



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSTGRADO E INVESTIGACIÓN

HOSPITAL GENERAL DR. MANUEL GEA GONZÁLEZ

**INMUNOEXPRESIÓN DEL FACTOR DE TRANSCRIPCIÓN TIROIDEA-1(TTF-1)
EN TEJIDO DE ENDOMETRIO CÍCLICO, HIPERPLASIAS Y CÁNCER DE
ENDOMETRIO.**

TESIS:

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE ESPECIALISTA EN ANATOMÍA
PATOLÓGICA PRESENTA:**

EMERICELLA RENEE ROLDÁN MEDELLÍN

ASESOR:

**DR. ELIO GERMÁN RECINOS CARRERA
MÉDICO ADSCRITO A LA DIVISIÓN DE ANATOMÍA PATOLÓGICA
DEL HOSPITAL GENERAL DR. MANUEL GEA GONZÁLEZ**

MÉXICO D.F. JULIO DEL 2014



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.

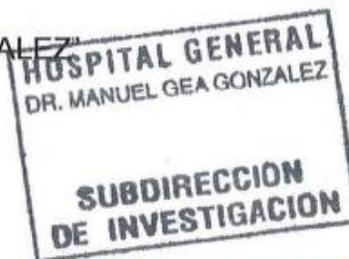
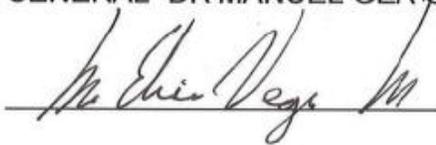
Este trabajo fue realizado en el Hospital General Dr. Manuel Gea González y en la División de Anatomía Patológica bajo la dirección del Dr. Elio Germán Recinos Carrera.

Este trabajo de Tesis con No. PROT 01-51-2014, presentado por la alumna Emericella Renee Roldán Medellín se presenta en forma con visto bueno por el Tutor principal de la Tesis el Dr. Elio Germán Recinos Carrera, con fecha del 28 de julio del 2014 para su impresión final.

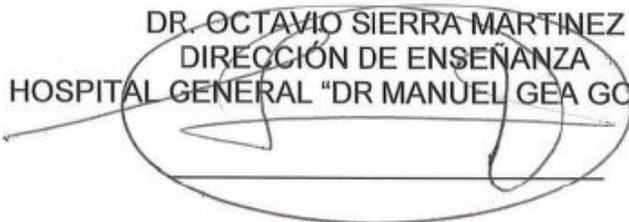
Tutor principal
Dr. Elio Germán Recinos Carrera

AUTORIZACIÓN

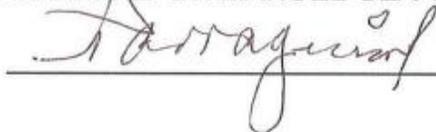
DRA. MARIA ELISA VEGA MEMIJE
SUBDIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN
HOSPITAL GENERAL "DR MANUEL GEA GONZALEZ"



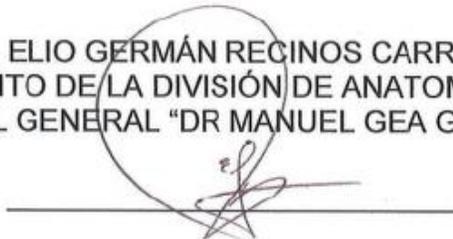
DR. OCTAVIO SIERRA MARTINEZ
DIRECCIÓN DE ENSEÑANZA
HOSPITAL GENERAL "DR MANUEL GEA GONZÁLEZ"



DRA. SARA PARRAGUIRRE MARTÍNEZ
JEFA DE LA DIVISIÓN DE ANATOMÍA PATOLÓGICA
HOSPITAL GENERAL "DR MANUEL GEA GONZALEZ"



DR. ELIO GERMÁN REGINOS CARRERA
MÉDICO ADSCRITO DE LA DIVISIÓN DE ANATOMÍA PATOLÓGICA
HOSPITAL GENERAL "DR MANUEL GEA GONZALEZ"



INMUNOEXPRESIÓN DEL FACTOR DE TRANSCRIPCIÓN TIROIDEA-1(TTF-1)
EN TEJIDO DE ENDOMETRIO CÍCLICO, HIPERPLASIAS Y CANCER DE
ENDOMETRIO.

AGRADECIMIENTOS:

A mis padres por siempre darme su apoyo incondicional, son ejemplo en mi vida y guía durante este camino en la toma de decisiones para la formación profesional y personal.

A mi esposo por siempre por ser un andamio más en mi formación como profesional de la salud y darme siempre ánimos.

A mis maestros: Dra. Sara Parraguirre, Dra. María del Rocío Estrada Hernández, Dr. Isaías Estrada, Dra. Ana Lilia Morales Leyte; porque han sido un modelo a seguir en la curso de la especialidad de Patología.

Al personal que labora en la División de Anatomía Patológica del “Hospital General Dr. Manuel Gea González”, por colaborar en mi desarrollo profesional.

Al Dr.Dr. Elio Germán Recinos Carrera médico adscrito de la División de Anatomía Patológica, por su asesoría y apoyo para la culminación de este gran trabajo.

ÍNDICE

	Página
Glosario	8
Relación de figuras	10
Resumen	11
Abstract	12
1. Introducción	13
2. Antecedentes.....	14
3. Justificación	17
4. Objetivos.....	18
5. Material y Métodos.....	19
5.1. Tipo de estudio	
5.2. Ubicación temporal y espacial	
5.3. Criterios de selección de la muestra	
5.4. Variables	
5.5. Tamaño de la muestra	
5.6. Procedimiento	
5.7. Análisis estadístico	
5.8. Descripción operativa del estudio	
6. Resultados.....	23
7. Discusión	24
8. Conclusiones	26
9. Perspectivas	26
10. Bibliografía.....	27
11. Anexos.....	30

GLOSARIO

Inmunoexpresión: patrón de inmunoreactividad de un marcador de inmunohistoquímica, el cual sigue la distribución anatómica del antígeno en la célula para que se llame positivo o inmunoreactivo.

