



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA DIVISIÓN ESTUDIOS DE POSGRADO

DEPARTAMENTO DE ANATOMIA PATOLOGICA

SECRETARIA DE SALUD

HOSPITAL GENERAL DEL ESTADO DE SONORA

“DR. ERNESTO RAMOS BOURS”

**“COMPARACIÓN DE CERTEZA DIAGNOSTICA ENTRE CORTES TEÑIDOS CON
HEMATOXILINA/EOSINA E INMUNOHISTOQUÍMICA CON ANTICUERPO E-CADHERINA
EN EL DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL DE CARCINOMA DUCTAL Y LOBULAR EN EL
HOSPITAL GENERAL DEL ESTADO DE SONORA”**

TESIS

**PARA OBTENER EL TÍTULO DE MÉDICO ESPECIALISTA EN ANATOMIA
PATOLÓGICA**

PRESENTA:

DR. DANIEL EDUARDO BLANCO MARTÍNEZ

ASESOR MÉDICO:

DR. MINOR RAUL CORDERO BAUTISTA.

ASESOR METODOLÓGICO:

PROFESOR MIGUEL NORZAGARAY MENDIVIL.

HERMOSILLO SONORA 20 FEBRERO DE 2015



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

AUTORIZACION DE TESIS.

**DR. FRANCISCO RENE PESQUEIRA FONTES.
DIRECTOR GENERAL.**

**DR. JOGE ISAAC CARDOZA AMADOR
DIRECTOR MÉDICO.**

**DRA. CARMEN A. ZAMUDIO REYES.
JEFA DE LA DIVISIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN.**

**DR. ROBERTO DE LEÓN CABALLERO.
JEFE DEL DEPARTAMENTO DE ANATOMÍA PATOLÓGICA.**

**DR. MINOR RAÚL CORDERO BAUTISTA.
ASESOR MÉDICO.**

**DR. DANIEL EDUARDO BLANCO MARTÍNEZ
MÉDICO RESIDENTE.**

RECONOCIMIENTOS Y AGRADECIMIENTOS.

Le agradezco a mis padres José Gabriel Blanco Coronado y María de Lourdes Martínez de Blanco, mis maestros Minor Cordero, Roberto de León, Emma Ruiz y Leticia León, y a mi prometida Cendy Luna por todo su apoyo y comprensión.

INDICE

INTRODUCCIÓN

CAPITULO I MARCO TEÓRICO.

- 1.1.1 Descripción de la glándula mamaria.
- 1.1.2 Embriología de la glándula mamaria.
- 1.1.3 Anatomía de la glándula mamaria.
- 1.2 Descripción histológica de la glándula mamaria.
- 1.3 Tumores malignos de la glándula mamaria.
 - 1.3.1 Carcinoma no invasivo (in situ).
 - 1.3.1.1 Carcinoma ductal in situ.
 - 1.3.1.2 Carcinoma lobulillar in situ.
 - 1.3.2 Evolución del carcinoma in situ a carcinoma invasor.
 - 1.3.3 Carcinoma ductal infiltrante
 - 1.3.4 Carcinoma lobular infiltrante.
- 1.4 Generalidades del Estudio de inmunohistoquímica.
 - 1.4.1 Estudio de inmunohistoquímica en carcinomas de mama.
 - 1.4.2 Estudio de inmunohistoquímica con e-caderina para diferenciar carcinoma ductal y carcinoma lobulillar.

CAPITULO 2 MATERIAL Y MÉTODOS.

- 2.1 Planteamiento del problema.
- 2.2 Justificación.
- 2.3 Objetivos.
- 2.4 Diseño del estudio.
- 2.5 Universo a estudiar.
- 2.6 Tamaño de la muestra.
- 2.7 Criterios de inclusión.
- 2.8 Criterios de exclusión.
- 2.9 Criterios de eliminación.
- 2.10 Descripción general del estudio.
- 2.11 Análisis estadístico.

CAPITULO 3 RESULTADOS, DISCUSIONES, CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.

- 3.1 Resultados.
- 3.2 Discusión.
- 3.3 Conclusiones.
- 3.4 Recomendaciones.

INTRODUCCION

CAPITULO I MARCO TEÓRICO.

