



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE
MEXICO**

**FACULTAD DE MEDICINA
SUBDIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO
PROGRAMA DE ESPECIALIDADES MÉDICAS
GINECOLOGIA ONCOLOGICA
SEDE HOSPITAL JUAREZ DE MEXICO**

**Expresión proteica de GRP78 y BIK en tejido mamario de
mujeres mexicanas con cáncer de mama esporádico
localmente avanzado previo a inicio de quimioterapia
neoadyuvante y su relación con la respuesta patológica.**

PROPUESTA DE TESIS

Para obtener el grado de
Especialista en Ginecología Oncológica que
P R E S E N T A
Miguel Corres Molina

Tutores

Dr. Xicotencatl Jiménez Villanueva
Dra. Eunice López Muñoz
Dr. Norman García Hernández

Titular del curso
Profesor Adjunto
Jefe de servicio Oncología
Jefe de servicio Patología

Dr. Xicotencatl Jiménez Villanueva
Dra. Ángela Hernández Rubio
Dr. Francisco García Rodríguez
Dra. Evelyn Cortes Gutierrez

México DF a 11 de noviembre de 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. Carlos Viveros Contreras
Jefe de la División de Enseñanza
Hospital Juárez de México

Dr. Xicotencatl Jimenez Villanueva
Profesor Titular y asesor de tesis del Curso de Ginecología Oncológica
Hospital Juarez de México.

Dr. Francisco García Rodríguez
Jefe del Servicio de Oncología
Hospital Juarez de México

I. AGRADECIMIENTOS

A mi mamá quien me ha acompañado en mi formación profesional de manera entusiasta e incondicional .

A mi familia quien siempre ha estado a mi lado.

A todos y cada uno de los profesores que han dejado una huella en mi formación profesional.

Un agradecimiento especial al Dr. Francisco García Rodríguez y al Dr. Xicotencatl Jiménez Villanueva quienes me iniciaron en el estudio de la Oncología.

A los médicos del Hospital Juárez de México cuyo ejemplo de excelencia seguiré a lo largo de mi vida profesional.

Al Dr. Armando Ramírez, Dra. Cristina Alvarado y Dra. Evelyn Cortés por sus invaluable comentarios y correcciones al presente trabajo de tesis.

Al personal del Hospital Juárez de México por su apoyo para la elaboración del presente trabajo.

A mis compañeros residentes y rotantes que me han acompañado a lo largo de esta residencia.

A las pacientes que han permitido a través de mi formación mi participación en sus intervenciones médicas y quirúrgicas.

II. DEDICATORIA



*“A todas las mujeres que con valentia luchan día con
día contra el cáncer”*

III. INDICE

I. AGRADECIMIENTOS	3
II. DEDICATORIA	4
III. INDICE	5
IV. RESUMEN.....	6
V. ANTECEDENTES	7
VI. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	14
VII. JUSTIFICACION	15
VIII. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.....	16
IX. OBJETIVO PRINCIPAL.....	17
X. HIPÓTESIS.....	18
XI. MATERIAL Y MÉTODOS	19
XII. CONSIDERACIONES ÉTICAS.....	32
XIII. RESULTADOS	34
XIV. DISCUSION.....	39
XV. CONCLUSIONES	41
XVI. REFERENCIAS.....	42

IV. RESUMEN

Objetivo: Se realizó una correlación de la expresión proteica medida mediante inmunohistoquímica de GRP78 y BIK del tejido mamario tumoral de las pacientes con tumores localmente avanzados previo a recibir quimioterapia neoadyuvante con el porcentaje de respuesta patológica medida en centímetros en la pieza de mastectomía realizada posterior al término de quimioterapia.

Material y métodos: Se trata de un estudio observacional, analítico, de cohorte retrospectivo. A partir de muestras de tejidos de pacientes con diagnóstico de cáncer de mama localmente avanzado que acudieron al servicio de Tumores de mama del Hospital Juárez de México de la Secretaría de Salud, se realizó determinación mediante inmunohistoquímica de la expresión de las proteínas GRP78 y BIK. Se realizó búsqueda de información acerca del tratamiento de quimioterapia recibido, así como de variables clínicas y demográficas relevantes. Se buscó la información a cerca de la pieza de mastectomía y se obtuvo el porcentaje de respuesta de acuerdo al tamaño de tumor residual en comparación con el tamaño inicial previo al inicio de quimioterapia. Se realizó comparación de proporciones de la expresión de las proteínas de acuerdo a estadio clínico, edad, patrón de inmunohistoquímica del tumor y respuesta clínica.

Análisis estadístico: El análisis descriptivo se utilizó frecuencias simples y porcentajes. Así como medidas de tendencia central y de dispersión. Mediante prueba de Kolmogorof-Smirnoff se determinó normalidad.

Se utilizó U de Man-Whitney y prueba de correlación de Spearman. Se asignaron los valores de p a dos colas y se consideró $p=0.05$ como significativa.

Se utilizó el programa estadístico SPSS versión 17 para todos los análisis.

Resultados: Se reportan 27 casos de tumores localmente avanzados de los cuales 15 fue posible realizar inmunohistoquímica para GRP78 y BIK. La mediana de edad fue de 46 años. El estadio clínico predominante fue el IIIA. La mediana de tamaño tumoral en fue de 9 cm con un rango de 4 hasta 21 cm. El patrón luminal A predominó representando el 59%, seguido del 33% de triple negativo. La mediana de respuesta fue de 79% y no se encontraron diferencias de acuerdo a las características del tumor o de los casos. La mediana de expresión de BIK y GRP78 fue de 40 y 80% respectivamente. GRP78 se mostró elevado de manera consistente, mientras que BIK mostró heterogeneidad en su expresión con tendencia a expresarse en casos con factores adversos.

Conclusiones: Se requiere mayor número de casos que representen todos los espectros de la enfermedad para conocer la relación que pudieran tener BIK y GRP78 en el comportamiento clínico del cáncer de mama esporádico.

V. ANTECEDENTES

El cáncer es la primera causa de mortalidad a nivel mundial, se le atribuyen 7,9 millones de defunciones ocurridas en 2007. El tipo de cáncer más frecuente a nivel mundial en las mujeres es el de mama, responsable en 2007 de 548,999 defunciones. Lo anterior de acuerdo a reporte de la OMS [1]

Aproximadamente el 72% de las defunciones por cáncer ocurridas en 2007 se registraron en países de ingresos bajos y medianos. Se prevé que el número de defunciones anuales mundiales por cáncer seguirá aumentando y llegará a unos 12 millones en 2030.[1]

En México, para conocer el número de personas enfermas de cáncer, es necesario referirse a la morbilidad hospitalaria por esta enfermedad, información que se obtiene a través de las cifras de egresos hospitalarios por tumores malignos registrados durante un año. Con la información disponible de 2004 a 2007 se observa que el cáncer de mama fue la principal causa de egreso hospitalario, así mismo se observó un incremento de esta patología de 2004 a 2006 al pasar de 19.2% a 19.8% y con un ligero decremento en 2007 (19.2 por ciento).

Del total de defunciones registradas en el país durante 2008 (539 mil 530 casos), 13 de cada 100 tuvieron como causa principal algún tipo de cáncer (71 mil 074) y de éstas 4858 correspondieron a tumores malignos de mama [2]

En los últimos diez años las mujeres presentan los mayores porcentajes de muertes por neoplasias en comparación con los hombres; siendo la mayor brecha se en el periodo de 1998 a 2000, donde las mujeres superan con 4.1 puntos porcentuales a los varones.

Las dos primeras causas de defunción por cáncer en mujeres, cuello del útero y mama, han evolucionado de tal forma en el tiempo que han invertido su presencia. Hasta 2005, el cáncer de útero representaba la principal causa de muerte en mujeres con cáncer, a partir de 2006 este lugar lo ocupa el cáncer de mama. Sin

embargo, desde 1998 se observa una disminución constante para el cáncer de cuello del útero. Por el contrario, aunque a una velocidad más lenta, el cáncer de mama presenta un incremento constante en los últimos diez años, ubicándolo en el primer lugar desde 2006 [2]

El cáncer de mama ha mostrado relativa estabilidad en cuanto a los grupos de edad que impacta. El grupo de 60 años y más concentra los mayores porcentajes de defunciones por esta enfermedad, seguido por el de 50 a 59 y el de 40 a 49 años. [2]

El porcentaje promedio de diagnósticos, de acuerdo con el estadio clínico reportado en 2003 (no se cuenta con información reciente) de acuerdo al registro histopatológico del país, es el siguiente: estadio 0 y I, 7.4%, estadio II, 34.4%, estadio III y IV, 42.1%, no clasificable 16.1%. [3]

Se observa que la mayor parte de las pacientes se presentan en estadios localmente avanzados y sistémicos.

