaño nuclear grande hubo fuerte positividad de los marcadores neuroendocrinos sinaptofisina y cromogranina, que nos muestra que no siempre están acorde la morfología y las características inmunohistoquímicas^{3,8,20} que para nuestro trabajo representó el 11.1% de los casos de carcinoma sólido. En nuestro estudio no se realizó el análisis estadístico de los casos, debido, primero a que el número de casos problema es muy reducido y requiere ampliarse y segundo, debido a que este trabajo es un informe preliminar de una serie de casos que se ampliará en forma prospectiva.

Existe una correlación fuerte entre el fenotipo histológico de los carcinomas mamarios y la expresión de membrana de E-cadherina por las células tumorales^{4,7,8,21}. Estos hallazgos apoyan el papel significativo de la E-cadherina

en la morfogénesis de los carcinomas mamarios^{3,8}. En los tumores con características ambiguas, por ejemplo el carcinoma de tipo histológico sólido, la detección inmunohistoquímica de E-cadherina se puede usar como una herramienta diagnóstica útil en la diferenciación ductal y lobulillar de los carcinomas de mama^{15,17-19}. Así, en la comparación que nosotros realizamos encontramos que el 100% de los carcinomas sólidos fueron positivos para E-Cadherina la mitad de ellos lo fueron débilmente. De los dos casos clasificados como carcinomas mixtos, uno de ellos en el componente de células con núcleo pequeño fue negativo a E-Cadherina. Por lo que en los casos de carcinomas sólidos se mantiene cierta cohesividad celular con excepción del carcinoma que por hallazgos histológicos orientaba más hacia diferenciación lobulillar.

En cuanto a los marcadores inmunohistoquímicos para receptores de estrógeno y progesterona^{16,18,20}, 80% de los carcinomas sólidos mostraron positividad a ambos con mayor porcentaje de núcleos positivos que en los carcinomas clásicos, los cuales también mostraron positividad a estos marcadores hormonales en el 77.7% de los casos. Lo que nos hace ver que no son útiles para distinguir la diferenciación de los carcinomas sólidos. Sin embargo representan marcadores trascendentales para dirigir el tratamiento de la paciente si se confirma su positividad¹⁷⁻²⁰. De manera similar ocurre con el marcador Her-2^{13,16,19}, el cual en nuestro estudio resultó negativo en el 89% de los casos de carcinoma clásico y en el 80% del carcinoma sólido. El porcentaje restante en ambos grupos que resultó Her-2 positivo se clasificó como carcinoma ductal lo cual es coincidente con la literatura y como se ha mencionado antes con un pronóstico malo para la paciente^{13,18}, pero para fines de diferenciación en el carcinoma sólido es menos útil.

La expresión de CK8 y CKH en los carcinomas sólidos apoyó la diferenciación ductal en el 100% de los casos pues como se esperaba CKH resultó negativa en la diferenciación ductal en el 90% de los casos y la CK8 con su tinción característica perinuclear ayudó a identificar la diferenciación lobulillar en estos carcinomas con patrón histológico de tipo sólido^{4,5}. Se hace hincapié en que la tinción de CK8 resulta positiva en ambos casos de diferenciación, tanto ductal como lobulillar, pero la importancia radica en el patrón de tinción que es tinción citoplásmica en la diferenciación ductal y tinción tipo anillo perinuclear en la diferenciación lobulillar⁵. Solamente conjuntando las tres inmunotinciones, como son: CKH, CK8 y ECAD, podemos concluir en la clasificación adecuada del carcinoma que se presenta sólido histológicamente¹⁷⁻¹⁹.

En nuestro trabajo clasificamos 80% de los carcinomas sólidos como carcinomas con diferenciación ductal y 20% de los casos se clasificaron como mixtos, de los cuales sólo la mitad mostraron las características inmunohistoquímicas y morfológicas esperadas para cada componente (ductal y lobulillar) y en el resto hubo una combinación de éstas. Por lo que encontramos que sí es posible realizar la clasificación adecuada de los carcinomas sólidos con ayuda además, del recurso con el que ahora contamos como es la inmunohistoquímica^{11,14,19} y que de esta manera podemos especificar nuestro diagnóstico para cada carcinoma lo que contribuirá en el tratamiento y pronóstico y de esta forma en la calidad de vida de la paciente con carcinoma de la glándula mamaria con patrón histológico sólido. De manera que encontramos que en las biopsias de carcinoma de mama con patrón histológico sólido, la expresión de inmunomarcadores E-cadherina y Citoqueratina 8 mostraron inmunorreacción en mayor proporción que en los

carcinomas con patrones histológicos distinguibles o llamados aquí clásicos, de esta forma estos marcadores contribuyeron notablemente a identificar su diferenciación hacia carcinoma ductal o lobulillar^{13,16,20}, siempre tomando en consideración las características histológicas e histoquímicas en cada caso.

La inmunotinción para cromogranina en nuestros casos de carcinoma sólido sólo se mostró positiva en el 20% de ellos y el resto presentaban reacción negativa o positividad en núcleo débil, por lo que se consideraron negativos. Los casos que fueron positivos a cromogranina, fueron clasificados. Por el resto de sus características, como carcinomas ductales que sin embargo mostraban también diferenciación neuroendocrina, a pesar de que los reportes en la literatura son que la inmunotinción de la cromogranina es negativa para el carcinoma ductal y sólo hasta el 5% de los carcinomas lobulillares pueden mostrar reacción positiva con cromogranina^{1,6,10}.

Solamente la valoración conjunta de las características histológicas e inmunohistoquímicas con los marcadores de E-cadherina, CKH y CK8 fundamentan la correcta clasificación de los carcinomas sólidos, que en su gran parte corresponden a la diferenciación ductal pero pueden representar retos diagnósticos en el caso de características morfológicas mixtas.

Si amerita elegir solamente un marcador de inmunohistoquímica para la adecuada clasificación del carcinoma por cualquier causa, con lo realizado en este trabajo sugerimos el empleo prioritario de E-cadherina que es el marcador que se ha reportado negativo en el 100% de la diferenciación lobulillar^{3,8,15,21}. Las características morfológicas observadas son importantes para orientar la

diferenciación lobulillar y el apoyo con la E-cadherina corrobora mejor la clasificación del carcinoma que presenta patrón histológico de tipo sólido.

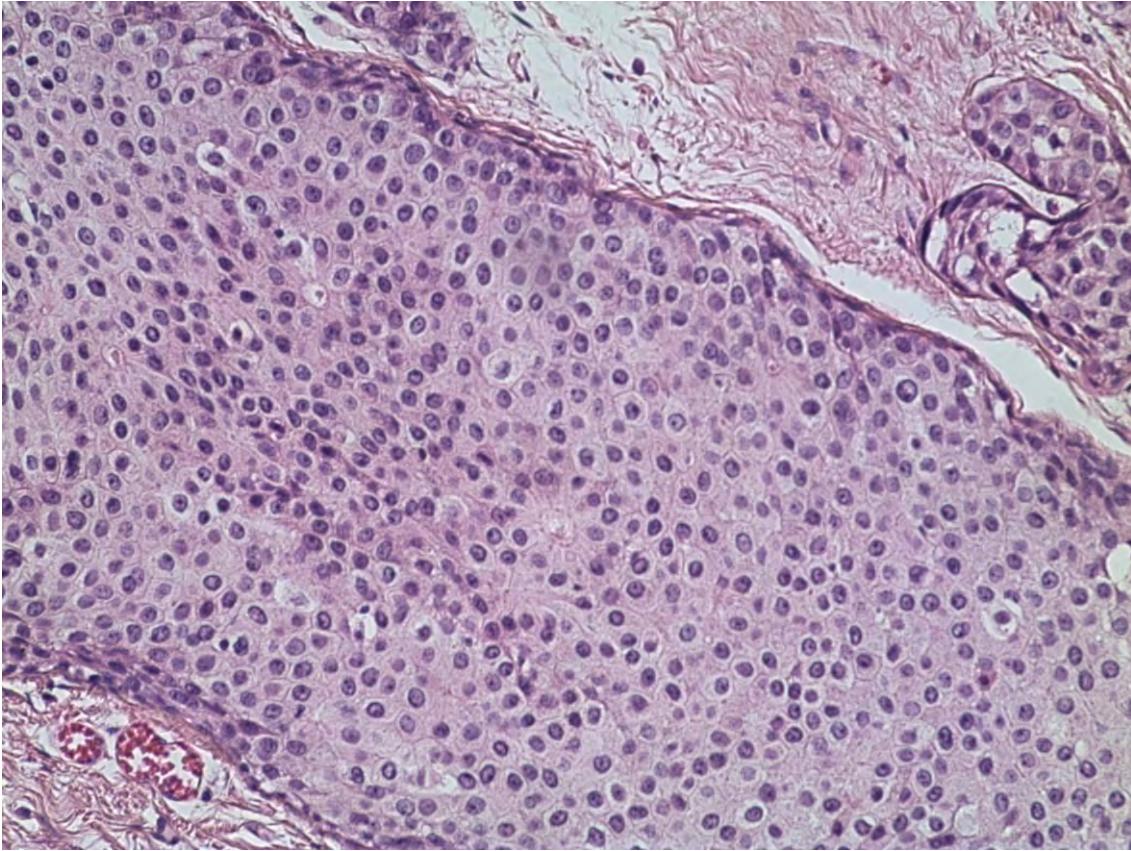
Referencias bibliográficas

1. Rosai J. Rosai and Ackerman's Surgical pathology. Ninth edition. Vol II. Elsevier Edit. 2004.
2. Cotran R, Kumar V, Collins T. Robbins Patología estructural y funcional. 6ta edición. 2006. McGraw Hill Interamericana.
3. Acs G, Lawton T, Rebbeck T, LiVolsi V, Zhang P. Differential expression of E-cadherin in lobular and ductal neoplasms of the breast and its biologic and diagnostic implications. *Am J Clin Pathol* 2001;115:85-98.
4. Bratthauer GL, Moinfar F, Stamatakis MD, Mezzetti TP. Combined E-cadherin and high molecular weight cytokeratin immunoprofile differentiates lobular, ductal and hybrid mammary intraepithelial neoplasias. *Hum Pathol* 2002, 33:620-627.
5. Lehr HA, Folpe A, Yaziji H. Cytokeratin 8 immunostaining pattern and E-cadherin expression distinguish lobular from ductal breast carcinoma. *Am J Clin Pathol* 2000;114:190-6.
6. Radhi JM. Immunohistochemical analysis of pleomorphic lobular carcinoma: higher expression of p53 and chromogranin and lower expression of ER and PgR. *Histopathology* 2000;36:156-160.
7. Palacios J, Sarrió D, García-Macías M, Bryant B. Frequent E-cadherin gene inactivation by loss of heterozygosity in pleomorphic lobular carcinoma of the breast. *Mod Pathol* 2003;16:674-78.