El marcador TTF-1 se expresa en el núcleo de la célula.

Diagnóstico histopatológico: se emite al revisar la laminilla en el microscopio, se identifican las características de las células y que alteraciones presentan.

Endometrio proliferativo: comprende la fase estrogénica, los cambios tempranos se caracterizan por regeneración del epitelio, las glándulas se observan cortas con mitosis epiteliales inmersas en un estroma con mitosis conformada por células estelares y células fusiformes. En la fase media las glándulas son elongadas, revestidas por epitelio columnar, y el estroma con mitosis. En la etapa tardía las glándulas son tortuosas, con núcleos estratificados, un estroma moderadamente denso.

Endometrio secretor: influenciado por la progesterona, las glándulas presentan cambios dependiendo del día del ciclo, en una fase temprana presentan vacuolas infranucleares y supranucleares, en la etapa tardía ésta secreción ya está en la luz glandular, el estroma presenta edema al inicio y conforme avanza tiene cambios pseudodeciduales. .

Hiperplasia simple sin atipia: proliferación de glándulas endometriales, pero son generalmente redondas, sin atipia citológica.

Hiperplasia simple con atipia: proliferación de glándulas endometriales, pero son generalmente redondas con atipia nuclear.

Hiperplasia compleja sin atipia: proliferación de glándulas endometriales, patrón arquitectural ramificado irregular.

Hiperplasia compleja con atipia: proliferación de glándulas endometriales, patrón arquitectural ramificado, atipia nuclear y mitosis atípicas.

Adenocarcinoma de endometrio variante histológica de tipo endometriode: neoplasia epitelial maligna que contiene glándulas malignas que semejan el endometrio normal.

RELACIÓN DE FIGURAS

FIGURA 1:

Inmunohistoquímica con el marcador de TTF-1 en endometrio secretor, inmunexpresión negativa.

FIGURA 2:

Inmunohistoquímica con el marcador de TTF-1 en endometrio proliferativo, inmunexpresión negativa.

FIGURA 3:

Inmunohistoquímica con el marcador de TTF-1 en Hiperplasia simple sin atipia, inmunexpresión negativa.

FIGURA 4:

Inmunohistoquímica con el marcador de TTF-1 en adenocarcinoma de endometrio de tipo endometriode, inmunexpresión negativa.

RESUMEN

Inmunoexpresión del factor de transcripción tiroidea-1(TTF-1) en tejido de endometrio cíclico, hiperplasias y cáncer de endometrio.

Recinos-Carrera G E, Roldán-Medellín E R

Introducción: El factor de transcripción tiroidea-1 es una proteína ligada al DNA principalmente expresado en la glándula tiroidea y tejido pulmonar, pero se ha encontrado como marcador de reciente evidencia en otros tejidos, como es vejiga, próstata, y endometrio, es lo que nos interesa estudiar. El cáncer de endometrio representa la segunda neoplasia ginecológica a nivel mundial.

Objetivo: Determinar el número de casos positivos al marcador TTF-1 en biopsias de endometrio con diagnóstico histopatológico de hiperplasias y cáncer de endometrio del Hospital General Dr. Manuel Gea González; en un estudio observacional, descriptivo, transversal y prospectivo.

Material y métodos: Se realizó la selección del tejido endometrial en parafina de las biopsias del registro de quirúrgicos en el Hospital General Dr. Manuel Gea González, en el período 15 de enero del 2009 al 15 de enero del 2014, aquellas biopsias con tejido endometrial con diagnóstico histopatológico de endometrio cíclico (proliferativo y secretor), hiperplasias y adenocarcinoma de endometrio variante histológica de tipo endometriode.

Resultados: La edad media fue de 43 años, con un rango de edad entre 18 a 83 años. Se examinó la inmunoexpresión del biomarcador TTF-1 en biopsias con tejido de endometrio un total de 105 casos, 55 correspondieron a endometrio cíclico, 26 casos a endometrio secretor y 29 a endometrio proliferativo. Las hiperplasias fueron 30 casos, 20 con diagnóstico de hiperplasia endometrial simple sin atipia, 7 tenían hiperplasia endometrial compleja con atipia, 2 hiperplasia compleja sin atipia, y 1 caso tenía hiperplasia endometrial simple y compleja sin atipia. Y fueron 20 casos adenocarcinoma de endometrio de tipo endometriode. Se analizó la inmunoexpresión del marcador TTF-1 en los cuatro grupos: endometrio cíclico, hiperplasias, adenocarcinoma de endometrio de tipo endometriode y ningún grupo mostró inmunoreacción para TTF-1. Es importante mencionar que los testigos de control que se emplearon para dar validez al marcador se mostraron positivos en todos los grupos

Discusión: En base a los resultados obtenidos, mostramos discrepancia a la inmunoexpresión del biomarcador TTF-1 conforme a lo descrito en la literatura.

Es importante mencionar que los testigos de control que se emplearon para dar validez al marcador se mostraron positivos en todos los grupos y tratando de encontrar mejores resultados, se realizaron distintos títulos de dilución y modificación en el tiempo de la peroxidasa endógena con resultados de inmunoexpresión nuevamente de 0%. **Conclusiones:** El estudio provee que no existe evidencia de la inmunoexpresión del marcador TTF-1 en las biopsias de endometrio cíclico, hiperplasias y adenocarcinoma, por lo que nosotros concluimos que no se recomienda el empleo como biomarcador de sitio primario de este tejido.

ABSTRACT

Factor immunoexpression of thyroid transcription-1 (TTF-1) in cyclic endometrial tissue, hyperplasia and endometrial cancer.