Los tumores localmente avanzados (TLA) incluyen tumores voluminosos (> 5 cm, T3 de acuerdo al sistema de clasificación de la American Joint Committee on Cancer [AJCC]), los tumores de cualquier tamaño asociados con involucro de piel o pared torácica (T4), tumores con ganglios axilares fijos (N2) y aquellos con involucro de ganglios ipsilateral supraclaviculares (N3). [4]

Se estima que entre 300,000 y 450,000 casos nuevos de TLA se diagnostican cada año alrededor del mundo.

Las mujeres que participan en programas periódicos de escrutinio la incidencia es menor a 5%, mientras que en muchas de las que viven en países en vías de desarrollo llegan a representar del 40-60% [5]

Los TLA continúan siendo un problema importante de salud y un reto para su manejo [6]

Sin embargo en la mayor parte de los casos se inicia con manejo sistémico (quimioterapia) y posteriormente manejo quirúrgico para control local de la enfermedad.

La quimioterapia neoadyuvante también conocida como quimioterapia de inducción, quimioterapia primaria o quimioterapia preoperatoria es la terapia inicial en la mayor parte de los tumores localmente avanzados.

Existen múltiples reportes de la efectividad de esta modalidad de tratamiento en casos de TLA [7-13]. La mayoría de las modalidades combinadas se basan en esquemas basados en combinaciones con antraciclinas. La reducción del tumor ocurre en el 60-90% de las pacientes. Se ha reportado tanto en el tumor primario como en los nodos axilares [8-12,14-19].

Se han reportado respuestas combinadas, tales como respuesta en el tumor primario y no respuesta en los nodos regionales o viceversa. Sin embargo lo anterior es poco común. [14,20,21]

La respuesta clínica completa requiere que no exista enfermedad residual a la exploración física y estudios de imagen (mastografía, ultrasonido o resonancia) tanto en la mama como en los nodos axilares [14]

Las remisiones clínicas completas se han reportado en un 10-20% de las pacientes con TLA tratadas con regímenes que contienen antraciclinas [8,12,22].

Las respuestas completas se incrementan cuando se agrega algún taxano, especialmente en los esquemas secuenciales.

El problema de utilizar como medida de respuesta la valoración clínica es que solo la mitad a dos tercios de las pacientes consideradas como respuesta clínica completa presentan respuesta patológica completa (no enfermedad residual). Además, un tercio de pacientes sin enfermedad residual en el análisis histológico presentan enfermedad clínica o por imagen. [8,21,23,24].

La importancia de la respuesta patológica completa radica en que las pacientes que logran una respuesta histopatológica documentada tienen mejor pronóstico a

largo plazo comparadas con las pacientes con respuestas incompletas o sin respuesta [9,25].

Dado lo anterior consideramos la respuesta patológica el marcador ideal en el modelo de TLA y es el que será utilizado en este estudio para contrastar las diferencias entre las pacientes que serán sometidas a quimioterapia neoadyuvante. Debido a la importancia de lograr una respuesta patológica completa, a los efectos adversos de la quimioterapia y a las diferentes respuestas relacionadas con las variantes relacionadas con el tumor, se han buscado marcadores de imagen, moleculares y clínicos de la respuesta patológica completa.

Debido a que el cáncer de mama es una enfermedad heterogénea con diferentes morfologías, perfiles moleculares, comportamientos clínicos y por tanto diferentes respuestas a tratamiento, la búsqueda de estos marcadores continúa.

Algunos de los estudiados incluyen Ki67, expresión de HER-2/neu, receptores de estrógeno, progesterona, Topo II α , MAPT, Bcl-2 y p53, de estos, actualmente se utiliza en el manejo habitual solo la expresión de receptores de estrógeno, progesterona y HER-2/neu. Agrupando así a los tumores en relación a la expresión inmunohistoquímica en luminales A, B, Her-2 y triple negativos.[26-29]

El receptor de estrógeno es un blanco regulador y terapéutico en el conocimiento de la etiología y progresión del cáncer de mama. La terapia endocrina al bloquear las vías de señalización de este receptor es una terapia sistémica importante para el tratamiento de los casos que expresan este receptor.[30]

Se acepta que los tumores que expresan receptores de estrógeno requieren de esta molécula para su supervivencia.[31] Estudios de inanición celular a estrógenos, lo cual imita el efecto de los inhibidores de aromatasa o los antiestrogenos, muestran incremento significativo de la apoptosis. Lo anterior al suprimir la expresión de BCL-2[31,32]. Otros reportes revelan que BIK juega un papel importante en la inanición celular a estrógeno. [33]. En ambientes de

privación a estrógenos se incrementa su expresión y el bloqueo de su actividad inhibe la apoptosis provocada por el tratamiento anti-estrógeno [34].

En un análisis molecular de muestras de tejido mamario de mujeres mexicanas con cáncer de mama se encontró en un grupo de ellas sobreexpresión de *Bik/NBK* lo cual podría representar diferencias en la evolución clínica de la enfermedad, sin embargo al momento no hay estudios al respecto.[35]

Una tesis central en el conocimiento del cáncer es la noción que hay pérdida del equilibrio entre la proliferación y muerte celular. Las vías de apoptosis juegan un papel en este balance.[36] La vía mitocondrial involucra a más de 20 miembros que basados en su estructura y función se agrupan en 3 categorías: antiapoptóticos (prototipo Bcl-2), proapoptóticos (prototipo Bax) y los que solo tienen un dominio proapoptótico (prototipo BID).[37]

El grupo de proteínas con homología solo en el dominio 3 (BH3) se unen e inhiben a las proteínas antiapoptóticas y permiten así la liberación de BAX, BAK que provocan muerte celular al perderse la permeabilidad de la membrana mitocondrial.[38]

BIK pertenece al grupo de proteínas BH3 de la familia de BCL2 y es por tanto proapoptótica.

Se sabe que BIK juega un papel crítico en promover la apoptosis inducida por la privación de estrógenos en las células humanas de cáncer de mama.[33,34]

Se ha reportado la inducción de BIK en respuesta a sobreexpresión de p53 y con el uso de agentes como la doxorubicina. [33]

BIK contiene un segmento transmembrana en su extremo COOH, pero en contraste con el resto de las proteínas BH3 que tienen como objetivo la mitocondria y algunas se localizan en el retículo endoplásmico (RE), BIK se integra casi de forma exclusiva en la membrana del RE.[39]

Estudios de microscopia confocal con inmunofluorescencia muestran que BIK se colocaliza con calnexina, una proteína transmembrana del RE y el fraccionamiento subcelular muestra que BIK se codistribuye con GRP78.[39,40]

La proteína GRP78 reguladora de glucosa es también llamada BiP (immunoglobulin heavy-chain binding protein), fue descubierta en los años 70 junto con GRP94 y GRP58 como proteínas celulares inducidas por inanición a la glucosa [41]. GRP78 reside de manera primaria en el retículo endoplásmico (RE) y pertenece a la familia de proteínas HSP70, la cual juega un papel crítico en el estrés oncogénico. Además de ayudar al doblamiento de las proteínas, previniendo así que se agreguen proteínas intermediarias y dirigiendo a las proteínas mal elaboradas a degradación por proteosomas. GRP78 también se une al Ca^{2+} y sirve como regulador de señales de estrés en el RE [42].

En las células sin estrés, GRP78 se une a sensores transmembrana del RE, PERK, IRE1 y ATF6 y los mantiene en una forma activa. Cuando proteínas mal procesadas alejan a GRP78 de éstos, se activan vías que envían señales al núcleo para disparar la vía de proteínas mal procesadas, que en general atenúan la transcripción celular, regulan a la alta chaperones y se incrementa la degradación por parte del RE de proteínas mal procesadas.[43]

GRP78 es inducida por estrés fisiológico que altere la función del RE y protege el daño tisular y orgánico.

Aunque la expresión en la mayor parte de los órganos adultos de GRP78 se mantiene en niveles basales bajos, en tumores se encuentra fuertemente inducida. [44]

Existe evidencia de que esta proteína es necesaria para la supervivencia de células tumorales y en la actividad metastásica de los tumores [45-47]

La privación de estrógenos en las células de cáncer de mama inicia apoptosis a través de BIK, la cual es impedida por GRP78, lo que explica la resistencia a estrógenos en células con receptores positivos.[33]

VI. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El cáncer de mama ocupa en México desde 1996 la primera causa de muerte en mujeres por cáncer. En México como en otros países en vías de desarrollo en la mayoría de los casos la presentación clínica inicial corresponde a estadios localmente avanzados.[3] Existen marcadores moleculares que se utilizan actualmente para dirigir la terapéutica como la expresión de receptores a E,P y Her-2/neu lo cual lleva a dirigir tratamientos más específicos con la finalidad de mejorar la supervivencia y el período libre de enfermedad así como disminuir la probabilidad de recaída.