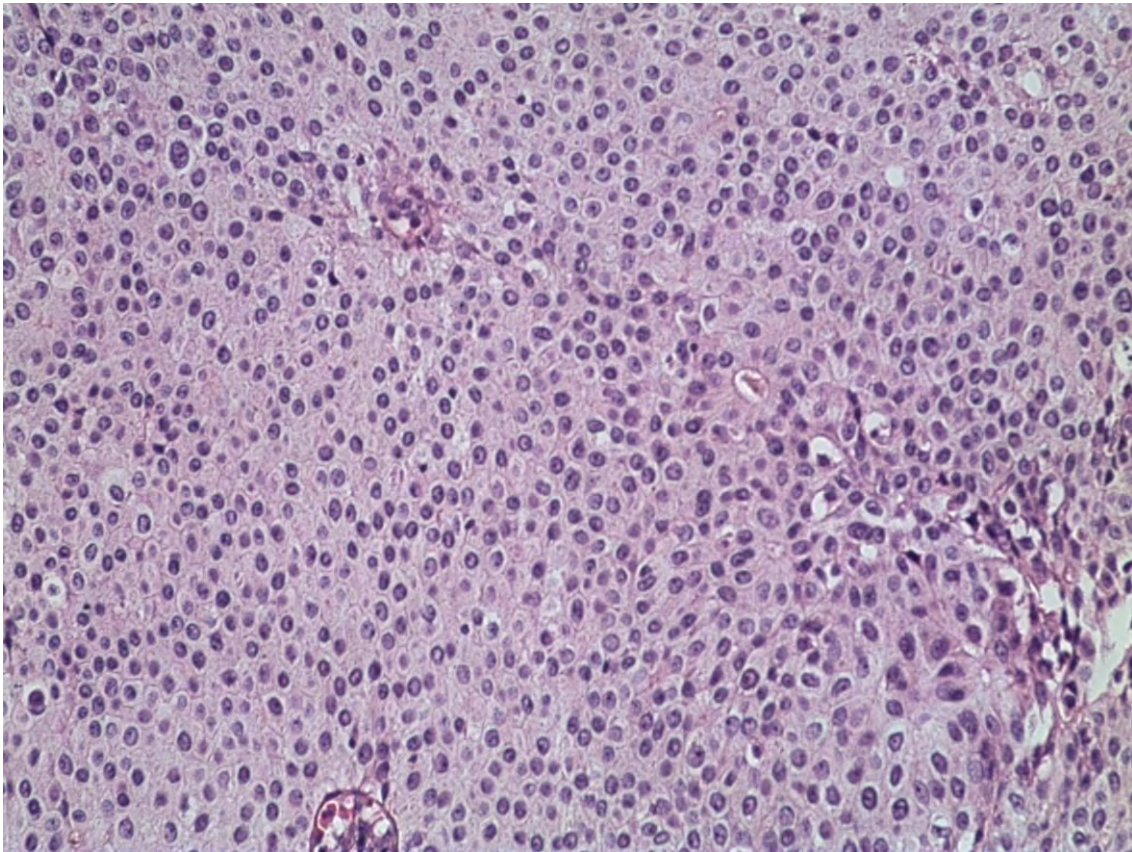
8. Wahed A, Connelly J, Reese T. E-cadherine expression in pleomorphic lobular carcinoma: an aid to differentiation from ductal carcinoma. *Ann Diagn Pathol* 2002;6:349-351.
9. Matsukita S, Nomoto M, Kitajima S, Tanaka S. Expression of mucins (MUC1, MUC2, MUC5AC y MUC6) in mucinous carcinoma of the breast: comparison with invasive ductal carcinoma. *Histopathology* 2003;42:26-36.
10. Makretsov N, Gilks B, Coldman A. Tissue microarray analysis of neuroendocrine differentiation and its prognostic significance in breast cancer. *Hum Pathol* 2003;34:1001-8
11. Agoff N, Swanson P, Linden H, Hawes S. Androgen receptor expression in estrogen receptor-negative breast cancer. Immunohistochemical, clinical, and prognostic associations. *Am J Clin Pathol* 2003;120:725-731.
12. Lester S. *Manual of Surgical Pathology*. 2nd edition. 2006. Elsevier edit.
13. Xu R, Feiner H, Li P, Yee H. Differential amplification and overexpression of Her-2/neu, p53, MIB1, and estrogen receptor/progesterone receptor among medullary carcinoma, atypical medullary carcinoma, and high-grade invasive ductal carcinoma of breast. *Arch Pathol Lab Med* 2003;127:1458-64.
14. Werling R, Hwang H, Yaziji H. immunohistochemical distinction of invasive from noninvasive breast lesions. *Am J Surg Pathol* 2003;27:82-90.

15. Padilla-Rodríguez AL, Ortiz-Hidalgo C. utilidad de la E-cadherina en el diagnóstico del carcinoma ductal y lobular de mama. *Patología* 2005;43:121-128.
16. Brück P, Vilches-Cisneros N, Ramos-López E. Expresión del Her2/neu en el adenocarcinoma ductal de la glándula mamaria: correlación con parámetros histopatológicos y expresión de receptores estrogénicos en pacientes mexicanas. *Ginecol Obstet Mex* 2006;74:516-22.
17. Maluf H. Differential diagnosis of solid carcinoma in situ. *Seminar in Diagnostic Pathology* 2004;21:25-31.
18. David J. Dabbs. *Diagnostic immunohistochemistry*. Second edition. Pittsburgh, PA, USA. Elsevier edit. 2006.
19. Yeh IT, Mies C. Application of immunohistochemistry to breast lesions. *Arch Pathol Lab Med* 2008;132:349-358.
20. Turashvili G, Bouchal J, Ehrmann J, Fridman E. Novel immunohistochemical markers for the differentiation of lobular and ductal invasive breast carcinomas. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub* 2007;151:59-64.
21. Esposito N, Chivukula M, Dabbs D. The ductal phenotypic expression of the E-cadherin/catenin complex in tubulolobular carcinoma of the breast: an immunohistochemical and clinicopathologic study. *Modern Pathology* 2007;20:130-138.