Recinos G-Carrera E, Roldán-Medellín E R

Introduction: The factor of thyroid-1 transcription is protein linked to the DNA primarily expressed in the thyroid gland and lung tissue, but has been found as a marker of recent evidence in other tissues, as is bladder, prostate, and endometrium, in what we are interested. Endometrial cancer is the second gynecologic malignancy worldwide. **Objective:** To determine the number of positive cases of marker TTF-1 in endometrial biopsies with histopathological diagnosis of endometrial hyperplasia and cancer at the Hospital General Dr. Manuel Gea González; in an observational, descriptive, cross-sectional and prospective study. **Material and methods:** selecting the endometrial tissue was performed on paraffin of the surgical biopsies record in Hospital General Dr. Manuel Gea González, in the period from January 15th, 2009 to January 15th, 2014, those with endometrial tissue biopsies with histopathological diagnosis of cyclic endometrium (proliferative and secretory), hyperplasia and endometrial adenocarcinoma of endometrioid type histological variant. **Results:** Mean age was 43 years, with an age range of 18-83 years. Examined Immunoexpression biomarker TTF-1 with a total of 105 cases, 55 were for cyclic endometrium, 26 cases of secretory endometrium and 29 proliferative endometrium, in endometrial tissue biopsies. Hyperplasias were 30 cases, 20 with diagnosis of simple endometrial hyperplasia without atypia, 7 had complex endometrial hyperplasia with atypia, 2 complex hyperplasia without atypia, and 1 case had simple and complex endometrial hyperplasia without atypia. Y were 20 cases of endometrial adenocarcinoma endometrioid type. Immunoexpression marker TTF-1 was analyzed in four groups: cyclic endometrial hyperplasia, endometrial adenocarcinoma of endometrioid type and no group showed immunoreaction for TTF-1. It is noteworthy that the control subjects that were used to validate the marker were positive in all groups. **Discussion:** Based on the results obtained, we show discrepancy immunoexpression biomarker TTF-1 as described in the literature. It is noteworthy that the control subjects that were used to validate the marker were positive in all groups and trying to find better results, different degrees of dilution and modification is performed at the time of the endogenous peroxidase immunoexpression results again of 0%. **Conclusions:** This study provides no evidence of immunoexpression marker TTF-1 in biopsies cyclic endometrium, hyperplasia and adenocarcinoma, so we conclude that the use is not recommended as a biomarker of primary site of this tissue.

1.- INTRODUCCIÓN

El factor de transcripción tiroidea-1 es una proteína nuclear de 38 kd, miembro de la familia de NKx2 de los factores de transcripción del dominio home box en el cromosoma 14q13.3. ¹ En el año de 1989 fue inicialmente identificado en embriones como ligado al ADN específico de tiroides que interactúa con el gen de la tiroglobulina; se encontró que esta expresión ocurre en las células epiteliales embrionarias del pulmón, de la glándula de tiroides y cerebro, desempeña un papel durante la embriogénesis de los genes.

En tiroides interviene en la activación de los genes de la tiroglobulina y la tiroperoxidasa en las células foliculares tiroideas y en el pulmón. ^{1,2,3,4,5,6.}

En el tejido pulmonar tanto neoplásico como normal a menudo es considerado un marcador confiable de esos sitios de origen, regula la expresión tisular específica de las apoproteínas A (SPA), B (SPB), y C (SPC) del surfactante de las células de clara. ² Mino y colaboradores en 1995, en estudios invitro han mostrado que el bloquear la expresión del gen TTF-1 con oligonucleótidos lleva a una inhibición de la ramificación de la morfogénesis en los cultivos de pulmón explantado. ⁷

Los estudios de inmunohistoquímica facilitan el diagnóstico de neoplasias de tiroides y pulmón, para distinguir el adenocarcinoma primario de metástasis. El marcador TTF-1, se expresa de manera extrapulmonar en carcinomas de células pequeñas, carcinomas neuroendocrinos, próstata vejiga y mama, por tal motivo es utilizado con fines diagnósticos ya que es detectado en estudio de inmunohistoquímica en los órganos ya mencionados. ⁸

Recientemente la expresión ha sido reportada en varios carcinomas de origen ginecológico incluyendo cérvix uterino, endometrio y ovario, son escasos los estudios que examinan la expresión en el tracto reproductivo femenino; se requiere de estudios con mayor número de pacientes para entender mejor el significado de la inmunoreactividad en las neoplasias ginecológicas.

2.- ANTECEDENTES

La incidencia del cáncer de endometrio es de 0 a 25 casos por 100 000 mujeres, este porcentaje presenta variación dependiendo de la distribución geográfica.⁹

Es la segunda neoplasia ginecológica más frecuente a nivel mundial, ocupa la tercera causa de cáncer ginecológico en México según el Registro Histopatológico de neoplasias malignas 2003. Su incidencia es casi seis veces mayor en países desarrollados que en vías de desarrollo. En los Estados Unidos con una incidencia estimada de 46,470 para el 2011.¹⁰

La biopsia endometrial y el legrado son procedimientos esenciales en la evaluación del sangrado uterino anormal; este es el principal síntoma del cáncer endometrial y sus precursoras.¹¹

Sin embargo no es raro que la biopsia de endometrio muestre proliferaciones glandulares anormales desde procesos benignos desordenados a lesiones precursoras y finalmente, cáncer de endometrio.¹¹

Basado en el perfil histológico, molecular y clínico, el cáncer de endometrio se divide en dos grandes categorías: en tipo I y el tipo II; esta clasificación se basa en su relación con la estimulación estrogénica crónica endógena y exógena. El tipo II no está relacionado con eventos hormonales.⁹

El tipo I con mayor incidencia de presentación entre los 55 y 65 años de edad, el 90% son de estirpe histológica endometriode, su desarrollo se presenta en el contexto de una hiperplasia, son bien diferenciados y están asociados a un mejor pronóstico. El tipo II estrógeno independiente, se presenta en mujeres entre los 60 y 70 años de edad, histológicamente es indiferenciado con progresión a enfermedad metastásica.¹²

Además se han relacionado otros factores con riesgo aumentado incluyendo obesidad, nuliparidad, diabetes mellitus, tratamiento con tamoxifeno, hipertensión arterial, menarquía temprana, menopausia tardía, infertilidad o falla terapéutica a inductores de ovulación y obesidad. Mientras que el tabaquismo y el uso de anticonceptivos orales disminuyen el riesgo.²