No obstante lo anterior aun existen grupos de pacientes que a pesar de la expresión de estos marcadores y de las terapias dirigidas existentes no responden a las mismas. Esto hace necesario continuar con la búsqueda de marcadores que nos ayuden a determinar grupos de pacientes que puedan beneficiarse de terapéuticas más específicas y así evitar utilizar aquellas innecesarias o que llevarían a efectos adversos sin representar un beneficio real para las pacientes.

BIK y GRP78 son moléculas relacionadas con la resistencia de las células tumorales a tratamientos de bloqueo de receptores hormonales, lo cual podría traducirse a sensibilidad a agentes quimioterapéuticos.

La expresión de éstas no se ha estudiado en contextos clínicos que soporten las evidencias básicas del papel de las mismas.

Consideramos a éstas moléculas como candidatas a biomarcadores de respuesta a tratamiento, dada la evidencia publicada en relación con su relación con la apoptosis.[36]

VII. JUSTIFICACION

El conocimiento de la expresión de receptores a hormonas como estrógenos y progesterona ha permitido identificar subgrupos de pacientes candidatas a recibir terapias dirigidas a tales marcadores repercutiendo así en mayor tiempo libre de enfermedad y mayor sobrevida. La adición de trastuzumab, un anticuerpo monoclonal dirigido contra HER2/neu ha sido útil en pacientes con expresión de este marcador, mientras que el uso de moduladores del receptor de estrógenos ha permitido disminuir la probabilidad de recaída con un impacto en la sobrevida global en las mujeres con tumores que sobreexpresan receptores hormonales.

Sin embargo aun existen pacientes que a pesar de recibir terapias concretas no logran beneficiarse por completo a dichos tratamientos. Se han estudiado los mecanismos de resistencia que incluyen la participación de las moléculas GRP78 y BIK, lo que las hace candidatas a biomarcadores de respuesta.

La respuesta patológica completa en cáncer de mama posterior a tratamiento neoadyuvante es un marcador temprano de sobrevida y período libre de enfermedad, por lo que los marcadores que puedan predecir la respuesta al tratamiento neoadyuvante pueden ser utilizados para dirigir terapias más efectivas y evitar aquellas tóxicas que no ofrecen beneficio en grupos específicos de pacientes.

Así mismo el estudio de estos marcadores ayudará al mejor conocimiento de los mecanismos biológicos relacionados con el cáncer de mama. En particular el descubrimiento de que BIK es un mediador de la apoptosis provocada por inanición a estrógenos, el cual puede representar un mecanismo molecular endocrino de resistencia a tratamiento en cáncer de mama.

VIII. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Cuál es la diferencia de expresión de GRP78/BIK entre las pacientes con tumores de mama localmente avanzados previo a quimioterapia neoadyuvante y su relación con el porcentaje de respuesta alcanzado?

IX. OBJETIVO PRINCIPAL

Determinar la expresión proteica mediante inmunohistoquímica de GRP78 y BIK del tejido mamario tumoral de las pacientes con tumores localmente avanzados previo a quimioterapia neoadyuvante.

Objetivos secundarios

- Determinar mediante inmunohistoquímica la expresión proteica de GRP78 y BIK en tejido tumoral de pacientes con cáncer de mama localmente avanzado previo a la terapia neoadyuvante.
- Determinar la correlación de expresión de GRP78 y BIK y el porcentaje de respuesta en el tamaño tumoral.
- Medir la proporción de expresión proteica de GRP78 y BIK en los grupos luminal A, B, Basal y HER2 neu +. [48,49]
- Medir la proporción de expresión de GRP78 y BIK de acuerdo al tamaño inicial de la lesión y al estadio clínico inicial de las pacientes.
- Medir la proporción de expresión de GRP78 y BIK de acuerdo al tipo histológico del tumor.

X. HIPÓTESIS

Las pacientes con tumores de mama localmente avanzados con respuesta patológica completa posterior a quimioterapia neoadyuvante expresaran menor cantidad de GRP78 y mayor expresión de BIK.

La hipótesis estadística para lo anterior:

Hipótesis nula

Las pacientes con tumores de mama localmente avanzados con respuesta patológica completa posterior a quimioterapia neoadyuvante expresaran igual cantidad de GRP78 y BIK.

Hipótesis alterna

Las pacientes con tumores de mama localmente avanzados con respuesta patológica completa posterior a quimioterapia neoadyuvante expresaran diferente cantidad de GRP78 y BIK.

XI. MATERIAL Y MÉTODOS

IX.1 Diseño

Se trata de un estudio observacional, analítico, de cohorte retrospectivo.

IX.2 Sitio

Se realizó en el Hospital Juárez de México, perteneciente a la Secretaría de Salud y en la Unidad de Investigación Médica en Genética Humana del Hospital de Pediatría del CMN SXXI, IMSS.

IX.3 Período

Se analizaron los expedientes de los casos de cáncer de mama del 1 de enero de 2010 a diciembre de 2010

IX.4 Material

Libros de reportes de patología.

Expedientes clínicos de las pacientes.

Bloques de parafina y laminillas de éstos.

Kits de inmunohistoquímica para las proteínas GRP78 y BIK

Computadora para captura de la información

Programa estadístico SPSS versión 17, para análisis de los datos

IX.4.1 Criterios de selección

Inclusión:

Mujeres mayores a 18 años

Muestras de tejido (biopsia) de mujeres con confirmación histopatológica de cáncer de mama de estadios clínicos IIIA, IIIB, IIIC y aquellas con T3 N0 M0.

Tejidos preservados en parafina y laminillas de mujeres con diagnóstico de cáncer de mama de estadios clínicos IIIA, IIIB, IIIC y aquellas con T3 N0 M0.

Que sean Mexicanas en por lo menos tres generaciones.

Exclusión

Muestras mal preservadas o en las que técnicamente no se pueda realizar la tinción de inmunohistoquímica.

Pacientes que hayan recibido tratamiento previo para cáncer de mama.

Expedientes incompletos

Mujeres embarazadas o que sean diagnosticadas en los siguientes 12 meses de haber terminado un evento obstétrico (parto, cesárea o aborto).

Eliminación

Mujeres que dejen de acudir a recibir tratamiento y por tanto se desconozca la evolución del padecimiento.

IX.5 Métodos

Se realizó cuantificación de la expresión proteica de BIK y GRP78 mediante inmunohistoquímica, en tejido preservado en bloques de parafina y laminillas de pacientes con diagnóstico de cáncer de mama.

IX.5.1 Técnica de muestreo

Se hará un muestreo no probabilístico de casos consecutivos, por la forma de recolección de información se trató de un trabajo retrospectivo.

IX.5.2 Metodología

1. Se realizó una revisión de los libros de patología para identificar los casos de cáncer de mama el período del 1 de enero del 2010 al 31 de diciembre del 2010.
2. Se realizó un listado de los casos que incluya el número de biopsia (BJ) y el número de expediente.
3. Se buscó los expedientes clínicos en el archivo clínico del hospital.
4. Se eliminaron los casos que no correspondieron a tumores localmente avanzados, aquellos que no recibieron tratamiento en la unidad, los que tenían información clínica completa y los expedientes no encontrados.
5. Se realizó la captura de las variables clínicas y demográficas de los expedientes en una hoja de cálculo en una computadora personal.
6. De los casos seleccionados, se buscó material en patología útil para análisis.
7. Se buscaron los bloques de parafina de los casos y se realizaron cortes y laminillas para tinción de inmunohistoquímica para GRP78 y BIK en los que técnicamente fue posible.

8. Se realizó el análisis de los datos y se elaboraron tablas de frecuencia y gráficos descriptivos.

IX.5.3 Análisis estadístico

El análisis descriptivo se realizó de acuerdo con la escala de medición de las variables; para las cualitativas frecuencias simples y porcentajes. Para las cuantitativas medidas de tendencia central y de dispersión, de acuerdo con el tipo de distribución (con o sin distribución normal). La normalidad se obtuvo mediante prueba de Kolmogorof-Smirnoff.

Análisis inferencial: Se utilizó U de Man-Whitney y prueba de correlación de Spearman. Se asignaron los valores de p a dos colas y se consideró $p=0.05$ como significativa.

Se utilizó el programa estadístico SPSS versión 17 para todos los análisis

IX 5.4 Descripción de variables

1. Variable dependiente

Respuesta patológica completa

Definición Conceptual:

Ausencia de tejido neoplásico tanto en mama como en ganglios axilares en el espécimen de mastectomía posterior a haber recibido tratamiento neoadyuvante.