1.1.1 DESCRIPCIÓN DE LA GLÁNDULA MAMARIA.

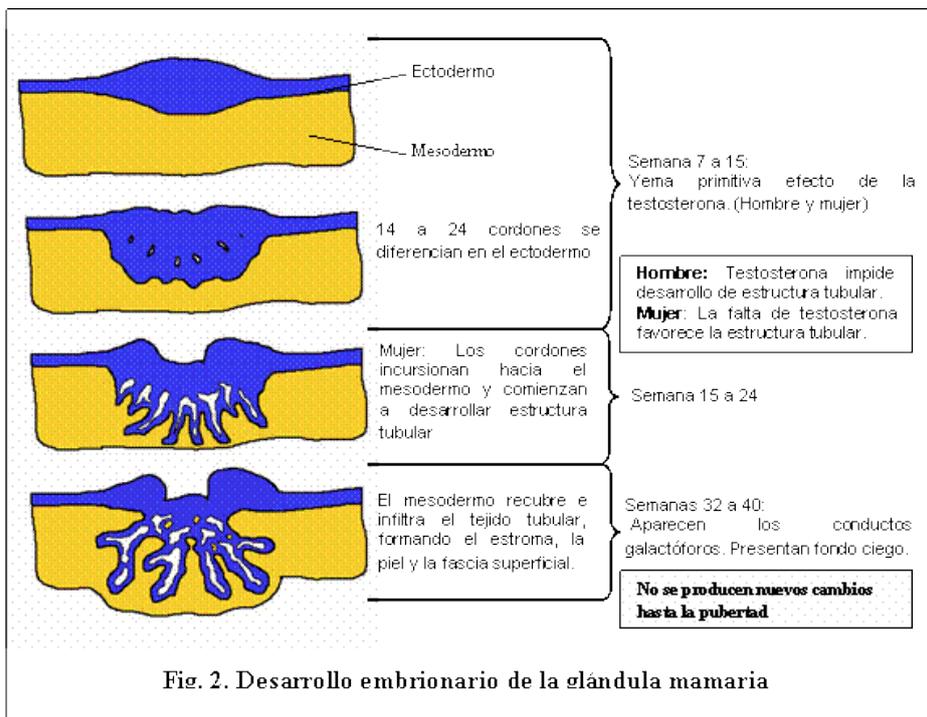
Las glándulas mamarias son los órganos que en todos los mamíferos producen leche para alimentar a las crías o hijos durante las primeras semanas o meses de vida. Estas glándulas exócrinas son glándulas sudoríparas especializadas. Los elementos primarios de una glándula mamaria son los alvéolos (estructuras tubulares huecas de unos cuantos milímetros de longitud que representa el 90% de la estructura del seno) recubiertos por células epiteliales y rodeados por células mioepiteliales. Estos alvéolos se reúnen formando grupos llamados lóbulos y cada uno de estos lóbulos posee un ducto lactífero que drena en los orificios del pezón. Las células mioepiteliales, que pueden contraerse de forma similar a las musculares, impulsan la leche y esta es impelida desde los alvéolos, a través de los ductos lactíferos hacia el pezón, donde se almacena en engrosamientos (senos) de los ductos.

1.1.2 EMBRIOLOGÍA DE LA GLÁNDULA MAMARIA.

La glándula mamaria es una glándula sudorípara apócrina modificada de origen embriológico ectodérmico, capa en la cual para la séptima semana se pueden evidenciar las yemas primitivas de la glándula mamaria, que aparecen como dos engrosamientos entre las extremidades superiores e inferiores. En estos vestigios encontramos acúmulos celulares que comienzan su diferenciación del resto de las células ectodérmicas, en estrecha relación por el vestigio de la fascia superficial del músculo pectoral mayor.

A las 4 semanas aparecen de 8 a 10 pares de pequeñas estructuras nodulares a lo largo de las líneas lácteas, la confluencia de estas estructuras produce un reborde mamario que por la involución posterior desaparece, y hacia la semana 10 solo persiste un par de ellas hacia la región axilar.

Es en la semana 20 cuando a partir de la epidermis, comienzan a desarrollarse entre 14 y 24 cordones, que crecen en profundidad hacia el mesodermo conservando una estructura sólida, que próximo al nacimiento es sustituido por un patrón tubular muy ramificado. ⁽¹⁾ En su incursión hacia el mesodermo, el tejido mamario (ectodermo), queda “infiltrado” y recubierto por el tejido mesodérmico del cual se originan la dermis, el estroma glandular y la aponeurosis superficial.



En las mujeres, la falta de una constante estimulación con testosterona permite un proceso de canalización de los conductos epiteliales hacia la semana 20-24, hasta la aparición de los conductos galactóforos, y ya entre las semanas 32 y 40 se puede evidenciar un sistema tubular totalmente desarrollado.

En la última semana de gestación e incluso en los primeros momentos de vida, la parte terminal de los túbulos mamarios comienza a desarrollar su estructura alveolar como consecuencia de la intensa estimulación hormonal transplacentaria (1).

1.1.3 ANATOMÍA DE LA GLÁNDULA MAMARIA.

Las glándulas mamarias están presentes en ambos sexos. En el hombre se mantienen rudimentarias toda la vida, en cambio en la mujer están poco desarrolladas hasta antes de la pubertad, cuando empieza el proceso de maduración. El máximo desarrollo de éstas glándulas se produce durante el embarazo y especialmente en el período posterior al parto, durante la lactancia.