En años recientes se ha propuesto la existencia de diferentes vías moleculares para cada uno de los tipos de tumor. El tipo I muestra mutaciones de PTEN, K-ras,

β -catenina, así como mutaciones en la pérdida del DNA en los genes de reparación y sobreexpresión de la ciclina D1.¹²

En contraste con el tipo II presenta mutaciones en p53 con pérdida de las características de heterocigosidad cromosómica; se asocia con diseminación temprana y peor pronóstico.¹³ Es de interés que algunos carcinomas tipo II pueden tener alteraciones moleculares similares a los de tipo I, como son mutaciones en K-ras, PTEN, β -catenina e inestabilidad satelital, esto indica que algunos tipo II pueden originarse también de la desdiferenciación de un cáncer endometrial tipo I preexistente.¹⁴

La hiperplasia endometrial se considera una lesión precursora del cáncer de endometrio, y se define como una proliferación de glándulas de tamaño irregular con incremento en la proporción glándula-estroma favoreciendo a las glándulas comparando con un endometrio proliferativo.

El cáncer de endometrio se considera que puede evolucionar de una hiperplasia (simple y/o compleja sin atipia), con un riesgo para desarrollar cáncer menor al 2%, a diferencia de la hiperplasia con atipia con un riesgo de 23% hasta el 40%, de presentar cáncer de endometrio en los próximos 5 años.^{15, 13, 19.}

La clasificación actual para las hiperplasias endometriales tanto para la Sociedad Internacional de Ginecopatólogos, como para la Organización Mundial de la Salud esta basada en el esquema de Kurman y colaboradores de 1985, que divide las hiperplasias tomando en cuenta las características celulares y arquitecturales.

Es una clasificación de cuatro categorías y las divide en hiperplasia simple y compleja en función de las anomalías arquitecturales, y con/sin atipia en función de la presencia o ausencia de atipia citológica.

Hiperplasia simple sin atipia (HS), hiperplasia compleja sin atipia (HC), hiperplasia simple con atipia (HSA), e hiperplasia compleja con atipia (HCA)

Cuando en un legrado uterino se encuentra HCA, la coexistencia con adenocarcinoma en el espécimen de histerectomía puede ser hasta del 40%.⁹

Los factores pronósticos del cáncer de endometrio desfavorables son la presencia de variedad no endometriode, invasión vascular y linfática, tumores Grado 3 y mayores de 70 años.^{13, 18}

Hin-Liu Niu y colaboradores en Filadelfia en el año de 2009, exploraron el rol del TTF-1 en tejido ginecológico normal en los especímenes de la rutina de quirúrgicos, con un total de 113 muestras de tejido, de 70 pacientes, 108 muestras de adultos, de las cuales incluyeron 28 endometrios (12 proliferativos, 11 secretores, y 5 inactivos), 26 salpinges, 28 de cérvix, 14 de miometrio, y 12 de ovario. 15 de las 28 muestras de endometrio expresaron TTF-1 (54%), 15/28 (54%); 9 (75%) endometrios en fase proliferativa expresaron el inmunorreactante, 6 (55%) endometrios en fase secretora expresaron TTF-1, los endometrios inactivos no expresaron el marcador.⁴

Es importante definir el papel de los biomarcadores específicos para determinar en forma más precisa el riesgo real de las lesiones preneoplásicas.⁹ Recientemente la expresión del TTF-1 ha sido reportada en las neoplasias ginecológicas (adenocarcinomas endocervicales, adenocarcinoma endometriode, carcinomas serosos de ovario o endometrio), con una alta incidencia en los tumores müllerianos mixtos.¹⁶

De manera interesante estudios que evalúan la inmunoexpresión del TTF-1 en otros sitios ginecológicos como es ovario, salpinges y endometrio han reportado que esta expresión confiere un fenotipo menos agresivo clínicamente y un pronóstico más favorable.⁴ A pesar que numerosos estudios han descrito la expresión del TTF-1 en el cáncer, el rol biológico no está claro.

3.- JUSTIFICACIÓN

El factor de transcripción tiroidea-1 es una proteína ligada al DNA principalmente expresado en la glándula tiroidea y tejido pulmonar, pero se ha encontrado como marcador de reciente evidencia en otros tejidos, como es vejiga, próstata, y endometrio, es lo que nos interesa estudiar.

El cáncer de endometrio representa la segunda neoplasia ginecológica a nivel mundial, ocupa la tercera causa de cáncer ginecológico en México según el Registro Histopatológico de neoplasias malignas 2003. Es una enfermedad de importancia para las mujeres. Según la OMS GLOBOCAN en el 2008 reporta una incidencia de 2600 casos de cáncer del cuerpo uterino en México.¹⁰

Hin-Liu Niu y colaboradores exploraron el rol del TTF-1 en el tejido y órganos, ellos condujeron de manera cuidadosa la evaluación de este marcador en tejido ginecológico normal de los especímenes de la rutina de quirúrgicos, con un total de 113 muestras de tejido, incluyeron 28 endometrios (12 proliferativos, 11 secretores, y 5 inactivos). Los resultados obtenidos en endometrio 15(54%) de 28 fueron reactivos; 9(75%) de 12 en etapa proliferativa; 6 (55%) de 11 en endometrio secretor, el endometrio inactivo no expresó el marcador.⁴

Al contar con reciente evidencia que han estudiado a este marcador se considera importante determinar la inmunoexpresión del marcador TTF-1, en forma precisa en biopsias de endometrio con diagnóstico histopatológico de endometrio proliferativo, secretor, hiperplasia y adenocarcinoma de tipo endometrioide variante histológica endometrioide en el Hospital General Dr. Manuel Gea González, para conocer el rol que pudiera tener como biomarcador pronóstico en el adenocarcinoma de tipo endometrioide, y genere un impacto importante en las pacientes.