Definición Operacional:

Reporte de patología negativo a neoplasia en mama y ganglios axilares en el producto de mastectomía.

Tipo de Variable:

Nominal, dicotómica.

Unidades de medición

Completa, incompleta

2. Variables independientes

BIK

Definición Conceptual:

La proteína BIK pertenece a la familia de BCL2 y es pro apoptótica. Comparte el dominio BH3 de la proteína BCL2

Definición Operacional:

La intensidad de la tinción se gradificará en 1, leve; 2, moderada; 3, fuerte. El porcentaje de células en 1, 0 < 10%; 2, 10 a <50%; 3, 50-100%. Se considerará positivo si en ambas mediciones se alcanza un puntaje de 2 o más. [53].

Tipo de Variable:

Nominal, dicotómica.

Unidades de medición

Positivo ó negativo

GRP78

Definición Conceptual:

También conocida como inmunoglobulina unidora (Binding immunoglobulin protein, BiP) es un chaperon molecular que utiliza el ciclo de ATP/ADP para regular el doblamiento proteico mediante. Es una proteína de choque térmico de 78kDa. HSPA5 es el gen humano que la codifica.

Definición Operacional:

La intensidad de la tinción se gradificará en 1, leve; 2, moderada; 3, fuerte. El porcentaje de células en 1, 0 < 10%; 2, 10 a <50%; 3, 50-100%. Se considerará positivo si en ambas mediciones se alcanza un puntaje de 2 o más. [54,55]

Tipo de Variable:

Nominal, dicotómica.

Unidades de medición

Positivo ó negativo

3. Variables demográficas y clínicas

Edad.

Definición Conceptual:

Edad: (Del lat. *Aetas*, *-ātis*).

Tiempo que ha vivido una persona o ciertos animales o vegetales.

Definición Operacional:

El número de años cumplidos, referidos por el paciente desde su nacimiento a la fecha del diagnóstico de cáncer de mama.

Tipo de Variable:

Cuantitativa, continua, de razón.

Unidades de medición

Años

Menopausia

Definición Conceptual:

Cese permanente de la menstruación. Decremento profundo y permanente en la síntesis ovárica de estrógenos.

Definición Operacional:

Se definirán como post menopausia a aquellas pacientes que tengan alguno de los siguientes criterios:

Antecedente de ooforectomía bilateral.

Mayores a 60 años

Menores de 60 años que tengan por lo menos 12 meses de amenorrea y cifras de FSH y estradiol en el rango postmenopáusico.

Tipo de Variable:

Cualitativa, nominal dicotómica.

Unidades de medición

Premenopasia, postmenopausia

Antecedente de uso de anticonceptivos

Definición Conceptual:

Historia de uso de medicamentos hormonales con la finalidad de prevenir embarazo.

Definición Operacional:

Reporte en el expediente de historia de uso de anticonceptivos de tipo hormonal por cualquier vía (transdérmica, oral, inyectable).

Tipo de Variable:

Cualitativa, nominal dicotómica.

Unidades de medición

Positivo o negativo

Antecedente de uso de terapia hormonal de reemplazo

Definición Conceptual:

Historia de uso de hormonales durante el período de perimenopausia y menopausia con la finalidad de tratar los efectos de la menopausia.

Definición Operacional:

Reporte en el expediente de historia de uso de de terapia hormonal de reemplazo por cualquier vía (transdérmica, oral, inyectable).

Tipo de Variable:

Cualitativa, nominal dicotómica.

Unidades de medición

Positivo o negativo

Antecedente de biopsias en mama afectada

Definición Conceptual:

Procedimiento quirúrgico invasivo con la finalidad de obtener tejido para fines diagnósticos y/o terapéuticos.

Definición Operacional:

Reporte en el expediente de historia de biopsias en la mama afectada no relacionadas con el evento oncológico actual.

Tipo de Variable:

Cualitativa, nominal dicotómica.

Unidades de medición

Positivo o negativo

Antecedente familiar de cáncer de mama u ovario.

Definición Conceptual:

Historia familiar de cáncer de mama u ovario.

Definición Operacional:

Reporte en el expediente de historia familiar de cáncer de mama u ovario afectada no relacionadas con el evento oncológico actual.

Tipo de Variable:

Cualitativa, nominal dicotómica.

Unidades de medición

Positivo o negativo

Edad de primer parto.

Definición Conceptual:

Años cumplidos al momento de término de evento obstétrico que de por resultado un hijo vivo.

Definición Operacional:

Reporte en el expediente de la edad en la que la paciente tuvo su primer hijo vivo no importando la vía de terminación de embarazo.

Tipo de Variable:

Cuantitativa, cuantitativa, de razón.

Unidades de medición

Años

Antecedente de lactancia.

Definición Conceptual:

Período de la vida de los mamíferos en el que se alimentan solo de leche materna.

Definición Operacional:

Reporte en el expediente de haber otorgado lactancia materna al menos un año.

Tipo de Variable:

Nominal, Cualitativa, dicotómica.

Unidades de medición

Positiva ó negativa

Antecedente de uso de alcohol.

Definición Conceptual:

Ingesta de bebidas que contienen alcohol.

Definición Operacional:

Reporte en el expediente de haber consumido alcohol durante su vida.

Tipo de Variable:

Nominal, Cualitativa, dicotómica.

Unidades de medición

Positiva ó negativa

Quimioterapia empleada.

Definición Conceptual:

Utilización de medicamentos que interfieren en el ciclo celular administradas de forma sistémica.

Definición Operacional:

Reporte en el expediente de quimioterapia basada en antraciclinas, uso de taxano previo a la cirugía.

Tipo de Variable:

Nominal, Cualitativa, politómica.

Unidades de medición

Basada en antraciclinas con o sin taxanos, otro tipo de quimioterapia.

Número de ciclos de quimioterapia.

Definición Conceptual:

Numero de eventos de quimioterapia

Definición Operacional:

Reporte en el expediente de ciclos completos de quimioterapia recibidos previos al tratamiento quirúrgico.

Tipo de Variable:

Cuantitativa, Continua, de razón.

Unidades de medición

Número de ciclos.

Uso de radioterapia.

Definición Conceptual:

Aplicación de radiaciones a una región anatómica como parte del tratamiento integral del cáncer.

Definición Operacional:

Reporte en el expediente de haber utilizado radioterapia en cualquiera de sus modalidades previo al evento quirúrgico.

Tipo de Variable:

Nominal, cualitativa, dicotómica.

Unidades de medición

Positivo o negativo.

Tipo de tumor de acuerdo a la clasificación molecular.

Definición Conceptual:

Se distinguen cuatro clases principales de acuerdo a la expresión génica. De acuerdo a la clasificación de Perou corresponden a triple negativo (estrógeno, progesterona y HER2 negativos), luminal A (estrógeno positivo e histológicamente de bajo grado), luminal B (estrógeno y HER2 positivos) y HER2 que corresponde a alta expresión del gen ERBB2 y receptores para estrógeno y progesterona negativos.[56]

Definición Operacional:

De acuerdo al patrón de expresión inmunohistoquímica de los receptores hormonales (estrógeno y/o progesterona), Her2 o ausencia de éstos los tumores se clasifican de la siguiente forma:

Luminal A: Positivo en al menos el 5% para estrógenos y/o progesterona y negativos a Her2

Luminal B: Positivo en al menos el 5% para estrógenos y/o progesterona y positivos a Her2

Triple negativo: Negativos a estrógenos y/o progesterona y negativos a Her2

Her 2: Negativos a estrógenos y/o progesterona y positivos a Her2

Tipo de Variable:

Nominal, cualitativa, politómica.

Unidades de medición

Triple negativo, luminal A, luminal B, Her2.

Tipo histológico.

Definición Conceptual:

Clasificación histopatológica de los tumores de mama, la cual toma en cuenta las características morfológicas de los tejidos.

Definición Operacional:

De acuerdo al reporte de la biopsia en la que se realizó el diagnóstico de cáncer de mama de acuerdo a la clasificación de la OMS para tumores malignos de mama.

Tipo de Variable:

Nominal, cualitativa, politómica.

Unidades de medición

Grado nuclear.

Definición Conceptual:

También se conoce como pleomorfismo nuclear y se refiere a las características morfológicas de las células. Incluye tres grados. En el grado 1 el núcleo celular es uniforme en tamaño, forma, relativamente pequeño, cromatina dispersa y sin prominencia del nucléolo. En el grado II el núcleo celular es pleomorfo, tienen nucléolo y son de tamaño intermedio. En el grado 3 el núcleo celular es relativamente grande, tiene un nucléolo prominente ó múltiples nucléolos, cromatina gruesa y variabilidad en el tamaño y forma.