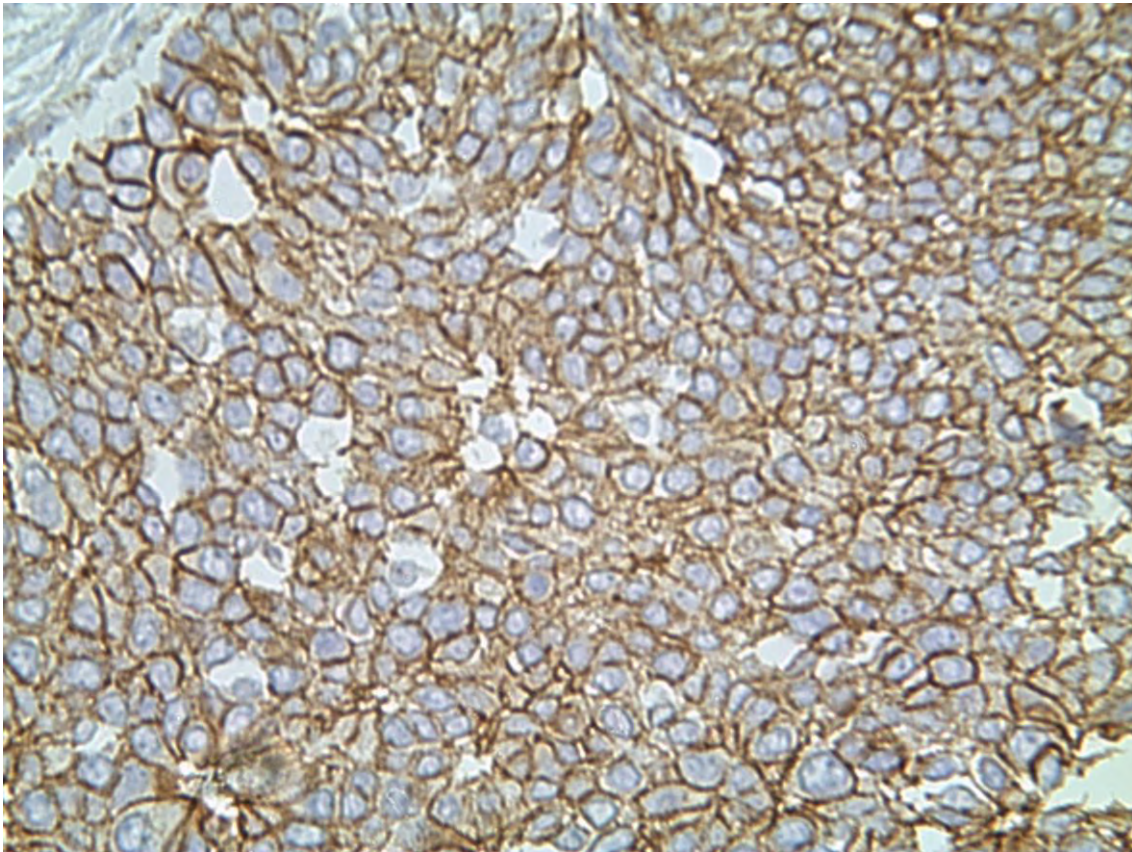
Anexos



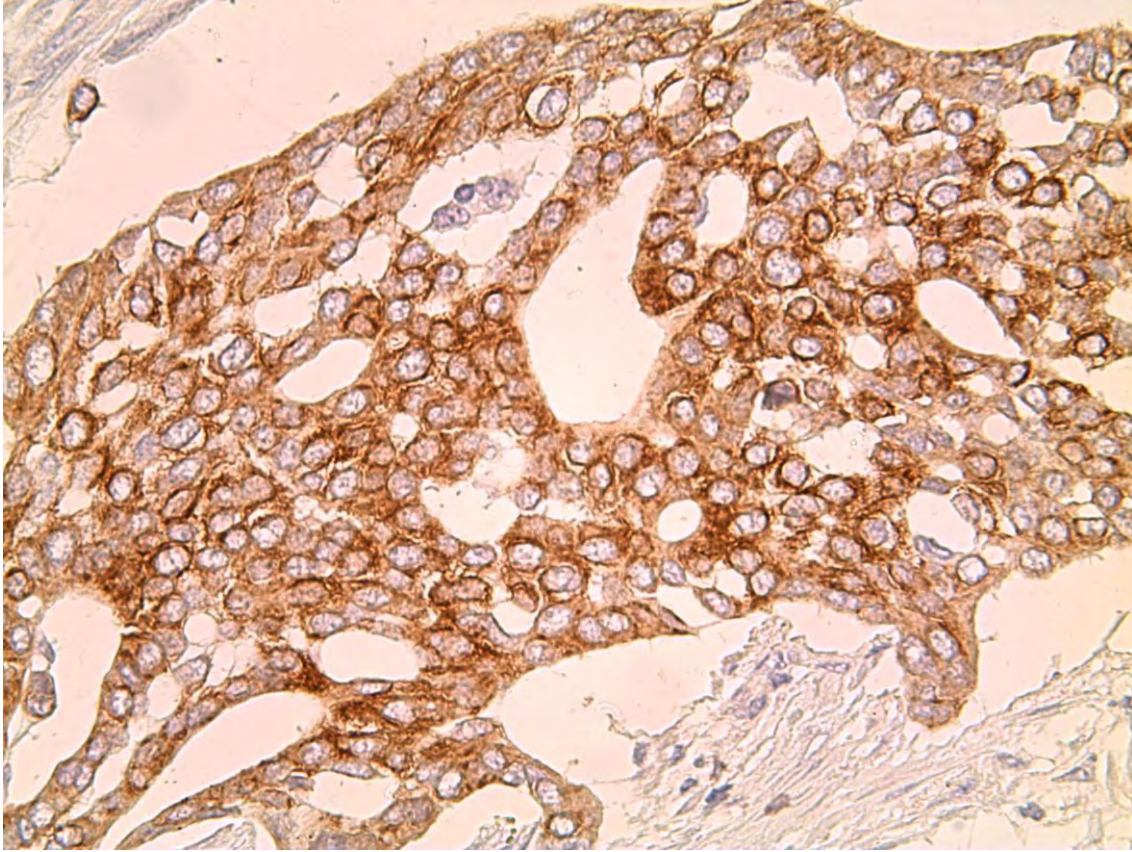
Carcinoma sólido (caso 10) con células neoplásicas de tamaño nuclear grande y nucléolo evidente.



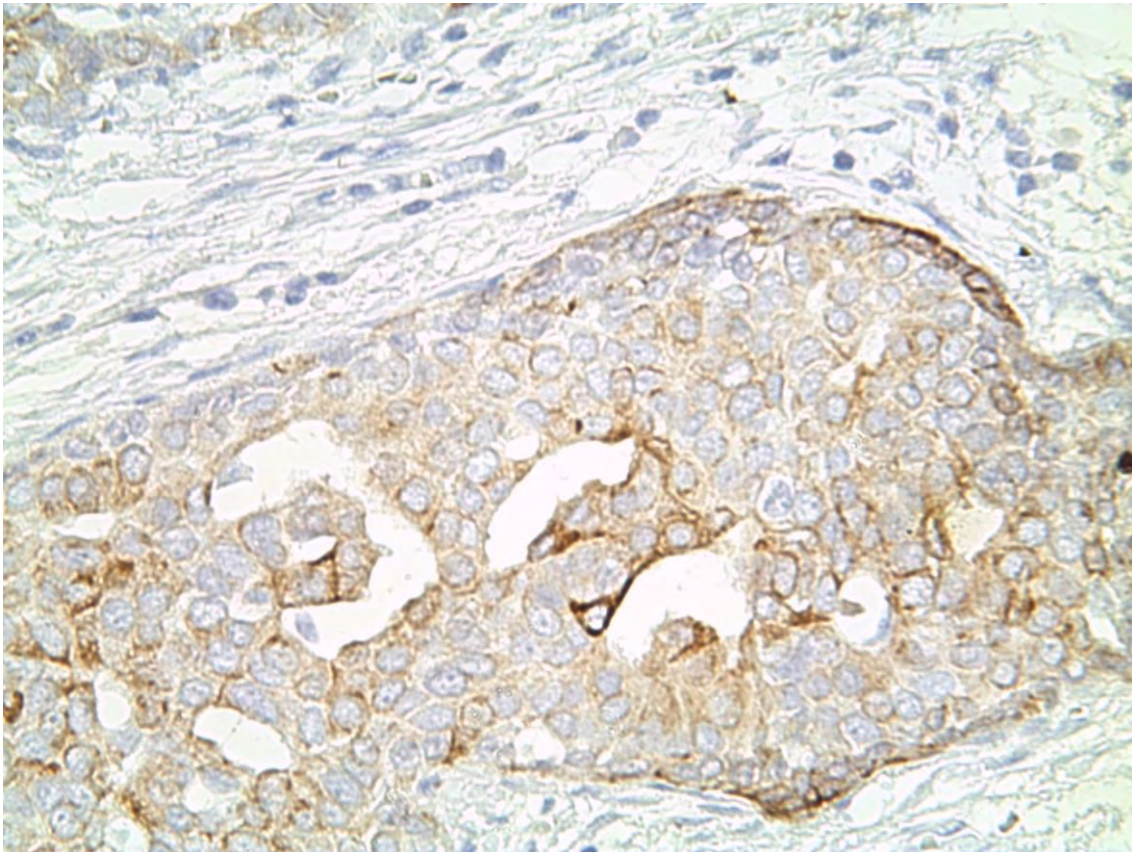
El mismo caso de carcinoma sólido (caso 10) con áreas de componente de células de núcleo pequeño con nucléolo inaparente que se sospechó como carcinoma mixto pero finalmente fue clasificado como carcinoma sólido con diferenciación ductal.



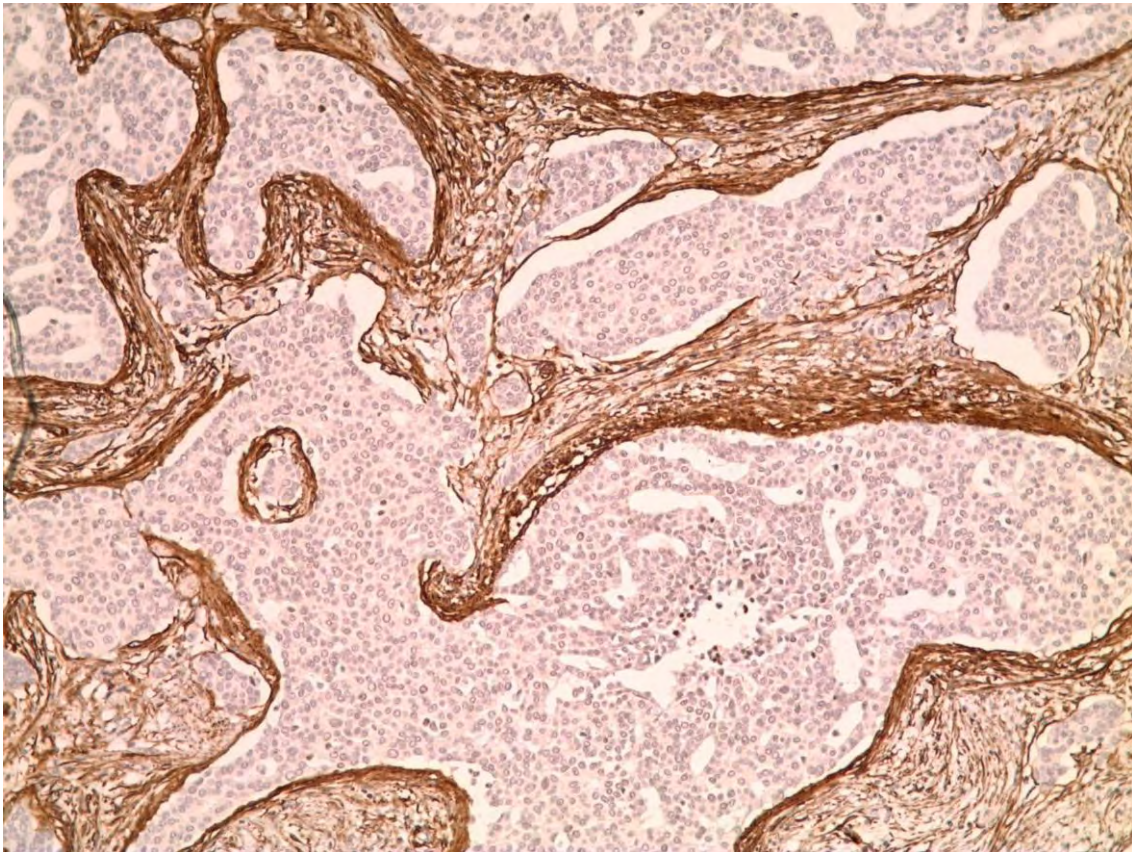
Carcinoma sólido (caso 10) con inmunotinción para E-cadherina fuertemente positiva en membrana citoplásmica, en áreas de células grandes y en áreas de células pequeñas, que conservan su cohesividad. Y descarta la posibilidad de diferenciación lobulillar, aun en áreas de células pequeñas y con poco pleomorfismo.