Las mamas están situadas en la parte anterior del tórax y pueden extenderse en medida variable por su cara lateral. Su forma varía según características personales, genéticas y en la misma mujer de acuerdo a la edad y paridad. La mayor parte de la masa de la mama está constituida por tejido glandular y adiposo. Durante el embarazo y la lactancia el tamaño de la mama aumenta debido al crecimiento del tejido glandular.

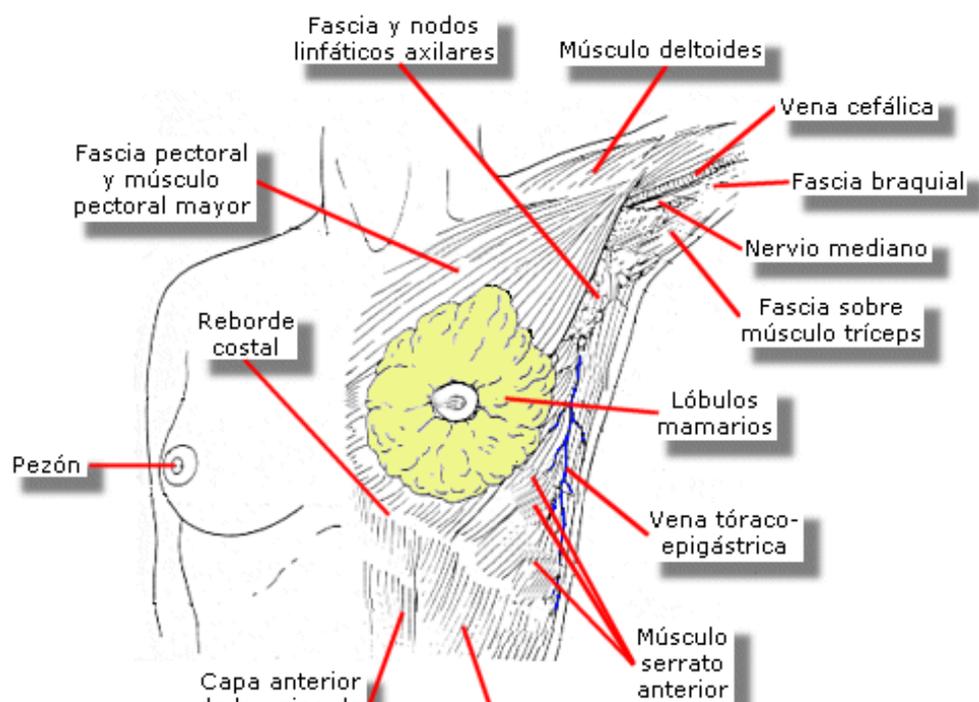
La base de la glándula mamaria se extiende, en la mayoría de los casos, desde la segunda hasta la sexta costilla, desde el borde externo del esternón hasta la línea axilar media. El área superoexterna de cada glándula se extiende hacia la axila y se denomina "prolongación axilar". La cara profunda de la mama es ligeramente cóncava y se encuentra en relación con el músculo pectoral mayor, el serrato anterior y la parte superior del oblicuo externo del abdomen. La mama está separada de estos músculos por la aponeurosis profunda . Entre ambas hay un tejido areolar laxo denominado espacio retromamario, éste permite que la mama tenga cierta movilidad sobre la aponeurosis profunda que cubre al plano muscular.