Definición Operacional:

De acuerdo al reporte de patología de la biopsia en la que se realizó el diagnóstico de cáncer de mama la escrita por el patólogo revisor.

Tipo de Variable:

Nominal, cualitativa, politómica.

Unidades de medición

Grados 1, 2, 3

Invasión vascular.

Definición Conceptual:

Presencia de émbolos tumorales dentro de los vasos sanguíneos.

Definición Operacional:

De acuerdo al reporte de patología de la biopsia en la que se realizó el diagnóstico de cáncer de mama la escrita por el patólogo revisor.

Tipo de Variable:

Nominal, cualitativa, dicotómica.

Unidades de medición

Presente, ausente

Invasión linfática.

Definición Conceptual:

Presencia de émbolos tumorales dentro de los vasos linfáticos.

Definición Operacional:

De acuerdo al reporte de patología de la biopsia en la que se realizó el diagnóstico de cáncer de mama la escrita por el patólogo revisor.

Tipo de Variable:

Nominal, cualitativa, dicotómica.

Unidades de medición

Presente, ausente

Involucro de piel.

Definición Conceptual:

Presencia clínica de tumor que invada la piel, piel de naranja, o invasión linfática de la dermis.

Definición Operacional:

De acuerdo al reporte del expediente y de patología de la biopsia en la que se realizó el diagnóstico de cáncer de mama la escrita por el patólogo revisor.

Tipo de Variable:

Nominal, cualitativa, dicotómica.

Unidades de medición

Presente, ausente

Tamaño tumoral.

Definición Conceptual:

Medida en centímetros del eje mayor del tumor.

Definición Operacional:

De acuerdo al reporte del expediente el tamaño del tumor de mama previo a cualquier tratamiento

Tipo de Variable:

Cuantitativa, continua, razón.

Unidades de medición

centímetros

Estado axilar.

Definición Conceptual:

Invasión de células tumorales del cáncer de mama a los ganglios axilares ipsilaterales

Definición Operacional:

De acuerdo al reporte del expediente el involucro ganglionar axilar ipsilateral al tumor de mama previo a cualquier tratamiento y en concordancia por la clasificación propuesta por la NCCN

Tipo de Variable:

Cuantitativa, .

Unidades de medición

Nx, N0, N1, N2a N2b, N3a, N3b, N3c

Estadio clínico.

Definición Conceptual:

Corresponde al estadio clínico de acuerdo a la clasificación NCCN. (apendice1)

Definición Operacional:

De acuerdo al reporte del expediente el involucro ganglionar axilar ipsilateral al tumor y al tamaño de éste último previo a cualquier de acuerdo a la clasificación de la NCCN (apendice

Tipo de Variable:

Categorica, .

Unidades de medición

ECIIB, EC IIIA, ECIIB, ECIIC

IX.5.6 Recursos Humanos

La recolección de muestras y revisión de expedientes fue realizada por Miguel Corres Molina, tesista.

El procesamiento de muestras y técnicas de inmunohistoquímica fueron realizadas por el servicio de patología del Hospital Juárez de México, Secretaría de Salud.

El análisis de los resultados fue realizado por Miguel Corres Molina, apoyado por el comité tutorial del proyecto; Dr. Xicotencatl Jiménez Villanueva, Dra. Eunice López Muñoz y Dr. Normand García en colaboración de los médicos del servicio de Oncología y Patología del Hospital Juárez de México.

La revisión de laminillas fue realizado por la Dra. Evelyn Cortes Gutierrez, Jefe del Servicio de Patología del Hospital Juárez de México.

XII. CONSIDERACIONES ÉTICAS

Este protocolo ha sido diseñado respetando los principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos adoptados en la Declaración de Helsinki de la Asociación Médica mundial, promulgado en 1964, y enmendada en Tokio en 1975. Además este protocolo se apega a la 35ª Asamblea Médica Mundial de Venecia, Italia en 1983, la 41ª Asamblea Médica Mundial de Hong Kong en 1989, la 48ª Asamblea General Somerset West en Sudáfrica 1996, y la 52ª Asamblea General Edimburgo, Escocia en octubre 2000.

El protocolo será sometido a aprobación por el comité local de investigación y ética del Hospital Juárez de México y al comité nacional de investigación del IMSS.

De acuerdo al reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud se trata de un estudio sin riesgo, dado que únicamente se utilizará tejido proveniente de la biopsia realizada como procedimiento de rutina para la confirmación diagnóstica de cáncer de mama e información proveniente del expediente clínico. No se hará intervención en el tratamiento de las pacientes ni se modificara éste.

A la letra dicho reglamento dice:

ARTICULO 17.- Se considera como riesgo de la investigación a la probabilidad de que el sujeto de investigación sufra algún daño como consecuencia inmediata o tardía del estudio. Para efectos de este Reglamento, las investigaciones se clasifican en las siguientes categorías;

I.- Investigación sin riesgo: Son estudios que emplean técnicas y métodos de investigación documental retrospectivos y aquéllos en los que no se realiza ninguna intervención o modificación intencionada en las variables fisiológicas, psicológicas y sociales de los individuos que participan en el estudio, entre los que se consideran: cuestionarios, entrevistas, revisión de expedientes clínicos y otros, en los que no se le identifique ni se traten aspectos sensitivos de su conducta;

En cuanto a la carta de consentimiento informado basándonos en el mismo reglamento que a la letra dice:

ARTICULO 23.- En caso de investigaciones con riesgo mínimo, la Comisión de Ética, por razones justificadas, podrá autorizar que el consentimiento informado se obtenga sin formularse escrito, y tratándose de investigaciones sin riesgo, podrá dispensar al investigador la obtención del consentimiento informado.

Se solicitará a la exención del mismo ya que al tratarse de una revisión retrospectiva de la información y por la patología que se trate algunos casos pudiesen haber fallecido o no ser localizables para la obtención del mismo.

XIII. RESULTADOS

Se realizó la revisión de reportes de patología del Hospital Juárez de México del período comprendido del 1 de enero de 2010 al 31 de diciembre del 2010. Se encontraron 251 casos de cáncer de mama, de los cuales en archivo solo fue posible localizar 76 expedientes. Sólo 27 casos de tumores localmente avanzados tuvieron información clínica y patológica completa. De éstos casos se realizó inmunohistoquímica a 15 de ellos ya que en el resto no fue técnicamente posible o no se encontraron bloques de parafina. (fig 1 y 2)

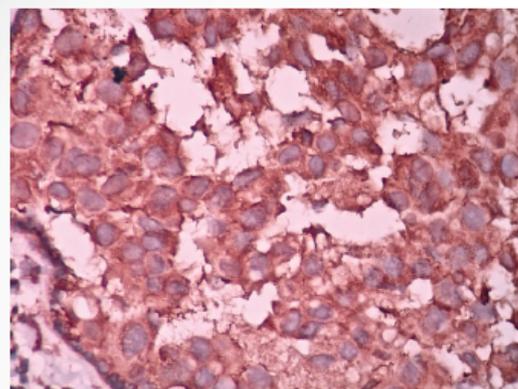


Fig. 1 Expresión de BIK en un Carcinoma de conductos mamarios de alto grado (40X)

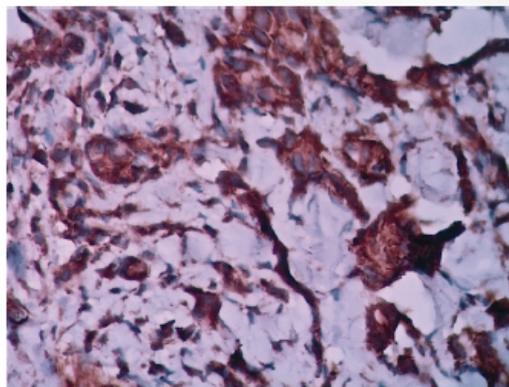


Fig. 2 Expresión de GRP en un Carcinoma de conductos de alto grado (20x).

25 casos correspondieron a carcinoma ductal infiltrante sin patrón específico. Solo se reporta un caso de variante medular y otro variante mucinoso.

El rango de edad de las pacientes abarco desde los 31 hasta los 78 años con una mediana de 46 años.

Todos los casos fueron localmente avanzados. El 70.4 % correspondió a estadio clínico IIIA, 22.2% IIB y solo un caso EC IIIC y un caso estadio IV por metástasis óseas el cual recibió neoadyuvancia y fue posteriormente llevado a mastectomía.

En cuanto al tamaño del tumor previo al inicio de quimioterapia, la mediana fue de 9 cms con un rango de 4 hasta 21 cms. 24 casos fueron T3 (88.9%) y solo dos casos de T4b y uno de T4d.