4.- OBJETIVOS

4.1.- Objetivo general:

Determinar la inmunoexpresión con el marcador TTF-1 en biopsias de endometrio con diagnóstico histopatológico endometrio cíclico e hiperplasias y cáncer de endometrio del Hospital General Dr. Manuel Gea González.

5.- MATERIAL Y MÉTODOS

5.1.- Tipo de estudio.

Es un estudio observacional, descriptivo, transversal y prospectivo.

5.2.- Ubicación temporal y espacial.

División de Anatomía patológica del Hospital General “Dr. Manuel Gea González”.

5.3.- Criterios de selección de la muestra.

Criterios de inclusión:

1. Todos aquellos bloques de parafina y laminillas con tejido viable.
2. Biopsias quirúrgicas que correspondan a tejido endometrial, con diagnóstico histopatológico endometrio cíclico (secretor y proliferativo), hiperplasia (con o sin atipia) y cáncer de endometrio variante histológica de tipo endometriode.

Criterios de eliminación:

1. Biopsias con bloque de parafina, con pérdida del tejido durante el proceso de la técnica, el cual no sea posible realizar cortes para el estudio de inmunohistoquímica del marcador TTF-1.
2. Endometrio cíclico con diagnóstico histopatológico de endometrio en fase de intervalo y fase menstrual.
3. Laminillas con desparafinización inadecuada.
4. Laminillas rotas y que no puedan ser evaluadas.

5.4.- Variables

- Inmunoexpresión

- Endometrio cíclico:

- Endometrio Secretor

- Endometrio Proliferativo

- Hiperplasias:

- Hiperplasia simple sin atipía
 - Hiperplasia simple con atipía
 - Hiperplasia compleja sin atipía
 - Hiperplasia compleja con atipía
- Adenocarcinoma de endometrio variante histológica de tipo endometriode.

5.5.- Tamaño de la muestra

Se aplicará muestreo por conveniencia, incluyendo a todas aquellas biopsias con tejido que correspondan a endometrio, se seleccionaron 105 casos en el período 15 de enero del 2009 al 15 de enero del 2014 de la libreta de quirúrgicos de la División de Anatomía Patológica del Hospital General Dr. Manuel Gea González, de acuerdo a los criterios de inclusión.

5. 6. Métodos de Laboratorio

Técnica de inmunoreacción: en portaobjetos con poly-L-lisina se montan cortes de endometrio de 2 a 3 micras, los cuales se secan en forma horizontal, posteriormente se desparafinan a 80°C y se hidratan con agua destilada. Se efectúa recuperación antigénica en microondas con solución buffer a pH 9 por 20 minutos, después se enfría y se enjuaga con agua corriente. Se inhibe la peroxidasa endógena 5 minutos a temperatura ambiente, a continuación se enjuaga en agua destilada y se incuba con solución buffer de fosfatos salinos 10 minutos, se procede a enjuagar en tres ocasiones, posteriormente se incuba en cámara húmeda con anticuerpo primario TTF-1, laboratorio (media hora a temperatura ambiente, se enjuagan las laminillas una por una y se incuban en solución buffer de fosfatos salinos por 10 minutos, se incuban con anticuerpo de enlace (inmunoglobulinas biotinadas) por 15 minutos, se enjuagan las laminillas una por una y se incuban con solución buffer de fosfatos salinos por 10 minutos, en seguida se incuban con streptavidina 15 minutos, nuevamente se enjuagan las laminillas una por una y se incuban en solución buffer de fosfatos salinos por 10 minutos, se revelan con diaminobencidina por 5 minutos, se observan al microscopio deteniendo la reacción enjuagando con agua destilada; el siguiente

paso consiste en contra-teñir con hematoxilina de Harris realizando 5 baños, enjuagar, azular con carbonato de litio y volver a enjuagar. Finalmente las laminillas se deshidratan, aclaran y montan en entellan.

5.7.- Análisis estadístico

Se utilizará estadística descriptiva medidas de tendencia central y dispersión: media, frecuencia, mediana, moda, proporciones y porcentajes.

5.8.- Descripción de procedimientos.

El investigador principal realizará la búsqueda de las biopsias con tejido de endometrio en las libretas de registro de quirúrgicos de la División de Anatomía Patológica del Hospital General Dr. Manuel Gea González, aquellas biopsias con tejido endometrial con diagnóstico histopatológico, endometrio cíclico (secretor y proliferativo), hiperplasias (simple sin atipia, simple con atipia, compleja sin atipia, compleja con atipia) y cáncer de endometrio variante histológica de tipo endometriode. Se examinará laminillas teñidas con hematoxilina y eosina para seleccionar el tejido viable en el cual se realizará el estudio de inmunohistoquímica. El estudio abarcará un período de tiempo del 15 enero del 2009 al 15 de enero del 2014 procedente del trabajo diario de la rutina de procedimientos quirúrgicos.

INMUNOHISTOQUIMICA

La evaluación bajo microscopía de luz del marcador TTF-1, el patólogo responsables interpreta la inmunoreacción, se examinará basada en una escala semicuantitativa registrando la extensión de la inmunoexpresión (el manchado nuclear en las glándulas endometriales), en 10 campos de alto poder a 40 x y se dará un porcentaje, de acuerdo a la positividad de la tinción en base a la siguiente tabla:

Escala de la evaluación de la inmunoreacción del TTF-1	
	Porcentaje
0	Negativo
1+	Menor a 25%.
2+	26-50%
3+	51-75%
4+	Mayor de 75%

Cortes de tejido de pulmón y tiroides normales se emplean para control de la inmunoreacción del TTF-1.

6.- RESULTADOS

La edad media fue de 43 años, con un rango de edad entre 18 a 83 años. Se examinó la inmunoexpresión del biomarcador TTF-1 en biopsias con tejido de endometrio un total de 105 casos, 55 correspondieron a endometrio cíclico, 26 casos a endometrio secretor y 29 a endometrio proliferativo. Las hiperplasias fueron 30 casos, 20 con diagnóstico de hiperplasia endometrial simple sin atipia, 7 tenían hiperplasia endometrial compleja con atipia, 2 hiperplasia compleja sin atipia, y 1 caso tenía hiperplasia endometrial simple y compleja sin atipia. Este grupo fue el más numeroso se encontró con una edad entre los 41 y los 60 años. Y fueron 20 casos adenocarcinoma de endometrio de tipo endometriode.