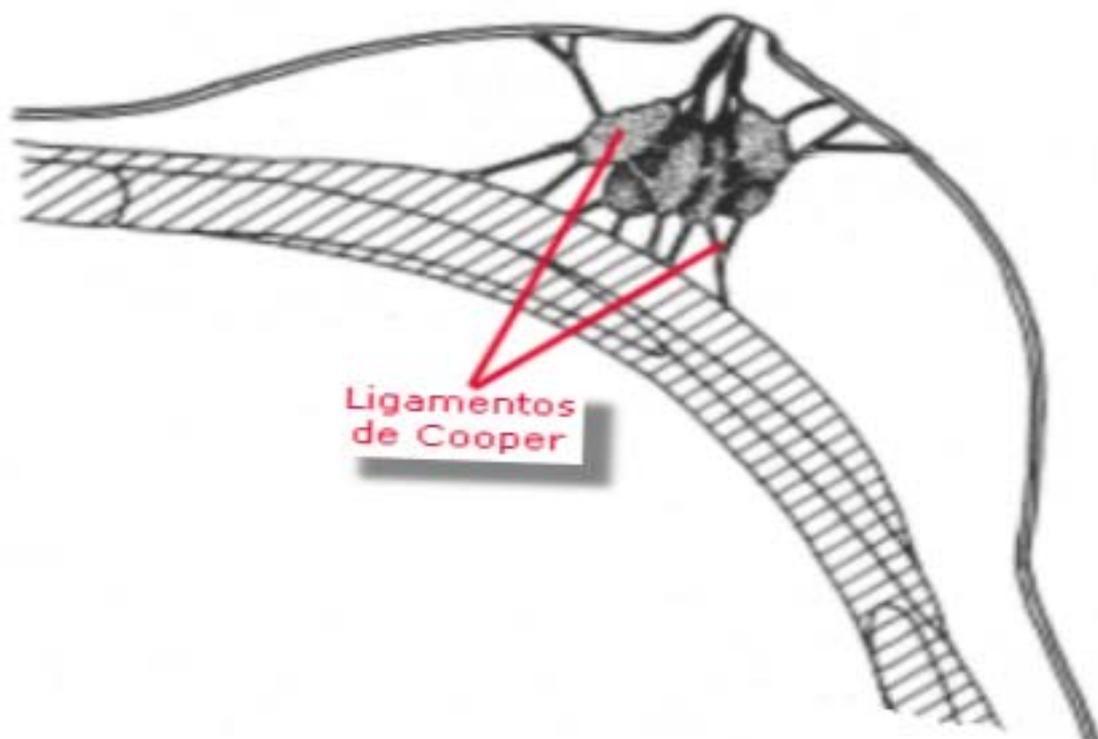
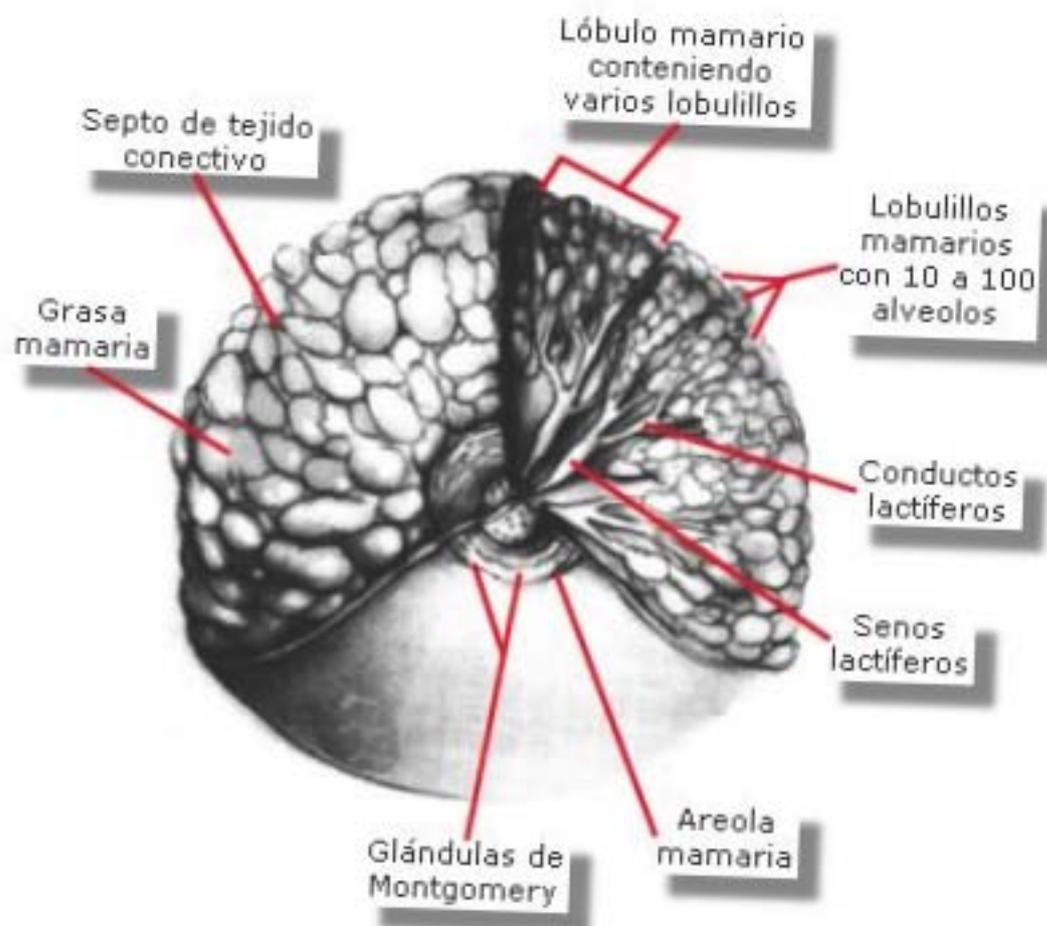
La cara superficial de la mama está cubierta por piel. Aproximadamente en el centro de esta cara se encuentra el pezón que está en relación al cuarto espacio intercostal en la nulípara. La base del pezón está rodeada por una zona de piel hiperpigmentada, de 2.5 cm. denominada areola. El pezón contiene numerosas fibras musculares lisas, en su mayoría de tipo circular, las que se contraen al estimularlo mecánicamente, originando la erección del pezón.