El patrón de inmunohistoquímica predominante fue el Luminal A representado por el 59%, Seguido del Triple negativo representado por el 33.3%. Solo hubo un caso de HER2 y uno de Luminal B. (Tabla 1)

Todas las pacientes recibieron esquemas de neoadyuvancia basados en antraciclinas. 8 (29%) de ellas recibieron adicionalmente radioterapia preoperatoria por presentar enfermedad estable.

La mediana de respuesta expresada en porcentaje de acuerdo al tumor inicial y al residual de la pieza de mastectomía en la muestra fue de 79.28% con una mínima de 11% y sólo un caso con respuesta patológica completa (3.7%).

No hubo diferencias estadísticamente significativas en la mediana de respuesta patológica final comparando de acuerdo a patrón de inmunohistoquímica, al estadio clínico, al requerir radioterapia preoperatoria. (Tabla 2)

La mediana de expresión en porcentaje de las moléculas de BIK y GRP78 de las muestras analizadas (n=15) fue de 40 y 80% respectivamente.

Se realizó comparación en la expresión de BIK y GRP78 de acuerdo al tipo de patrón de expresión de inmunohistoquímica, al estadio clínico, al haber requerido o no radioterapia preoperatoria y al tamaño tumoral. Aunque BIK se expresó en mayor proporción en los casos con factores de alto riesgo, ninguna de las comparaciones fueron estadísticamente significativas. Con respecto a GRP 78 la expresión fue similar en todas las comparaciones (Tabla 3).

Se realizó una correlación entre la respuesta patológica expresada en porcentaje de las piezas de mastectomía y la expresión de BIK y GRP78. Ambas fueron pobres sin encontrar significancia estadística. (fig 7-8)

El caso de carcinoma ductal infiltrante variante mucinosa no expresó BIK ni GRP78. (figs 3-6)

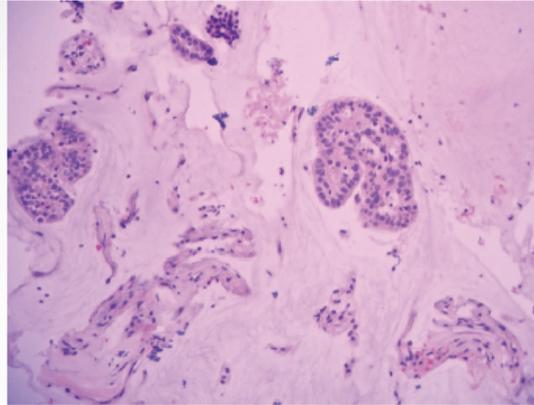


Fig. 3 Carcinoma de conductos mamarios variante mucinosa. (10x).

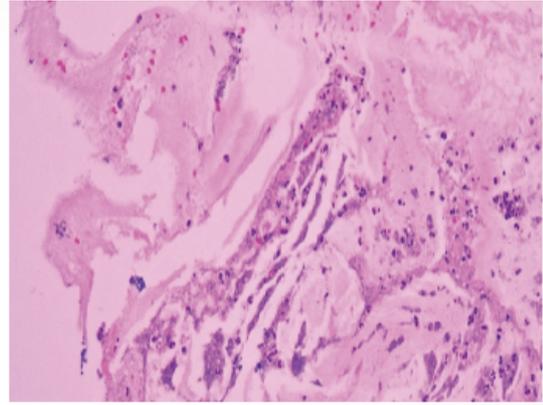


Fig. 4 Carcinoma de Conductos mamarios variante mucinosa (20x).

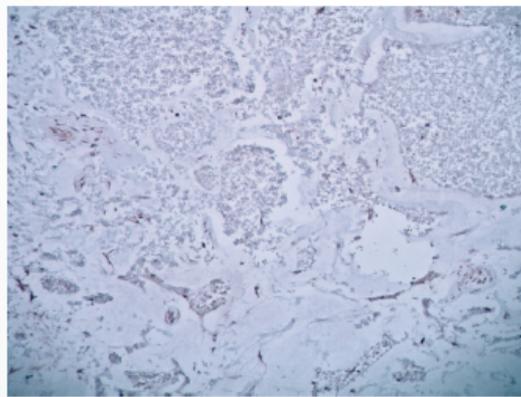


Fig. 5 Carcinoma de conductos mamarios variante mucinosa con nula expresión de BIK. (10x).

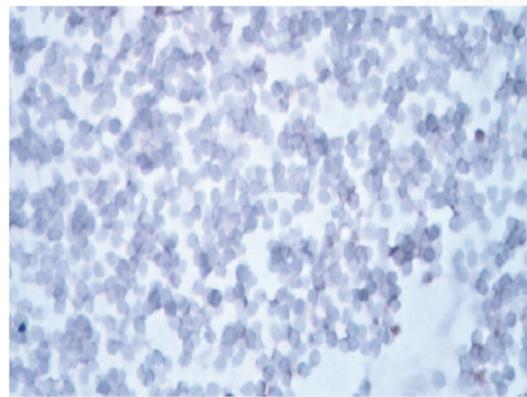


Fig.6 Carcinoma de conductos mamarios variante mucinosa con nula expresión de GRP 78. (40x).

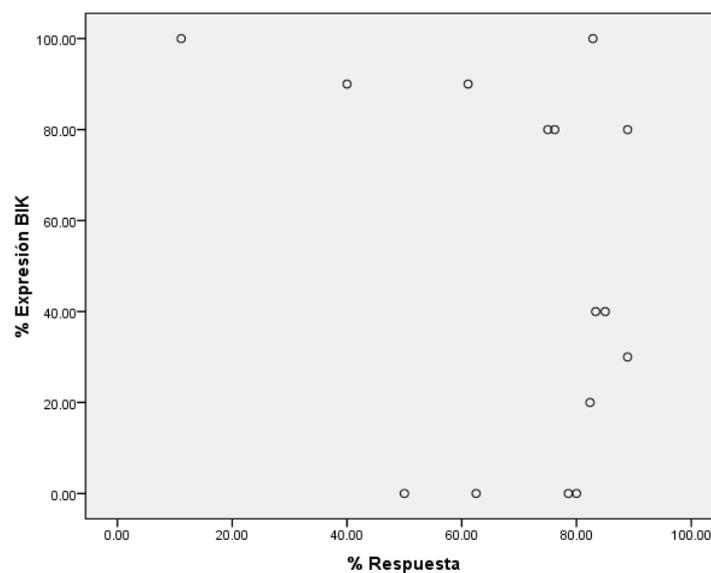


Fig 7. Correlación entre el % de respuesta y el % de expresión de BIK

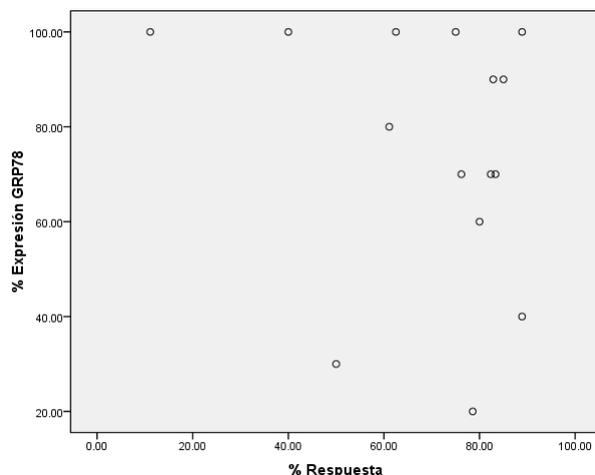


Fig 8. Correlación entre el % de respuesta y el % de expresión de GRP78

Tabla 1. Características de las pacientes con tumor localmente avanzado	
Edad	(n= 27, rango 31-78)
Mediana	46
percentil 25	42
percentil 75	54
Estadio Clínico	n (%)
IIB	6 (22.2)
IIIA	19 (70.4)
IIIC	1 (3.7)
IV	1 (3.7)
Patrón de Inmunohistoquímica	n (%)
Luminal A	16 (59.3)
Luminal B	1 (3.7)
Triple negativo	9 (33.3)
HER2 (+)	1 (3.7)
Tamaño tumor (cm)	9 (4-21)
Tumor	n (%)
T3	24 (88.9)
T4B	2 (7.4)
T4D	1 (3.7)
Radioterapia preoperatoria	n (%)
Sí	19 (70.4)
No	8 (29.6)

Tabla 2. Respuesta patológica (%) posterior a Neoadyuvancia	
n= 27	Mediana (rango) *
Global	79 (11-100)
Edad	
Menores de 40 años	78 (33-100)
Mayores de 40 años	80 (11-96)
Estadio Clínico	
IIB	51(11-88)
IIIA	80 (33-100)
Patrón de Inmunohistoquímica	
Luminal A	76 (11-93)
Triple negativo	82 (33-96)
Radioterapia preoperatoria	
Sí	69 (11-96)
No	80 (33-100)
<i>* No hubo diferencias estadísticamente significativas. U Mann Whitney</i>	