Los motivos para la realización de biopsia de endometrio fueron múltiples, pero la causa principal fue sangrado uterino disfuncional 84 casos, 10 por miomatosis uterina de grandes elementos, 4 casos con sospecha de adenocarcinoma, 2 pacientes en control de hiperplasias endometrial y 1 por infertilidad primaria.

Se analizó la inmunoexpresión del marcador TTF-1 en los cuatro grupos: endometrio cíclico, hiperplasias, adenocarcinoma de endometrio de tipo endometriode y ningún grupo mostró inmunoreacción para TTF-1.

7.- DISCUSIÓN

Los resultados que se obtuvieron no fueron concluyentes, no se obtuvo inmunexpresión del marcador TTF-1 en los grupos examinados, de acuerdo a los estudios base que se encontraron, algunos autores como Siami y cols. investigaron la incidencia de la expresión de TTF-1 en muestras de adenocarcinoma endometrial y endocervical, de las cuales 28 corresponden adenocarcinomas endocervical, 32 adenocarcinomas de endometrio tipo endometriode (11 grado I, 8 grado II y 13 grado III de acuerdo a la FIGO) y 13 carcinomas serosos de útero. Se empleo una escala muy semejante a la que nosotros empleamos para la evaluación del marcador TTF-1, ellos detectaron la inmunorreactividad del marcador en el núcleo en 6 (19)% de 32 casos de adenocarcinomas endometrioides. Solo 2 casos de 32 tiñeron difusamente (4+). Aunque este marcador es generalmente considerado específico de neoplasias de pulmón y tiroides, el marcador de TTF-1 puede ser inmunexpresado en adenocarcinomas endometriales y endocervicales, en algunas ocasiones puede ser difuso, por lo que su evaluación en neoplasias de origen incierto, se tiene que ser cuidadosos por que no es específico.¹⁷

Finalmente, Sullivan y cols en un estudio de cohorte, examinaron la expresión del marcador TTF-1 en endometrio cíclico (proliferativo y secretor), hiperplasia endometrial y cáncer de endometrio para identificar como puede impactar en el riesgo de desarrollo de cáncer de endometrio la expresión de TTF1, usaron 535 casos, las muestras fueron recolectadas de 207 pacientes obtenidas por legrado, biopsia, o histerectomía, 150 tenían al menos dos muestras durante procedimientos separados, incluyeron 46 pacientes con progresión a cáncer de endometrio con al menos un año de seguimiento, realizaron estudio de inmunohistoquímica y microordenamientos. El diagnóstico histopatológico incluye endometrio benigno (n=231), hiperplasia simple (n=105), hiperplasia compleja (n=36), hiperplasia atípica simple (n=10), hiperplasia atípica compleja (n=44), y carcinoma endometrial (n=109). La expresión del marcador de TTF-1 fue analizada por un patólogo el cual no conocía el diagnóstico y registró el porcentaje de glándulas endometriales con expresión nuclear de TTF-1. Un caso positivo fue

definido como cualquier inmunoreacción (manchado) en los núcleos de las glándulas endometriales.

El porcentaje de expresión del TTF-1 fue detectado en 55% de los casos benignos, 53% con hiperplasia sin atipia, 52% hiperplasia atípica, 64% carcinoma endometrial. Para la evaluación de progresión de riesgo a cáncer usaron Kaplan y Meier, encontraron que la expresión de TTF1 en la hiperplasia simple y compleja con atipia no mostró una correlación a progresión de cáncer; y la presencia de inmunoeexpresión de TTF-1 en endometrio benigno fue asociada con una disminución significativa para desarrollar cáncer ($P=0.0003$, CI 95%). Específicamente encontraron que pacientes menores de 50 años fueron positivas para el TTF-1 en 30 de 42. En la expresión del TTF-1 en la hiperplasia no encontraron una correlación significativa. Concluyen que la expresión de este marcador en el endometrio normal puede proveer clínicamente una herramienta útil como biomarcador para el riesgo de cáncer de endometrio.⁹ En base a los resultados obtenidos, mostramos discrepancia a la inmunoeexpresión del biomarcador TTF-1, conforme a lo descrito en la literatura.

Es importante mencionar que los testigos de control que se emplearon para dar validez al marcador se mostraron positivos en todos los grupos y tratando de encontrar mejores resultados, se realizaron distintos títulos de dilución y modificación en el tiempo de la peroxidasa endógena con resultados de inmunoeexpresión nuevamente de 0%.

8.- CONCLUSIÓN

El estudio provee que no existe evidencia de la inmunoexpresión del marcador TTF-1 en las biopsias de endometrio cíclico, hiperplasias y adenocarcinoma, por lo que nosotros concluimos que no se recomienda el empleo como biomarcador de sitio primario de este tejido.

9.- PERSPECTIVAS

Con el advenimiento de nuevas técnicas de inmunohistoquímica son prometedoras para la búsqueda de un marcador pronóstico para el cáncer de endometrio.