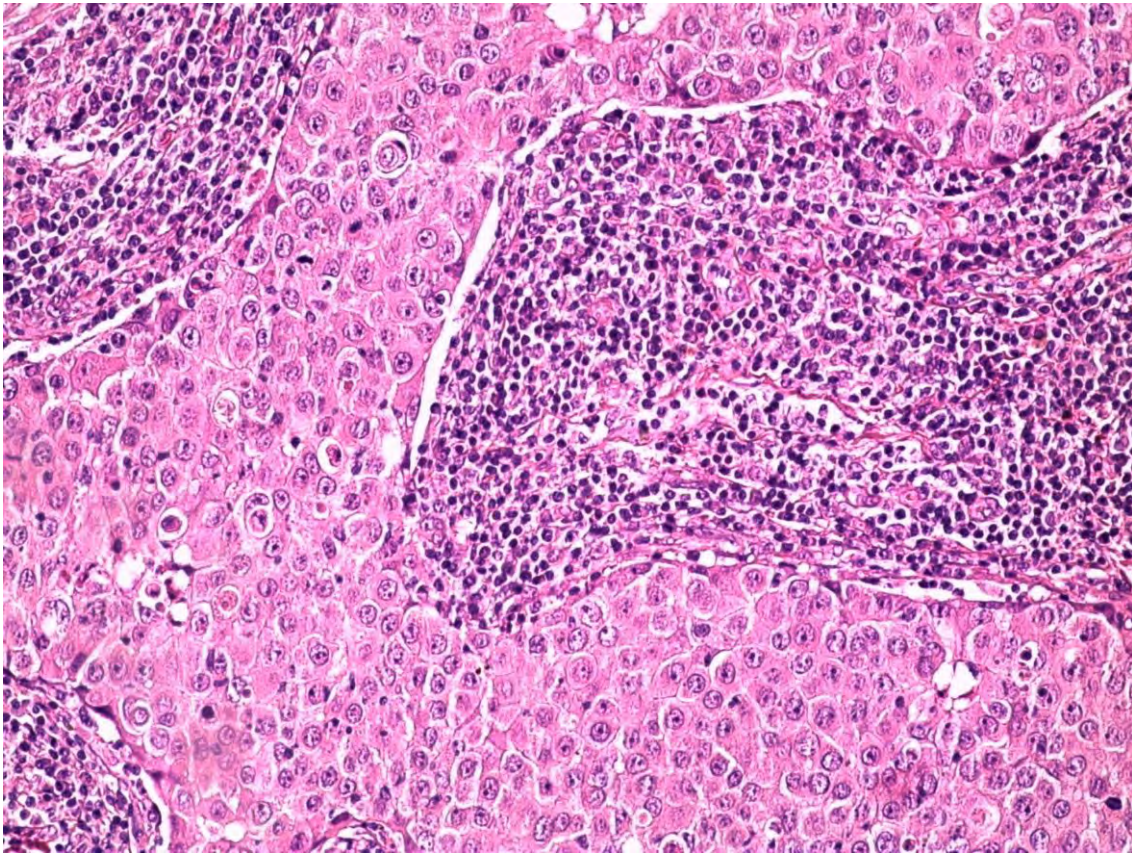
Mismo caso 10 de carcinoma ductal sólido con patrón de tinción esperado con CK8; citoplásmico marginal.



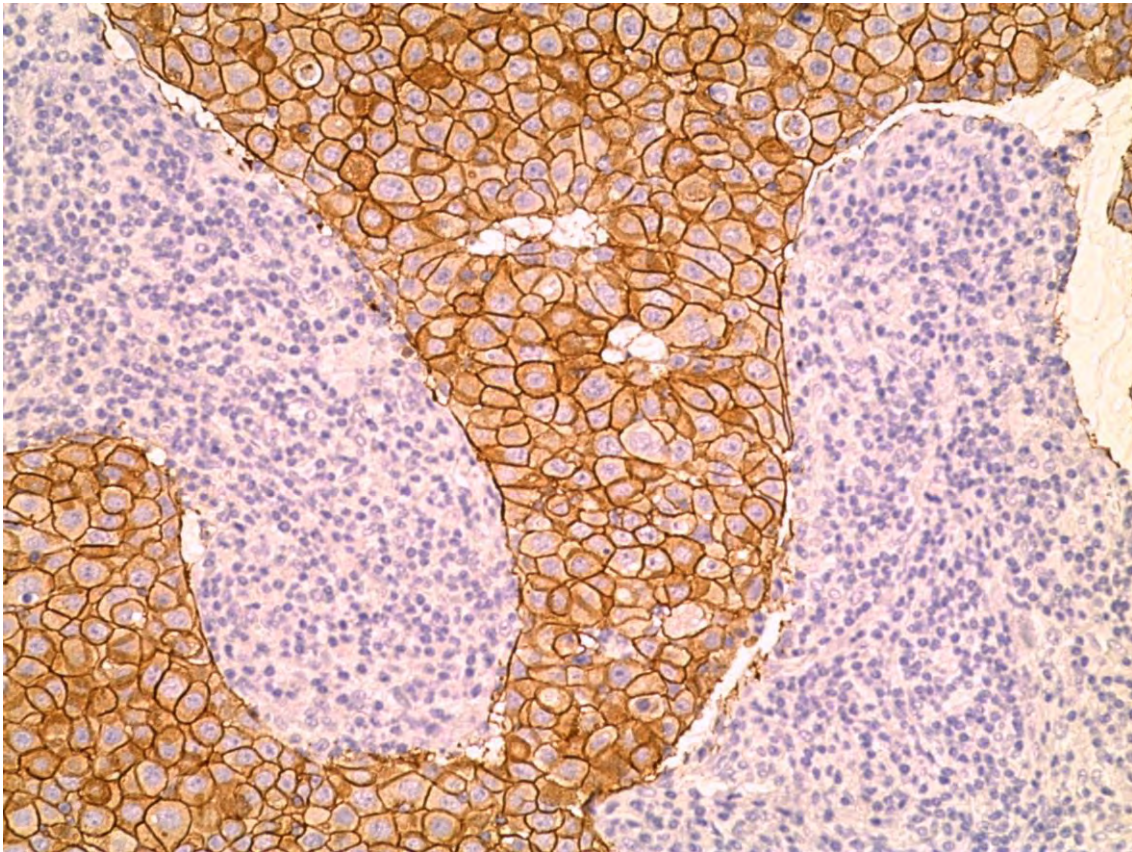
Caso 10 de carcinoma ductal sólido con inmunotinción negativa para CKH, se observan células positivas focalmente. El resultado negativo de la tinción predominó en la mayoría de los campos.



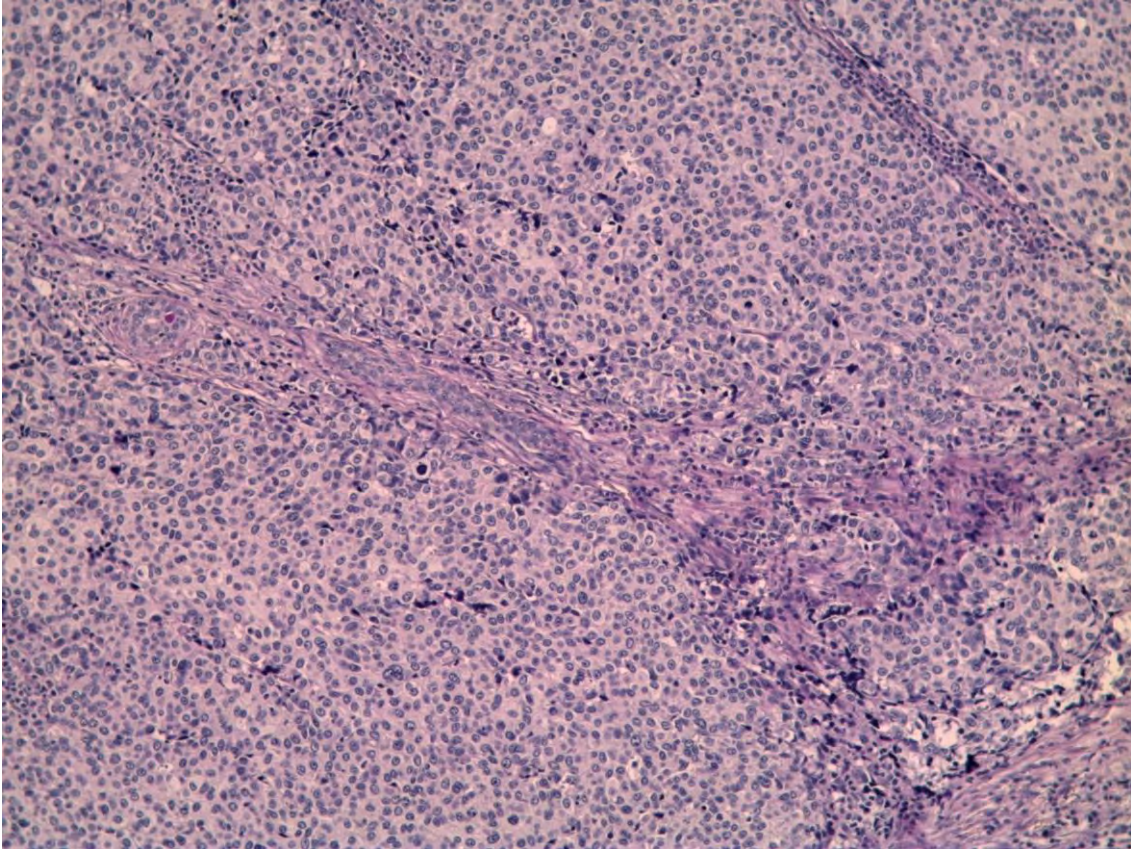
Caso 10 de carcinoma ductal sólido infiltrante con inmunotinción positiva para Actina específica de músculo liso (AEM), que se presenta fuertemente positiva entre los nidos infiltrantes de células neoplásicas. El color tabaco corresponde a las células estromales del tejido afectado por el tumor. Las células neoplásicas son negativas a AEM.