La areola posee numerosas glándulas sebáceas, entre ellas es posible reconocer algunas que durante el embarazo y la lactancia determinan levantamientos de la piel de la areola, denominadas glándulas de Montgomery, éstas contiene estructuras histológicas similares a la parte glandular de la mama y producen una secreción grasa que lubrica el pezón y la areola. Bajo la areola se ubican las dilataciones de los conductos galactóforos llamadas senos lactíferos, que acumulan leche.

La mama en reposo está constituida por 6-10 sistemas principales de conductos, cada uno de los cuales está dividido en lobulillos, las unidades funcionales del parénquima mamario. Cada sistema ductal drena a través de una vía excretora independiente o seno lactífero. Las sucesivas ramificaciones de los conductos galactóforos en dirección distal terminan en los conductos terminales.

El tejido celular subcutáneo rodea la glándula sin que exista una cápsula claramente definida, desde éste se dirigen hacia el interior numerosos tabiques de tejido conectivo. Estos tabiques constituyen los ligamentos suspensorios de la mama o ligamentos de Cooper (1).

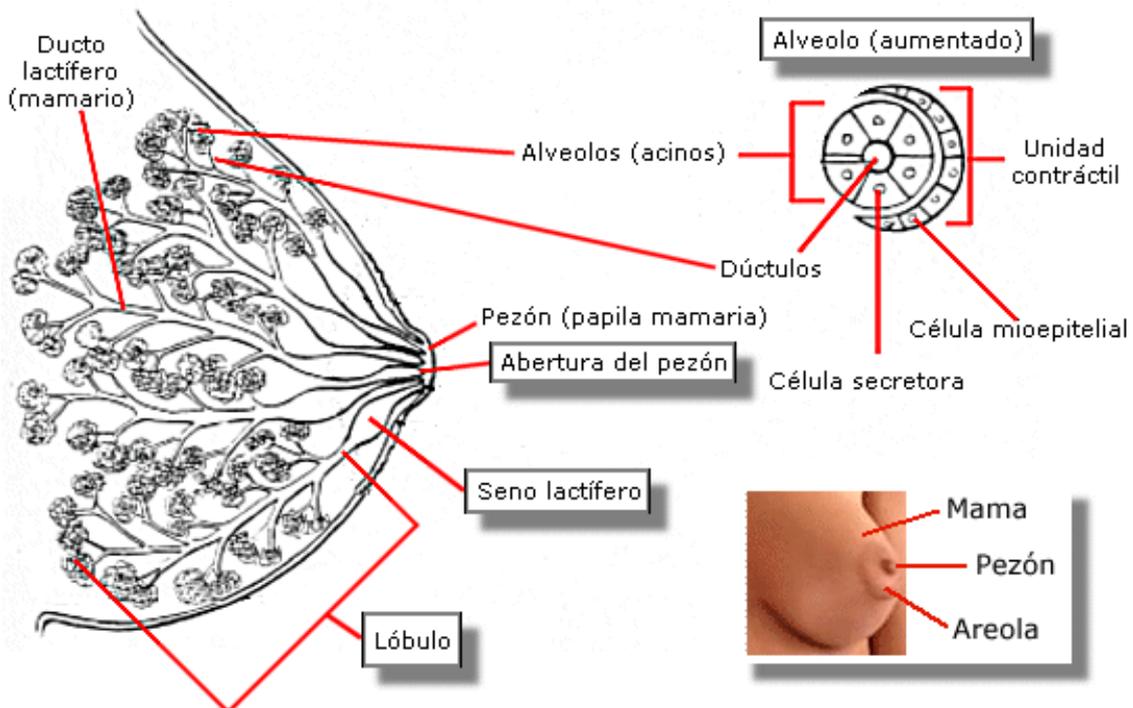




1.2 DESCRIPCIÓN HISTOLÓGICA DE LA GLÁNDULA MAMARIA.

La glándula mamaria está formada por tres tipos de tejidos: glandular de tipo túbulo-alveolar, conjuntivo que conecta los lóbulos, y adiposo que ocupa los espacios interlobulares.