10. - BIBLIOGRAFÍA

1. Bishop J A, Sharma R, Illei P B. Napsin A and thyroid transcription factor-1 expression in carcinomas of the lung, breast, pancreas, colon, kidney, thyroid and malignant mesothelioma. *Human Pathology* 2010; 41: 20-25.
2. Sullivan P, Maresh E L, Seligson D B, Habbeeb O, Wadehra M, Goodglick L et al. Expression of thyroid transcription factor-1 in normal endometrium is associated with risk of endometrial cancer development. *Modern pathology* 2012;25:1140-1148.
3. Aghajanova L, Stavreus-Evers A, Lindeberg M, Landgren B M, Sparre L y Hovatta O. Thyroid-stimulating hormone receptor and thyroid hormone receptors are involved in human endometrial physiology. *Fertility and Sterility* 2011;95(1):230-237e2.
4. Hin-Lin N, Pasha T L, Pawel B R, LiVolsi V A, Zhang P J. Thyroid Transcription Factor-1 Expression in Normal Gynecologic Tissue and its Potential Significance. *International Journal of Gynecological Pathology*. 2009; 28(4):301-307.
5. Prok A L, Prayson R A. Thyroid transcription factor-1 staining is useful in identifying brain metastases of pulmonary origin. *Annals of Diagnostic Pathology* 2006; 10:67-71.
6. Coling D. Bingle. Thyroid Transcription Factor-1. *Int. J. Biochemistry Cell Biol* 1997; 29 (12): 1471-1473.
7. Minoo P, Hamdan H, Bu D, Warburton D, Stepanik P, y Lemos R. TTF-1 regulates lung epithelial morphogenesis. *Dev Biology* 1995;172: 694-698.

8. Fujiwara S, Akihiro N, Toru N, Shimoyama Y, Kajiyama H, Shibata K et al. Thyroid transcription factor 1 expression in ovarian carcinoma is an independent prognostic factor. *Human Pathology* 2010; 40: 560-565.
9. Djordjevic B, Westin S y Broaddus R R. Application of Immunohistochemistry and Molecular Diagnostics to Clinically Relevant Problems in Endometrial Cancer. *Surgical Pathology* 2012; 5:859-878.
10. OMS GLOBOCAN 2008. Estimated Cancer Incidence Mortality and prevalence Worldwide. Disponible en <http://globocan.iarc.fr/>
11. Ordi J, Bergeron C, Hardisson D, Alvarado-Cabrero I, Wells M, Nogales F F et al. Reproducibility of current classifications of endometrial endometrioid glandular proliferations: further evidence supporting a simplified classification. *Histopathology* 2013;10: 1-9.
12. Alvarez T, Miller E, Duska L y Oliva E. Molecular Profile of Grade 3 Endometrioid Endometrial Carcinoma: Is it a Type I or Type II Endometrial Carcinoma? *Am J Surg Pathology* 2012;36(5):753-761.
13. Gonzalo Montalo E, Isla Ortiz D, Solorza L G, Cantú de León D F, González E A, Muñoz González D E et al. Oncoguía: Cáncer de endometrio. *Cancerología* 2011;6:47-52.
14. Prat J, Gallardo A, CuatreCasas M y Catasús L. Endometrial carcinoma: pathology and genetics. *Pathology* 2007;39(1):72-87.
15. Allison K H, Reed S D, Voigt L F y Garcia R L. Diagnosing endometrial hyperplasia: why is it so difficult to agree? *Am J Surg Pathology* 2008; 32:691-698.

16. Kurman RJ, Ellenson LH, Ronnett BM (eds). Endometrial carcinoma. Blaustein's Pathology of the Female Genital Tract 6th edition. Springer: New York, 2011, pp 395-396.
17. Koushan S, McCluggage G, Ordonez N G, Euscher E D, Malpica A, Sneige N et al. Thyroid Transcription Factor-1 Expression in Endometrial and Endocervical Adenocarcinomas. American Journal Surgical Pathology 2007; 31: 1759-1763.
18. Pecorelli S. FIGO COMMITTEE ON GYNECOLOGIC ONCOLOGY. Revised FIGO staging for carcinoma of the vulva, cervix and endometrium. Chairman International Journal of Gynecology and Obstetrics 2009;105:103-104.
19. Sherman M E, Loffe O B, Ronnett B M, Mark E, Richesson, Douglas A M y cols. Reproducibility of biopsy diagnoses of endometrial hyperplasia: evidence supporting a simplified classification. Int J GynecolPathol 2008;27: 318-325
20. Alkushi A, Irving J, Hsu F, Dupuis B, Liu C L, Rijn M et al. Immunoprofile of cervical and endometrial adenocarcinomas using a tissue microarray. Virchows Arch 2003; 442: 271-277.

11. Anexo

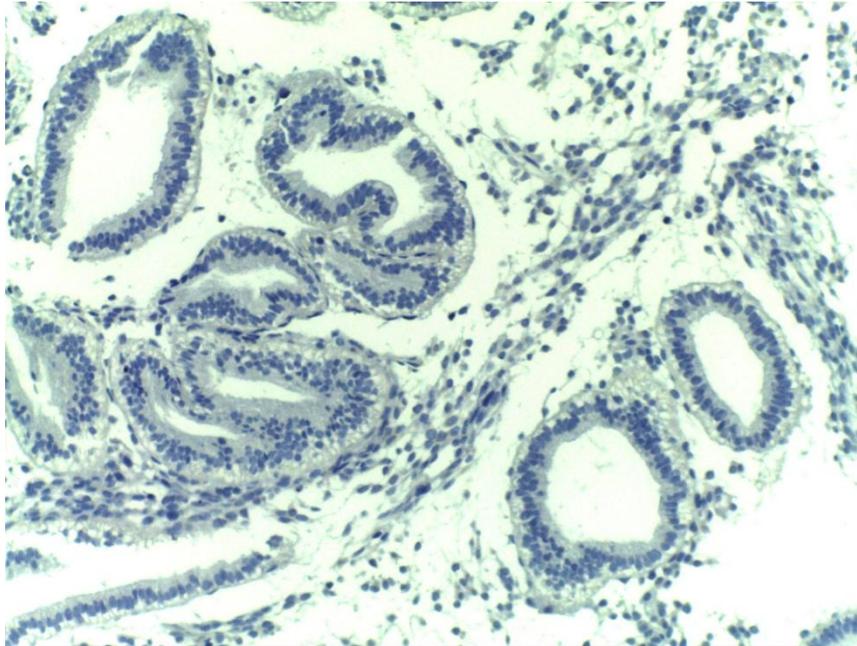


FIGURA 1: Inmunohistoquímica con el marcador de TTF-1 en endometrio secretor, inmunoeexpresión negativa.