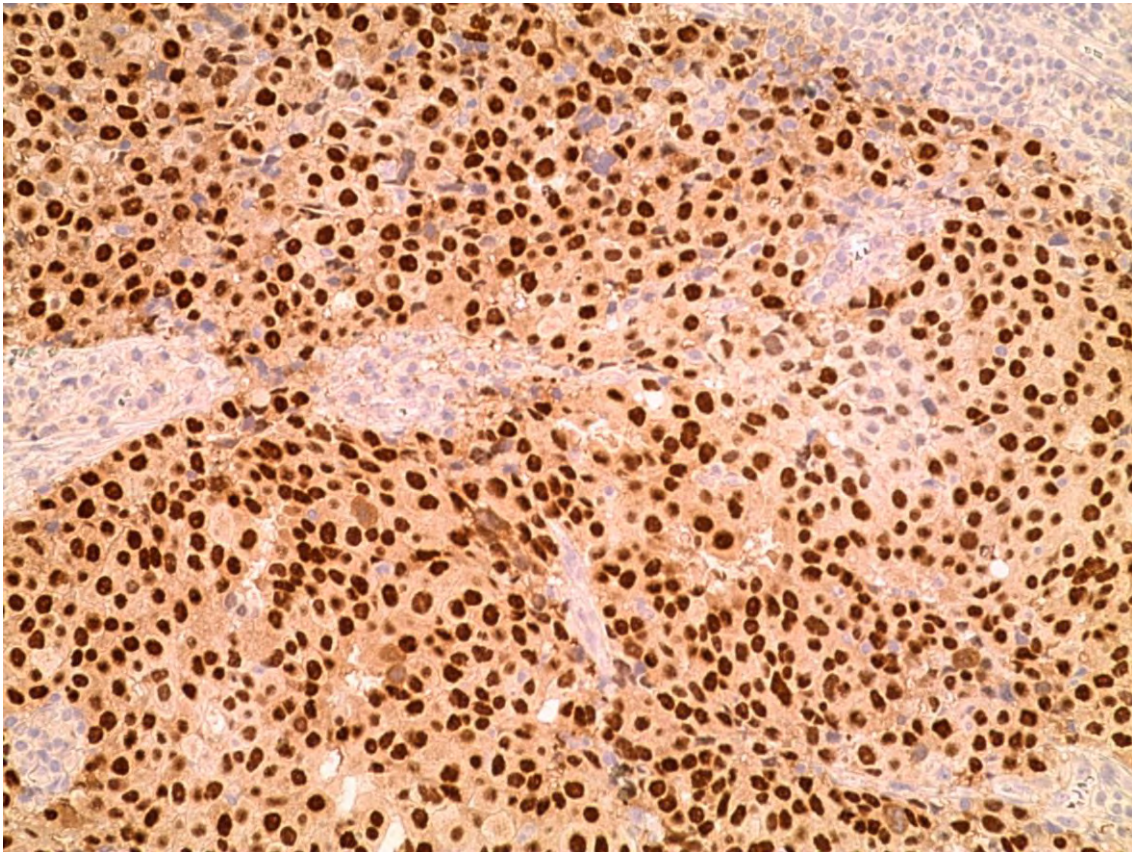
Carcinoma sólido (caso 3) con células de núcleo grande y nucléolo evidente correspondiente a Grado nuclear de Black Fisher 3. Presenta infiltrado inflamatorio mononuclear crónico.



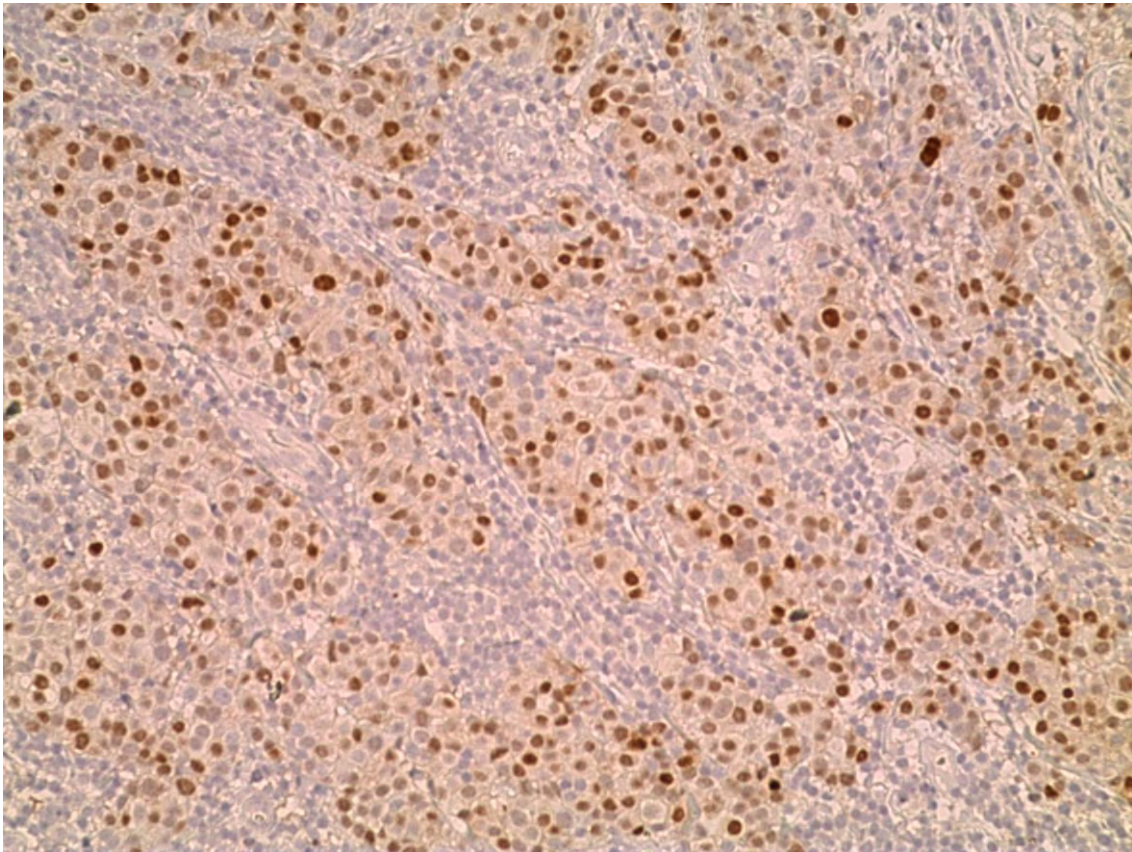
Mismo caso 3 de carcinoma ductal con inmunotinción para HER2. La tinción tabaco se presenta en la membrana citoplásmica, en este caso rodea completamente la célula y la tinción es fuerte, por lo que se calificó como HER2 positivo 3+; que corresponde a la calificación máxima de este marcador.