Tabla 3. Expresión de BIK y GRP 78 (%)		
n= 15	BIK*	GRP78*
	Mediana (rango)	Mediana (rango)
Global	40 (0-100)	80 (0-100)
Edad		
Menores de 40 años	45 (0-90)	50 (20-80)
Mayores de 40 años	40(0-100)	90 (30-100)
Estadio Clínico		
IIB	90(0-100)	100 (90-100)
IIIA	40(0-90)	70 (20-100)
Patrón de Inmunohistoquímica		
Luminal A	40 (0-100)	90 (20-100)
Triple negativo	40 (20-80)	70 (40-100)
Radioterapia preoperatoria		
Sí	80 (0-100)	100 (70-100)
No	40 (0-100)	75 (20-100)
<i>* No hubo diferencias estadísticamente significativas. U Mann Whitney</i>		

XIV. DISCUSION

El cáncer de mama localmente avanzado continua siendo la forma predominante de presentación en nuestro medio. En este trabajo se analizan 27 casos con información clínica y patológica completa desde el momento del diagnóstico, el tratamiento sistémico (neoadyuvancia) y hasta el tratamiento locorregional completos (mastectomía). Llama la atención que la mediana de edad es menor a la reportada a nivel nacional (2).

Los tumores triple negativo representaron el 33% lo cual es concordante con la mediana de edad, pues se ha visto que este patrón de inmunohistoquímica es más frecuente en mujeres jóvenes. (3)

El 30% de las pacientes de la presente muestra recibieron radioterapia preoperatoria, lo que supone tumores resistentes a la quimioterapia, aunque también se explica por el gran tamaño de presentación.

Aunque no hay diferencia estadística, se observa lo reportado en otras series en cuanto a mayor respuesta en el grupo de pacientes con tumores triple negativos. Así mismo las pacientes que requirieron radioterapia preoperatoria presentaron respuestas patológicas menores en comparación con su contraparte que no requirieron dicho tratamiento.

La expresión de BIK y GRP78 fue muy heterogénea en el grupo estudiado, los pocos casos no permiten encontrar una relación con los factores del tumor o del paciente. Sin embargo llama la atención que en el caso de tumor mucinoso la expresión de ambas proteínas esta ausente. Así mismo sin alcanzar significancia estadística llama la atención que los casos con factores conocidos como de alto riesgo sobreexpresan a BIK lo que sugiere la sobreexpresión de esta proteína en tumores con mayor agresividad. Se conoce que GRP78 se sobreexpresa en tumores de alta agresividad y en el presente estudio se encuentra de manera consistente elevado en prácticamente todos los casos con excepción del tumor

mucinoso que se sabe clínicamente es de comportamiento menos agresivo que sus contrapartes invasoras.

La gran heterogeneidad en la respuesta patológica y los pocos casos a los que se les realizó inmunohistoquímica no permitieron encontrar significancia en la correlación de estas variables, pero en las figuras 7 y 8 se puede observar una tendencia entre la mayor expresión de estas proteínas con mayor respuesta patológica. En el supuesto que estas proteínas se encuentren elevadas en los tumores más agresivos, esto es con mayor replicación, sustenta su asociación con mayor respuesta patológica posterior al uso de quimioterapia neoadyuvante. Se requiere seguimiento a estos casos para saber si de la misma forma se puede encontrar una relación con el período libre de enfermedad y la sobrevida.

Se requiere ampliar el tamaño de muestra e incluir otros tumores en el espectro de agresividad para poder obtener conclusiones más satisfactorias.

XV. CONCLUSIONES

- 1) Los tumores localmente avanzados continúan siendo la forma predominante de presentación en nuestro hospital.
- 2) La mediana de edad es menor a la reportada a nivel nacional y ésta se correlaciona con el fenotipo triple negativo predominante en esta muestra.
- 3) La respuesta patológica completa no se observa con frecuencia, esto debido al gran tamaño inicial de las lesiones.
- 4) La heterogeneidad en la respuesta patológica y los pocos casos donde fue posible realizar las pruebas de inmunohistoquímica no permiten encontrar correlación estadísticamente significativa.
- 5) GRP78 se sobreexpresa de manera consistente en los tumores localmente avanzados
- 6) BIK presenta patrones de expresión de forma heterogénea y aunque sin alcanzar significancia estadística es consistente con tumores que clínicamente se conocen como más agresivos.
- 7) Se requiere mayor número de casos que representen todos los espectros de la enfermedad para conocer la relación que pudieran tener BIK y GRP78 en el comportamiento clínico del cáncer de mama esporádico

XVI. REFERENCIAS

1. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/es/index.html>. 2010. Ref Type: Internet Communication
2. http://www.inegi.org.mx/lib/olap/general_ver4/MDXQueryDatos.asp?#Regreso&c=11144. 2010. Ref Type: Internet Communication
3. Cardenas Sanchez Jesus, Sandoval Guerrero Fransisco: **Consenso nacional sobre diagnóstico y tratamiento del cáncer mamario. GAMO 2010, 7.**
4. Green FL PDFlea: **Part VII. Breast.** In *AJCC cancer staging handbook*. Edited by Anonymous. New York: Springer; 2002:255-281.
5. Seidman H, Gelb SK, Silverberg E, LaVerda N, Lubera JA: **Survival experience in the Breast Cancer Detection Demonstration Project.** *CA Cancer J Clin* 1987, **37**: 258-290.
6. Hortobagyi GN, de la Garza SJ, Pritchard K, Amadori D, Haidinger R, Hudis CA *et al.*: **The global breast cancer burden: variations in epidemiology and survival.** *Clin Breast Cancer* 2005, **6**: 391-401.
7. Balawajder I, Antich PP, Boland J: **An analysis of the role of radiotherapy alone and in combination with chemotherapy and surgery in the management of advanced breast carcinoma.** *Cancer* 1983, **51**: 574-580.
8. Conte PF, Alama A, Bertelli G, Canavese G, Carnino F, Catturich A *et al.*: **Chemotherapy with estrogenic recruitment and surgery in locally advanced breast cancer: clinical and cytokinetic results.** *Int J Cancer* 1987, **40**: 490-494.
9. Jacquillat C, Baillet F, Weil M, Auclerc G, Housset M, Auclerc M *et al.*: **Results of a conservative treatment combining induction (neoadjuvant) and consolidation chemotherapy, hormonotherapy, and external and interstitial irradiation in 98 patients with locally advanced breast cancer (IIIA-IIIB).** *Cancer* 1988, **61**: 1977-1982.
10. Perloff M, Lesnick GJ, Korzun A, Chu F, Holland JF, Thirlwell MP *et al.*: **Combination chemotherapy with mastectomy or radiotherapy for stage III breast carcinoma: a Cancer and Leukemia Group B study.** *J Clin Oncol* 1988, **6**: 261-269.

11. Rubens RD, Sexton S, Tong D, Winter PJ, Knight RK, Hayward JL: **Combined chemotherapy and radiotherapy for locally advanced breast cancer.** *Eur J Cancer* 1980, **16**: 351-356.
12. Swain SM, Sorace RA, Bagley CS, Danforth DN, Jr., Bader J, Wesley MN *et al.*: **Neoadjuvant chemotherapy in the combined modality approach of locally advanced nonmetastatic breast cancer.** *Cancer Res* 1987, **47**: 3889-3894.
13. Valagussa P, Zambetti M, Bignami P, de Lena M, Varini M, Zucali R *et al.*: **T3b-T4 breast cancer: factors affecting results in combined modality treatments.** *Clin Exp Metastasis* 1983, **1**: 191-202.
14. Cocconi G, di Blasio B, Bisagni G, Alberti G, Botti E, Anghinoni E: **Neoadjuvant chemotherapy or chemotherapy and endocrine therapy in locally advanced breast carcinoma. A prospective, randomized study.** *Am J Clin Oncol* 1990, **13**: 226-232.
15. de Lena M, Varini M, Zucali R, Rovini D, Viganotti G, Valagussa P *et al.*: **Multimodal treatment for locally advanced breast cancer. Result of chemotherapy-radiotherapy versus chemotherapy-surgery.** *Cancer Clin Trials* 1981, **4**: 229-236.
16. Gardin G, Rosso R, Campora E, Repetto L, Naso C, Canavese G *et al.*: **Locally advanced non-metastatic breast cancer: analysis of prognostic factors in 125 patients homogeneously treated with a combined modality approach.** *Eur J Cancer* 1995, **31A**: 1428-1433.
17. Hortobagyi GN, Ames FC, Buzdar AU, Kau SW, McNeese MD, Paulus D *et al.*: **Management of stage III primary breast cancer with primary chemotherapy, surgery, and radiation therapy.** *Cancer* 1988, **62**: 2507-2516.
18. Spanos WJ, Jr., Montague ED, Fletcher GH: **Late complications of radiation only for advanced breast cancer.** *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1980, **6**: 1473-1476.
19. Touboul E, Lefranc JP, Blondon J, Ozsahin M, Mauban S, Schwartz LH *et al.*: **Multidisciplinary treatment approach to locally advanced non-inflammatory breast cancer using chemotherapy and radiotherapy with or without surgery.** *Radiother Oncol* 1992, **25**: 167-175.