La areola, el pezón y las desembocaduras de los conductos galactóforos principales están revestidos de epitelio escamoso estratificado. El revestimiento de los conductos mamarios principales se convierte en un epitelio columnar pseudoestratificado y después en epitelio cuboidal de dos capas. Por debajo del epitelio de revestimiento, más prominentemente, puede verse una capa baja de células aplanadas: las células mioepiteliales, dichas células contienen miofilamentos orientados paralelamente al eje largo del conducto. Siguiendo escrupulosamente el contorno de los conductos y conductillos existe una membrana basal. Los lobulillos están incluidos en un estroma laxo, delicado, mixomatoso, que contiene linfocitos dispersos (tejido conectivo intralobulillar), y cada uno de los lobulillos está incluido en un estroma interlobulillar más denso, colágeno-fibroso (3).



1.3 Tumores malignos de la glándula mamaria.

En la mama se agrupan tejidos de diferentes estirpes que pueden dar lugar a diferentes tipos de tumores (sarcomas, linfomas, neuroendocrinos, etc.); Siendo los mas frecuentes los de estirpe epitelial, entre ellos el carcinoma ductal y lobular. Existen otros tumores de tipo benigno que no son el objeto de esta revisión (fibroadenoma, tumor filodes y papiloma intraductal) (2).

WHO histological classification of tumours of the breast

Epithelial tumours		Adenomas	
Invasive ductal carcinoma, not otherwise specified	8500/3	Tubular adenoma	8211/0
Mixed type carcinoma		Lactating adenoma	8204/0
Pleomorphic carcinoma	8022/3	Apocrine adenoma	8401/0
Carcinoma with osteoclastic giant cells	8035/3	Pleomorphic adenoma	8940/0
Carcinoma with choriocarcinomatous features		Ductal adenoma	8503/0
Carcinoma with melanotic features			
Invasive lobular carcinoma	8520/3	Myoepithelial lesions	
Tubular carcinoma	8211/3	Myoepitheliosis	
Invasive cribriform carcinoma	8201/3	Adenomyoepithelial adenosis	
Medullary carcinoma	8510/3	Adenomyoepithelioma	8983/0
Mucinous carcinoma and other tumours with abundant mucin		Malignant myoepithelioma	8982/3
Mucinous carcinoma	8480/3		
Cystadenocarcinoma and columnar cell mucinous carcinoma	8480/3	Mesenchymal tumours	
Signet ring cell carcinoma	8490/3	Haemangioma	9120/0
Neuroendocrine tumours		Angiomatosis	
Solid neuroendocrine carcinoma		Haemangiopericytoma	9150/1
Atypical carcinoid tumour	8249/3	Pseudoangiomatous stromal hyperplasia	
Small cell / oat cell carcinoma	8041/3	Myofibroblastoma	8825/0
Large cell neuroendocrine carcinoma	8013/3	Fibromatosis (aggressive)	8821/1
Invasive papillary carcinoma	8503/3	Inflammatory myofibroblastic tumour	8825/1
Invasive micropapillary carcinoma	8507/3	Lipoma	8850/0
Apocrine carcinoma	8401/3	Angiolipoma	8861/0
Metaplastic carcinomas	8575/3	Granular cell tumour	9580/0
Pure epithelial metaplastic carcinomas	8575/3	Neurofibroma	9540/0
Squamous cell carcinoma	8070/3	Schwannoma	9560/0
Adenocarcinoma with spindle cell metaplasia	8572/3	Angiosarcoma	9120/3
Adenosquamous carcinoma	8560/3	Liposarcoma	8850/3
Mucoepidermoid carcinoma	8430/3	Rhabdomyosarcoma	8900/3
Mixed epithelial/mesenchymal metaplastic carcinomas	8575/3	Osteosarcoma	9180/3
Lipid-rich carcinoma	8314/3	Leiomyoma	8890/0
Secretory carcinoma	8502/3	Leiomyosarcoma	8890/3
Oncocytic carcinoma	8290/3		
Adenoid cystic carcinoma	8200/3	Fibroepithelial tumours	
Acinic cell carcinoma	8550/3	Fibroadenoma	9010/0
Glycogen-rich clear cell carcinoma	8315/3	Phyllodes tumour	9020/1
Sebaceous carcinoma	8410/3	Benign	9020/0
Inflammatory carcinoma	8530/3	Borderline	9020/1
Lobular neoplasia		Malignant	9020/3
Lobular carcinoma in situ	8520/2	Periductal stromal sarcoma, low grade	9020/3
Intraductal proliferative lesions		Mammary hamartoma	
Usual ductal hyperplasia			
Flat epithelial atypia		Tumours of the nipple	
Atypical ductal hyperplasia		Nipple adenoma	8506/0
Ductal carcinoma in situ	8500/2	Syringomatous adenoma	8407/0
Microinvasive carcinoma		Paget disease of the nipple	8540/3
Intraductal papillary neoplasms			
Central papilloma	8503/0	Malignant lymphoma	
Peripheral papilloma	8503/0	Diffuse large B-cell lymphoma	9680/3
Atypical papilloma		Burkitt lymphoma	9687/3
Intraductal papillary carcinoma	8503/2	Extranodal marginal-zone B-cell lymphoma of MALT type	9699/3
Intracystic papillary carcinoma	8504/2	Follicular lymphoma	9690/3
Benign epithelial proliferations			
Adenosis including variants		Metastatic tumours	
Sclerosing adenosis			
Apocrine adenosis		Tumours of the male breast	
Blunt duct adenosis		Gynaecomastia	
Microglandular adenosis		Carcinoma	
Adenomyoepithelial adenosis		Invasive	8500/3
Radial scar / complex sclerosing lesion		In situ	8500/2