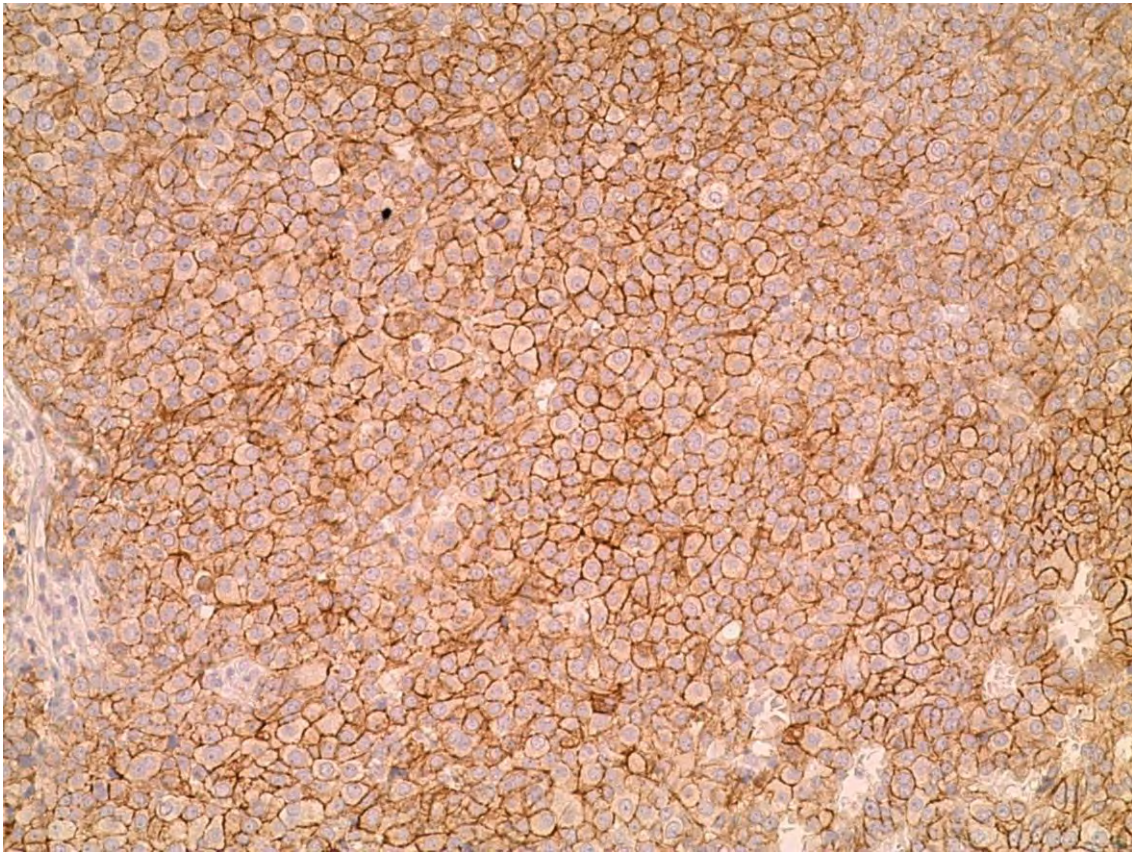
Carcinoma sólido (caso 9) con grandes mantos de células grandes cohesivas con nucléolo grande correspondiente a Grado nuclear de Black Fisher 3.



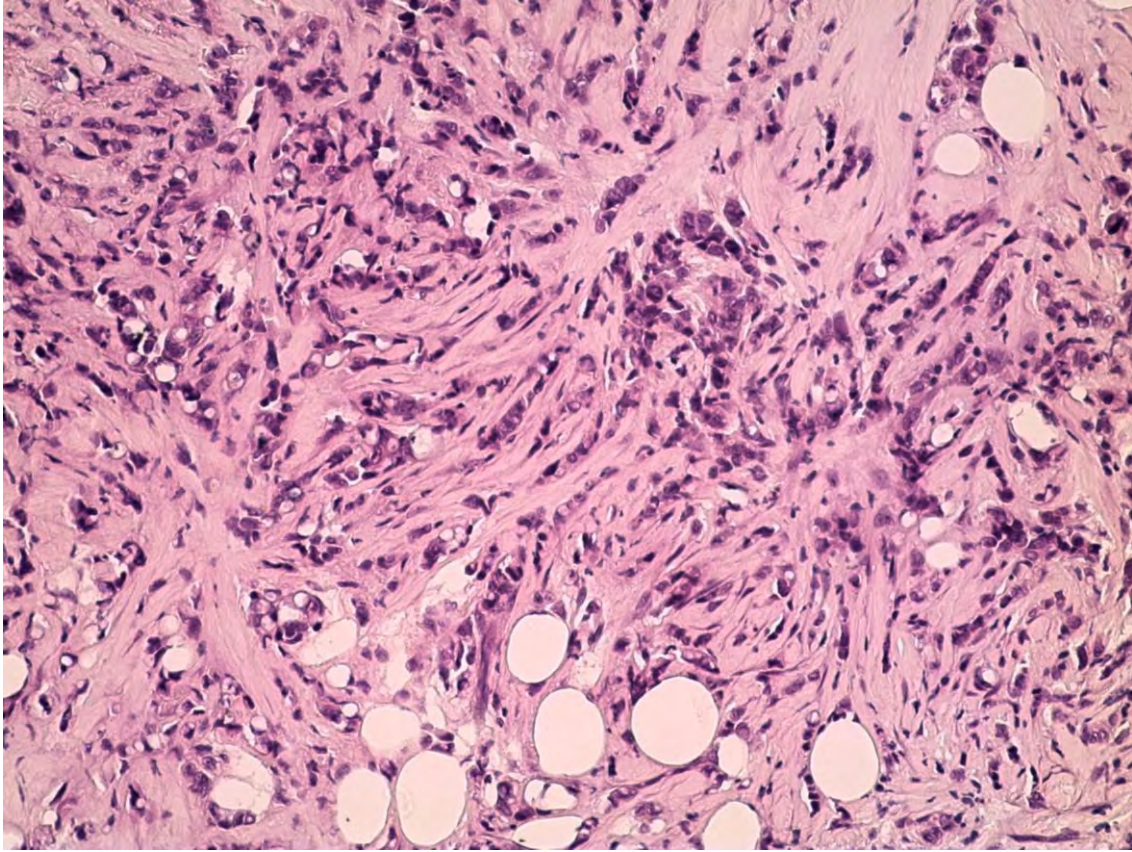
Carcinoma sólido (caso 9) con fuerte tinción nuclear correspondiente a Receptores de Estrógeno que se consideraron positivos en el 100% de las células neoplásicas.



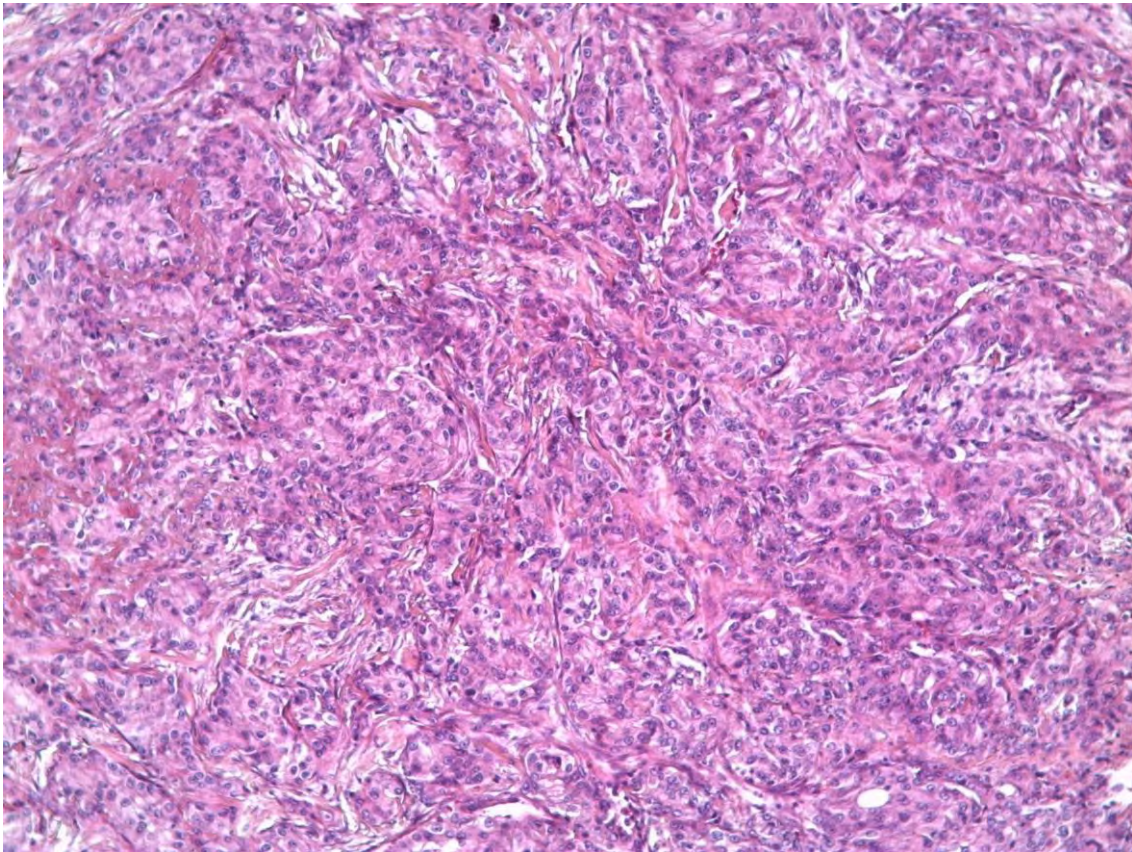
Carcinoma sólido (caso 9) con inmunotinción para Receptores de Progesterona, la tinción es nuclear y se consideró positiva en el 10% de las células neoplásicas.