20. Fisher B, Brown A, Mamounas E, Wieand S, Robidoux A, Margolese RG *et al.*: **Effect of preoperative chemotherapy on local-regional disease in women with operable breast cancer: findings from National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project B-18.** *J Clin Oncol* 1997, **15**: 2483-2493.
21. Lippman ME, Sorace RA, Bagley CS, Danforth DW, Jr., Lichter A, Wesley MN: **Treatment of locally advanced breast cancer using primary induction chemotherapy with hormonal synchronization followed by radiation therapy with or without debulking surgery.** *NCI Monogr* 1986, 153-159.
22. Schwartz GF, Cantor RI, Biermann WA: **Neoadjuvant chemotherapy before definitive treatment for stage III carcinoma of the breast.** *Arch Surg* 1987, **122**: 1430-1434.
23. Bartelink H, Rubens RD, van der SE, Sylvester R: **Hormonal therapy prolongs survival in irradiated locally advanced breast cancer: a European Organization for Research and Treatment of Cancer Randomized Phase III Trial.** *J Clin Oncol* 1997, **15**: 207-215.
24. Herrada J, Iyer RB, Atkinson EN, Sneige N, Buzdar AU, Hortobagyi GN: **Relative value of physical examination, mammography, and breast sonography in evaluating the size of the primary tumor and regional lymph node metastases in women receiving neoadjuvant chemotherapy for locally advanced breast carcinoma.** *Clin Cancer Res* 1997, **3**: 1565-1569.
25. Feldman LD, Hortobagyi GN, Buzdar AU, Ames FC, Blumenschein GR: **Pathological assessment of response to induction chemotherapy in breast cancer.** *Cancer Res* 1986, **46**: 2578-2581.
26. Burcombe RJ, Makris A, Richman PI, Daley FM, Noble S, Pittam M *et al.*: **Evaluation of ER, PgR, HER-2 and Ki-67 as predictors of response to neoadjuvant anthracycline chemotherapy for operable breast cancer.** *Br J Cancer* 2005, **92**: 147-155.
27. Chuthapisith S, Bean BE, Cowley G, Eremin JM, Samphao S, Layfield R *et al.*: **Annexins in human breast cancer: Possible predictors of**

- pathological response to neoadjuvant chemotherapy.** *Eur J Cancer* 2009, **45**: 1274-1281.
28. Formenti SC, Dunnington G, Uzieli B, Lenz H, Keren-Rosenberg S, Silberman H *et al.*: **Original p53 status predicts for pathological response in locally advanced breast cancer patients treated preoperatively with continuous infusion 5-fluorouracil and radiation therapy.** *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1997, **39**: 1059-1068.
 29. Gianni L, Zambetti M, Clark K, Baker J, Cronin M, Wu J *et al.*: **Gene expression profiles in paraffin-embedded core biopsy tissue predict response to chemotherapy in women with locally advanced breast cancer.** *J Clin Oncol* 2005, **23**: 7265-7277.
 30. Osborne CK, Schiff R: **Estrogen-receptor biology: continuing progress and therapeutic implications.** *J Clin Oncol* 2005, **23**: 1616-1622.
 31. Thiantanawat A, Long BJ, Brodie AM: **Signaling pathways of apoptosis activated by aromatase inhibitors and antiestrogens.** *Cancer Res* 2003, **63**: 8037-8050.
 32. Diel P, Smolnikar K, Michna H: **The pure antiestrogen ICI 182780 is more effective in the induction of apoptosis and down regulation of BCL-2 than tamoxifen in MCF-7 cells.** *Breast Cancer Res Treat* 1999, **58**: 87-97.
 33. Hur J, Chesnes J, Coser KR, Lee RS, Geck P, Isselbacher KJ *et al.*: **The Bik BH3-only protein is induced in estrogen-starved and antiestrogen-exposed breast cancer cells and provokes apoptosis.** *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004, **101**: 2351-2356.
 34. Coser KR, Chesnes J, Hur J, Ray S, Isselbacher KJ, Shioda T: **Global analysis of ligand sensitivity of estrogen inducible and suppressible genes in MCF7/BUS breast cancer cells by DNA microarray.** *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003, **100**: 13994-13999.
 35. Garcia N, Salamanca F, Astudillo-de la Vega H, Curiel-Quesada E, Alvarado I, Penaloza R *et al.*: **A molecular analysis by gene expression profiling reveals Bik/NBK overexpression in sporadic breast tumor samples of Mexican females.** *BMC Cancer* 2005, **5**: 93.
 36. Korsmeyer SJ: **Bcl-2 initiates a new category of oncogenes: regulators of cell death.** *Blood* 1992, **80**: 879-886.

37. Reed JC, Doctor K, Rojas A, Zapata JM, Stehlik C, Fiorentino L *et al.*: **Comparative analysis of apoptosis and inflammation genes of mice and humans.** *Genome Res* 2003, **13**: 1376-1388.
38. Wei MC, Zong WX, Cheng EH, Lindsten T, Panoutsakopoulou V, Ross AJ *et al.*: **Proapoptotic BAX and BAK: a requisite gateway to mitochondrial dysfunction and death.** *Science* 2001, **292**: 727-730.
39. Germain M, Mathai JP, Shore GC: **BH-3-only BIK functions at the endoplasmic reticulum to stimulate cytochrome c release from mitochondria** *J Biol Chem* 2002, **277**: 18053-18060.
40. Mathai JP, Germain M, Shore GC: **BH3-only BIK Regulates BAX,BAK-dependent Release of Ca²⁺ from Endoplasmic Reticulum Stores and Mitochondrial Apoptosis during Stress-induced Cell Death.** *Journal of Biological Chemistry* 2005, **280**: 23829-23836.
41. Lee AS: **The glucose-regulated proteins: stress induction and clinical applications.** *Trends Biochem Sci* 2001, **26**: 504-510.
42. Hendershot LM: **The ER function BiP is a master regulator of ER function.** *Mt Sinai J Med* 2004, **71**: 289-297.
43. Ron D, Walter P: **Signal integration in the endoplasmic reticulum unfolded protein response.** *Nat Rev Mol Cell Biol* 2007, **8**: 519-529.
44. Li J, Lee B, Lee AS: **Endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis: multiple pathways and activation of p53-up-regulated modulator of apoptosis (PUMA) and NOXA by p53.** *J Biol Chem* 2006, **281**: 7260-7270.
45. Jamora C, Dennert G, Lee AS: **Inhibition of tumor progression by suppression of stress protein GRP78/BiP induction in fibrosarcoma B1C10ME.** *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996, **93**: 7690-7694.
46. Fu Y, Lee AS: **Glucose regulated proteins in cancer progression, drug resistance and immunotherapy.** *Cancer Biol Ther* 2006, **5**: 741-744.
47. Zhang J, Jiang Y, Jia Z, Li Q, Gong W, Wang L *et al.*: **Association of elevated GRP78 expression with increased lymph node metastasis and poor prognosis in patients with gastric cancer.** *Clin Exp Metastasis* 2006, **23**: 401-410.

48. Perou CM, Sorlie T, Eisen MB, van de RM, Jeffrey SS, Rees CA *et al.*: **Molecular portraits of human breast tumours.** *Nature* 2000, **406**: 747-752.
49. Sorlie T, Perou CM, Tibshirani R, Aas T, Geisler S, Johnsen H *et al.*: **Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications.** *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001, **98**: 10869-10874.
50. Lee E, Nichols P, Spicer D, Groshen S, Yu MC, Lee AS: **GRP78 as a novel predictor of responsiveness to chemotherapy in breast cancer.** *Cancer Res* 2006, **66**: 7849-7853.
51. Lee AS: **The glucose-regulated proteins: stress induction and clinical applications** *Trends Biochem Sci* 2001, **26**: 504-510.
52. Lee E, Nichols P, Spicer D, Groshen S, Yu MC, Lee AS: **GRP78 as a novel predictor of responsiveness to chemotherapy in breast cancer.** *Cancer Res* 2006, **66**: 7849-7853.