¹ Morphology code of the International Classification of Diseases for Oncology (ICD-O) (921) and the Systematized Nomenclature of Medicine (<http://snomed.org>). Behaviour is coded /0 for benign tumours, /2 for in situ carcinomas and grade 3 intraepithelial neoplasia, /3 for malignant tumours, and /1 for borderline or uncertain behaviour.

1.3.1 Carcinoma no invasivo (in situ).

El carcinoma in situ es el carcinoma que no ha roto la membrana basal y por ello, no se ha extendido. El concepto tiene un interés especial ya que se considera que los cánceres in situ son susceptibles de ser curados con una simple extirpación tumoral(14).

1.3.1.1 Carcinoma ductal insitu.

Carcinoma intraductal (o carcinoma ductal in situ): (Figura 4) El carcinoma intraductal se consideraba una lesión rara, pero con el aumento del uso de la mamografía que detecta lesiones precoces y pequeñas, hoy en día supone aproximadamente del 20 al 30% de los carcinomas de mama. Está constituido por una población maligna de células (15) que carecen de la capacidad de invadir a través de la membrana basal y que por tanto son incapaces de producir metástasis a distancia. Existen 5 subtipos histológicos: comedocarcinoma, sólido, cribiforme, papilar y micropapilar (16).

A excepción del comedocarcinoma, estas lesiones son habitualmente ocultas clínicamente y se detectan como hallazgo casual en biopsias de mama o por mamografía. El comedocarcinoma se caracteriza por células de alto grado de malignidad con proliferación rápida.

1.3.1.2 Carcinoma lobulillar in situ.

Carcinoma lobulillar in situ: Se trata de una lesión histológicamente única que se manifiesta por una proliferación, en uno o más conductos terminales, acinos o ambos a la vez, de células laxamente cohesionadas, a veces algo mayores de lo normal, con raras mitosis y núcleos ovalados o redondos con nucléolos pequeños. Esta proliferación se limita a los lobulillos en los cuales se observa capa mioepitelial conservada (15).

1.3.2 Evolución del carcinoma in situ a carcinoma invasor.

El carcinoma intraductal es un claro precursor del carcinoma invasivo; si bien los pasos iniciales de los caminos que llevan a la tumorigénesis mamaria todavía no están definidos, parece que prácticamente todos los carcinomas de mama invasores proceden de un carcinoma intraductal. La presencia de cambios cromosómicos compartidos tanto en el carcinoma intraductal como en el carcinoma invasor adyacente demuestra su relación clonal evolutiva.

Existen múltiples diferencias entre el tejido normal o las lesiones benignas y el carcinoma intraductal; tienen lugar alteraciones cromosómicas, con pérdida o ganancia de múltiples loci, a medida que las lesiones hiperplásicas progresan hacia la invasividad. La pérdida de heterocigosidad se aprecia en un 70% de los tumores intraductales de alto grado, comparado con un 35% de hiperplasias con atipia o un 0% de las muestras de tejido normal. Se han identificado marcadores moleculares relacionados con la tumorigénesis mamaria: el receptor de estrógenos está expresado en un 70% de los carcinomas intraductales; el proto-oncogén Her2/neu en el 50%, pero no en las hiperplasias atípicas o en el tejido normal. El gen supresor de tumores p-53 está mutado hasta en el 25% de los casos, pero muy raramente se encuentra mutado en tejido normal o en lesiones benignas. La frecuencia con la que estos marcadores moleculares están expresados, en general refleja su traducción ulterior en carcinomas invasivos.

Los cambios más dramáticos en los patrones de expresión génica ocurren durante la transición de tejido normal a carcinoma intraductal mientras que el perfil de expresión génica del carcinoma intraductal es muy similar al del carcinoma invasivo. La historia natural de los carcinomas intraductales de grado bajo y medio sin tratar desemboca a los 10 años hasta en un 60% de los

casos en un diagnóstico de cáncer invasivo en la mama afectada. No está clara la historia natural de los carcinomas intraductales de alto grado, porque en general se resecan quirúrgicamente y por tanto el seguimiento de dicha lesión se pierde.