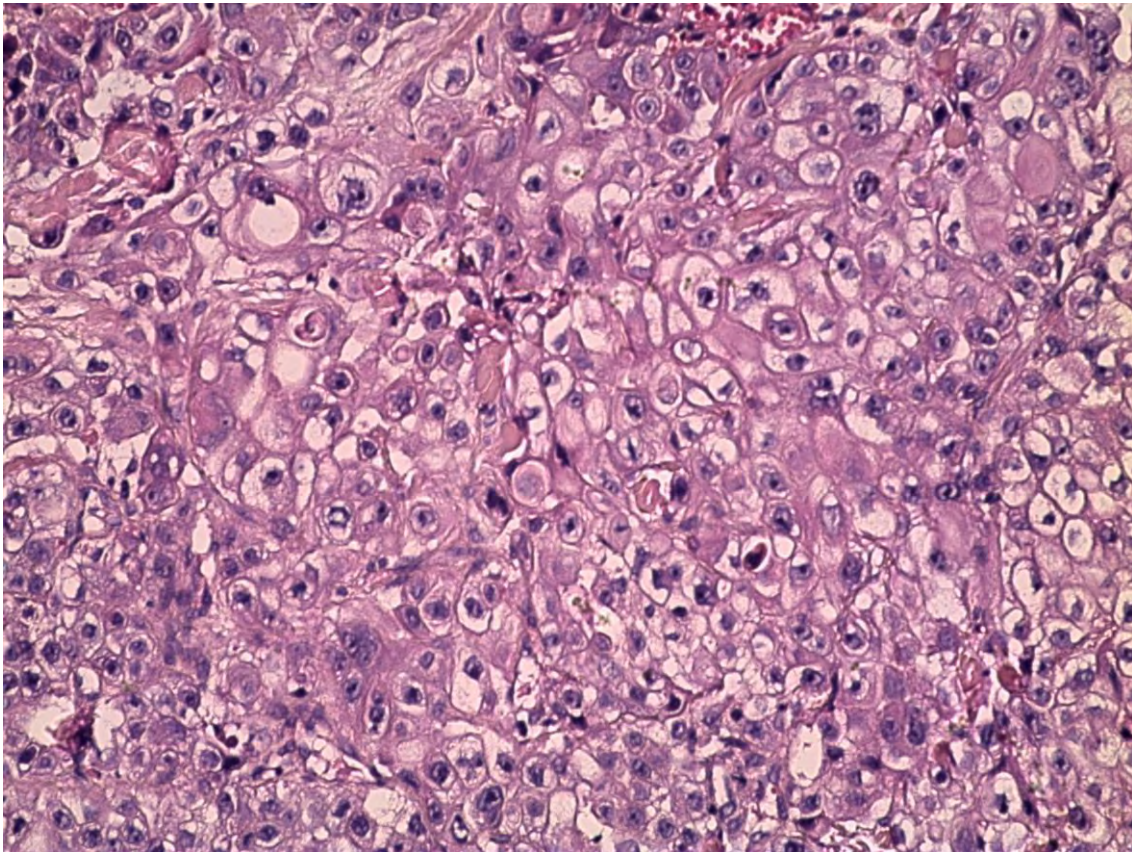
Carcinoma sólido (caso 9) con inmunotinción para HER2, con tinción de membrana citoplásmica que es fuerte pero algunas células no están completamente rodeadas del color tabaco; por lo que este caso se calificó como HER2 positivo 2+.



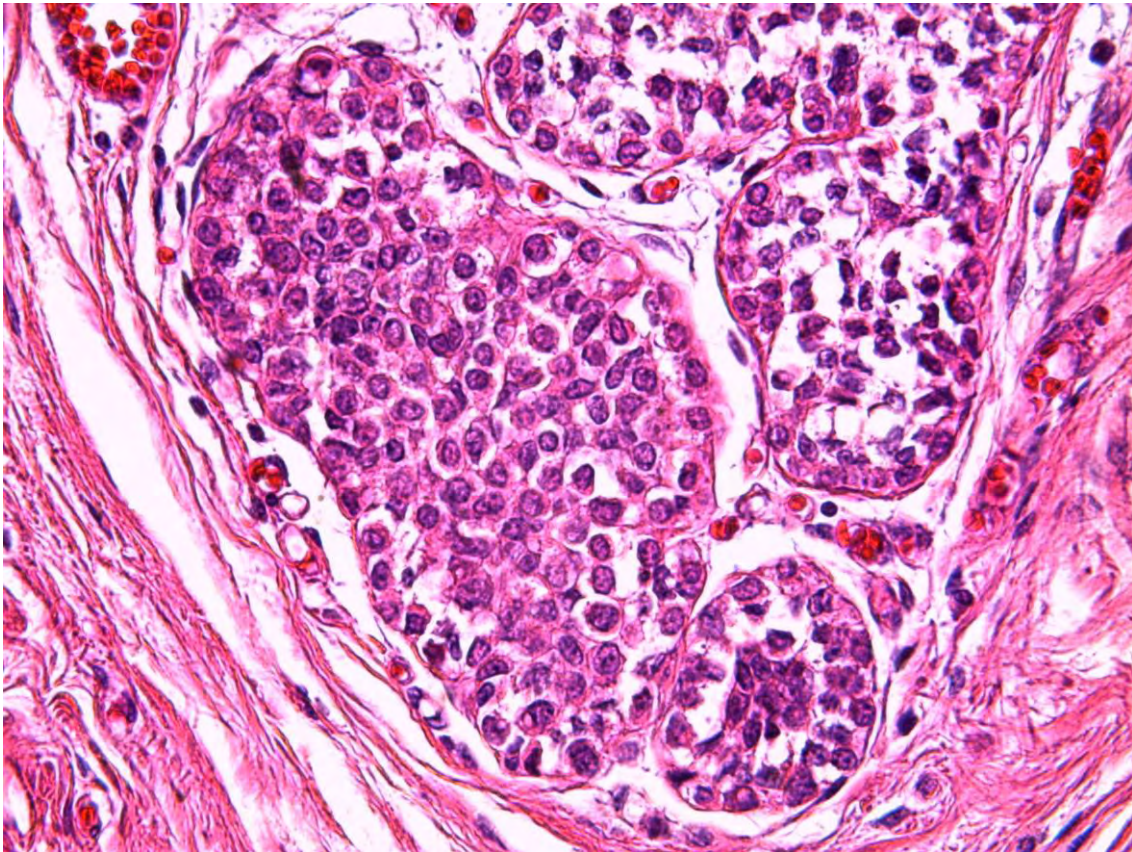
Carcinoma lobulillar infiltrante “clásico” (caso 3), con células pequeñas sin pleomorfismo con el patrón de infiltración en “filas indias” y células sueltas características, debido a la falta de cohesividad.



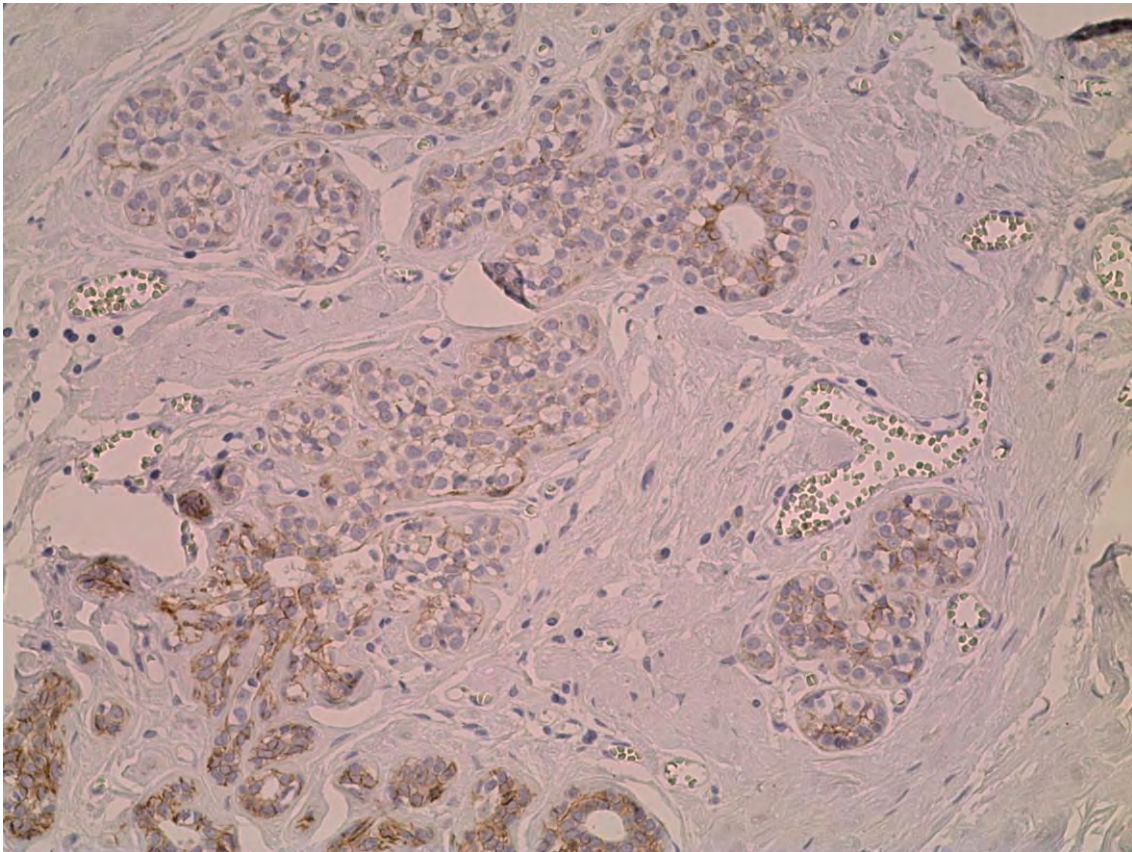
Carcinoma ductal “clásico” (caso 2) con células grandes y nucléolo evidente dispuestas en nidos cohesivos correspondientes a Grado nuclear de Black Fisher 3 y Grado de Scarff Bloom Richardson III, carcinoma ductal infiltrante poco diferenciado.