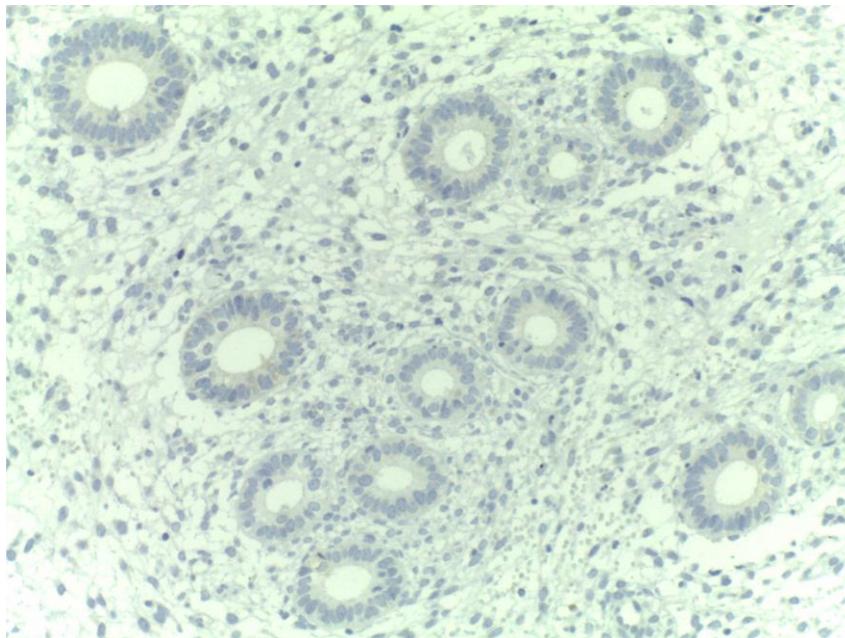


FIGURA 2: Inmunohistoquímica con el marcador de TTF-1 en endometrio proliferativo, inmunoeexpresión negativa.

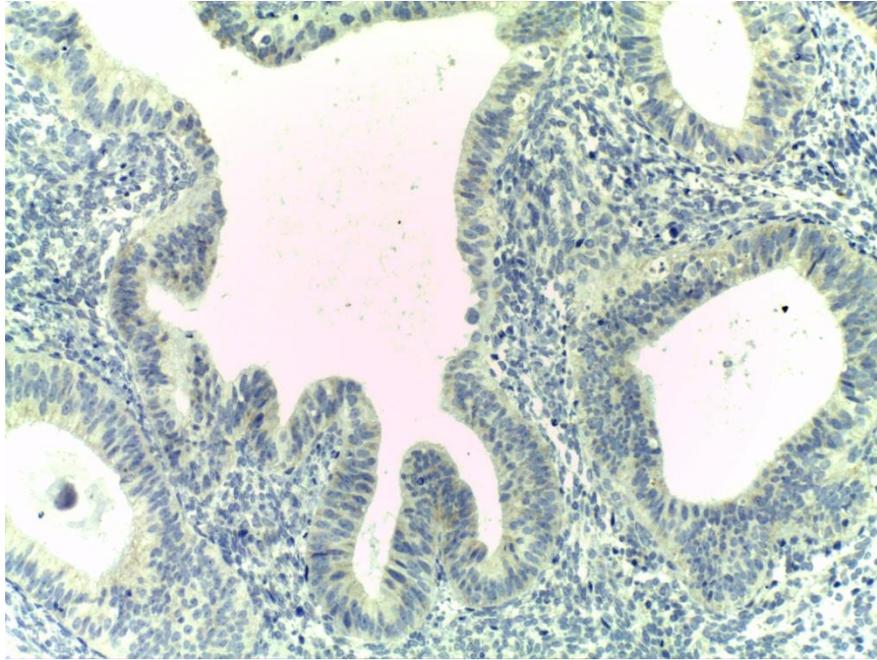


FIGURA 3: Inmunohistoquímica con el marcador de TTF-1 en hiperplasia simple sin atipia, inmunexpresión negativa.

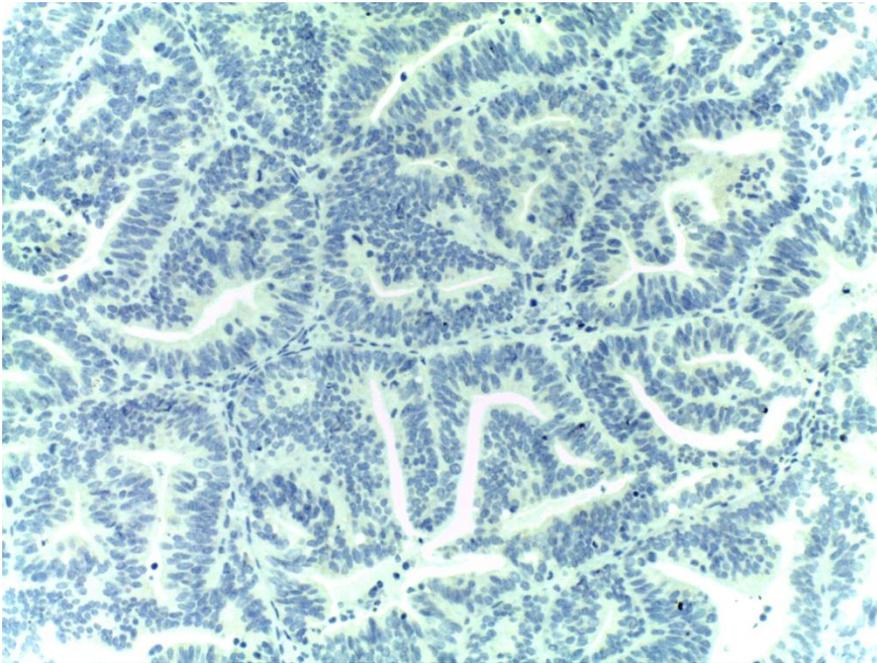


FIGURA 4: Inmunohistoquímica con el marcador de TTF-1 en adenocarcinoma de endometrio de tipo endometriode, inmunexpresión negativa.