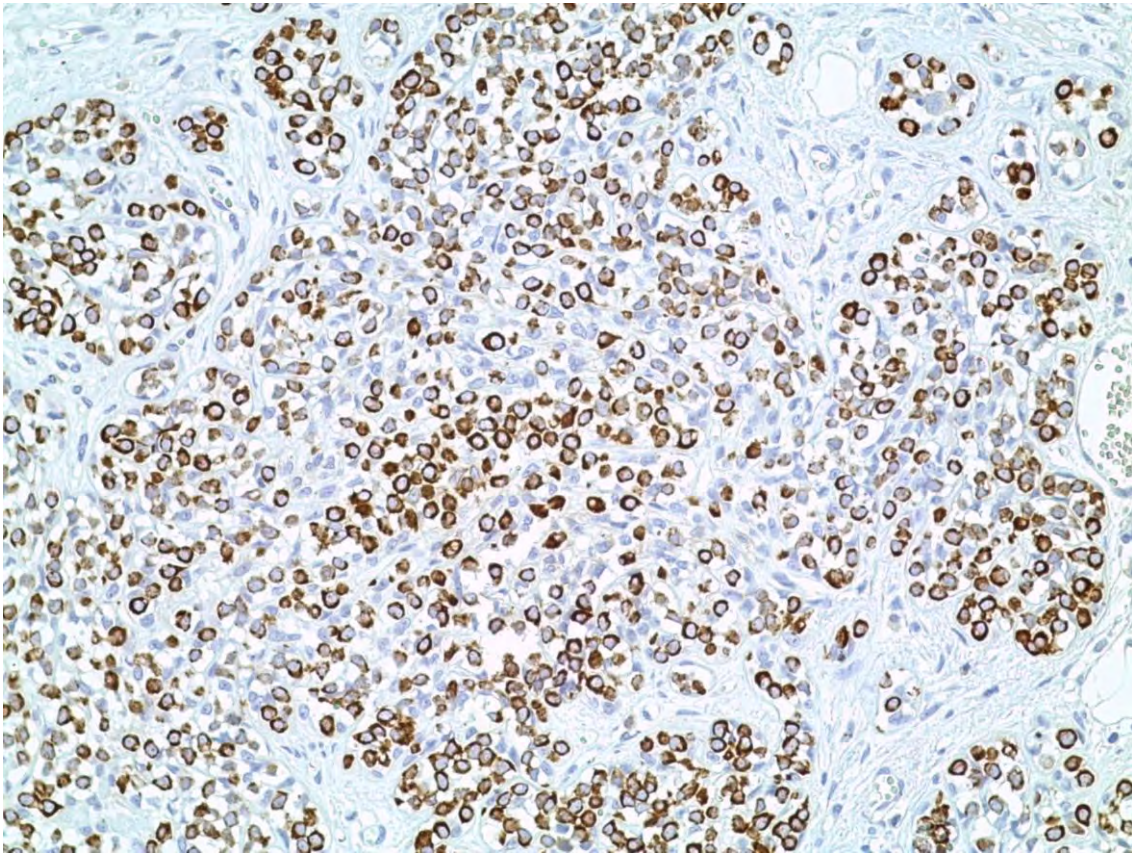
Carcinoma ductal “clásico” (caso 5) con aumento de 40x para enfatizar las células grandes con alto grado de pleomorfismo y nucleolo grande y atípico correspondiente a Grado Nuclear de Black Fisher 3.



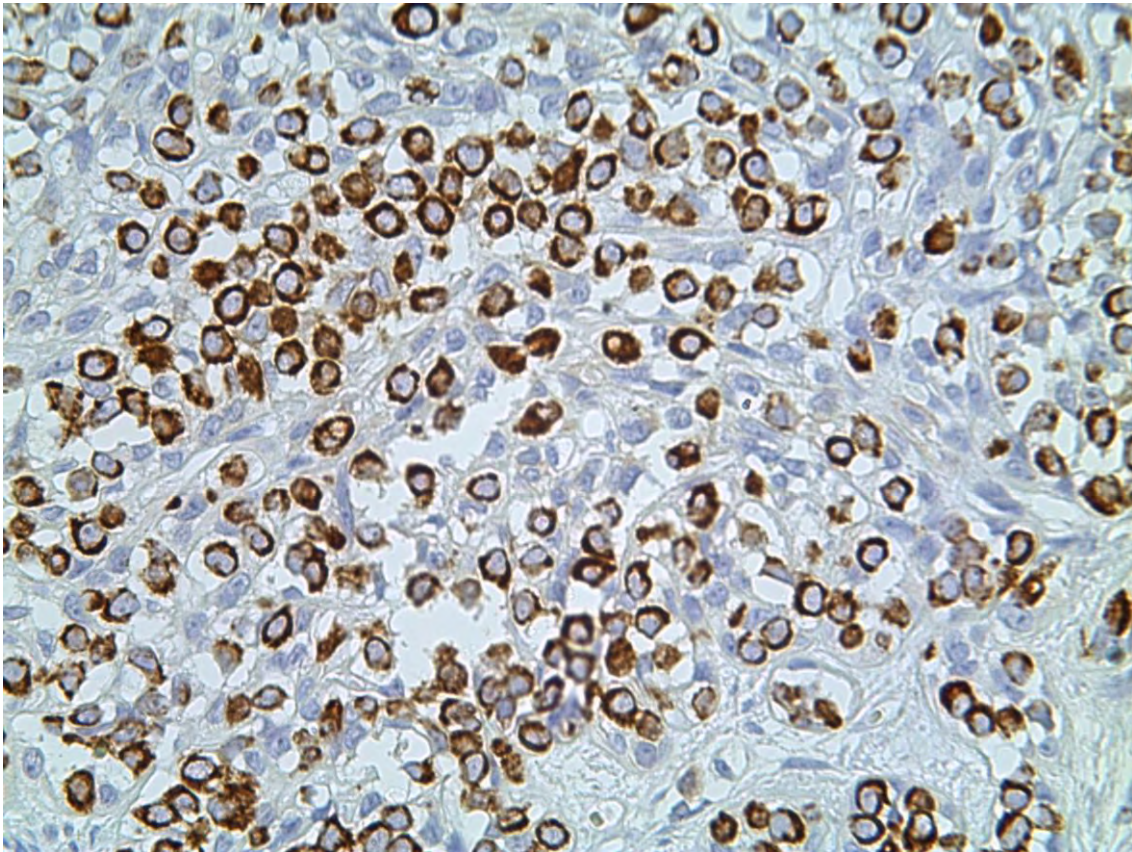
Carcinoma lobulillar "in situ" del grupo de los carcinomas clásicos que muestra células pequeñas con poco pleomorfismo y nucleolo inaparente correspondientes a Grado nuclear de Black Fisher 2.



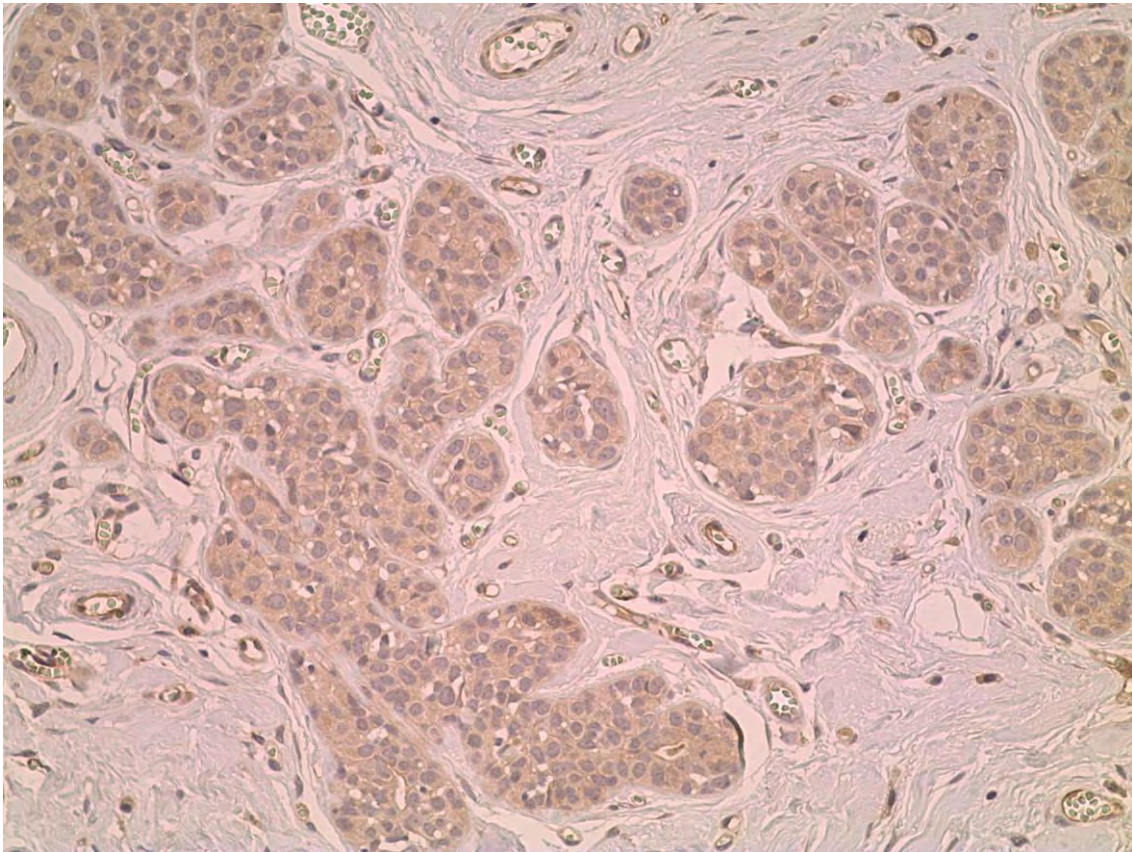
Mismo caso 9 de carcinoma lobulillar “in situ” con la inmunotinción para E-cadherina que se muestra negativa en los nidos de células neoplásicas y positiva en los conductos residuales del tejido mamario (esquina izquierda abajo).



Carcinoma lobulillar del caso 9 con inmunotinción para CK8 con el típico patrón de tinción perinuclear en las células neoplásicas.



Mayor aumento para mejor apreciación de la tinción perinuclear de la CK8 en el carcinoma lobulillar (caso 9).



Carcinoma lobulillar “clásico” (caso 9) con inmunotinción para Cromogranina, marcador de diferenciación neuroendocrina, que se muestra débilmente positiva.