El carcinoma lobulillar in situ tiene un comportamiento diferente. Su tasa de proliferación es baja; en general expresa siempre el receptor de estrógenos y prácticamente nunca expresa el HER2/neu o la proteína p53- mutada. Es difícil establecer para el patólogo la línea divisoria entre el carcinoma lobulillar in situ y la hiperplasia lobulillar. El riesgo de carcinoma invasivo tras un carcinoma lobulillar in situ está aumentado de 7 a 10 veces, se diagnostican tanto en la mama afectada como en la contralateral y en cualquier lugar de la mama (a diferencia de los diagnosticados tras el carcinoma intraductal, que suelen diagnosticarse en el mismo lugar) (16).

1.3.3 CARCINOMA DUCTAL INFILTRANTE

El carcinoma ductal infiltrante es el tipo más frecuente de todos los carcinomas mamarios. La mayoría exhibe un llamativo aumento de estroma denso de tejido fibroso, que da al tumor una alta consistencia. Histológicamente consiste en células epiteliales malignas dispuestas en cordones, nidos sólidos de células, túmulos, glándulas y masas anastomosadas, o mezclas de estos patrones. Las células invaden claramente el estroma de tejido conectivo. Suele observarse la invasión de espacios perivasculares y perineurales, así como de vasos sanguíneos y linfáticos. En función de dos parámetros (grado de atipia nuclear y diferenciación histológica definida por la formación de túbulos), se clasifican en bien diferenciados, moderadamente y pobremente diferenciados (15,16).

Existen otros subtipos histológicos menos frecuentes (medular, coloide, enfermedad de Paget de la mama).

1.3.4 CARCINOMA LOBULAR INFILTRANTE

El carcinoma lobular infiltrante es el segundo cáncer de mama más frecuente, después del carcinoma ductal infiltrante. Su incidencia varía del 1 al 20%, las características histológicas más importantes para la definición de carcinoma lobulillar infiltrante son la citología y el patrón de infiltración. El carcinoma lobulillar infiltrante clásico se distingue por células pequeñas, con características citológicas idénticas a las del carcinoma lobulillar in situ, por núcleos suaves, redondos e irregulares y citoplasma con “luces” (vacuolas) intracitoplasmáticas ocasionales (15).

Las células tienen poca cohesión entre sí por la pérdida de la proteína de adhesión E-cadherina. Las mitosis son poco frecuentes. El volumen nuclear es pequeño, las células infiltran en fila india, que con frecuencia rodea estructuras existentes. Estas dos características dan el nombre de patrón clásico. El factor adverso en esta enfermedad es la metástasis a ganglios axilares.

La edad promedio de manifestación es mayor que en el cáncer ductal (50 a 60 años); el sitio anatómico y el diámetro es, por lo general, similar al del carcinoma ductal infiltrante. Una característica del carcinoma lobulillar infiltrante es su patrón multifocal (50%) y bilateral (14 al 30%), sobre todo en la variante pleomórfica. Estas variantes han demostrado tener poca importancia en cuanto al pronóstico, ya que se ha observado que la supervivencia global o la libre de enfermedad después del tratamiento conservador tiene mejor pronóstico que el carcinoma ductal infiltrante (15).

1.4 ESTUDIO DE INMUNOHISTOQUÍMICA.

La inmunohistoquímica es un método para localizar antígenos específicos, en tejidos o células basado en una reacción antígeno-anticuerpo; busca explotar la especificidad proporcionada por el enlace de un anticuerpo con su antígeno a nivel del microscopio de luz. Se basa en la aplicación de principios y técnicas inmunológicas en el estudio de las células y los tejidos.

Ya que las moléculas están restringidas en distribución a tipos celulares específicos, la capacidad para identificar moléculas a través de secuencias antigénicas se ha convertido en una técnica muy eficaz en patología quirúrgica diagnóstica.

Las ventajas de esta técnica son tan aparentes y tan numerosas que la han convertido en el método biológico perfecto que puede ser realizado bajo condiciones rutinarias, por ejemplo: fijación estándar de los tejidos e inclusión en parafina; puede ser realizado retrospectivamente en material que ha sido archivado por años; es notablemente sensible y específico; se puede aplicar virtualmente a cualquier molécula antigénica, y más importantemente, la evaluación del mismo se hace en conjunto con el aspecto morfológico con el cual el patólogo está tan familiarizado (4).

La meta de la inmunohistoquímica es una caracterización más precisa de las células, agentes infecciosos y otras macromoléculas.

Los objetivos son variados, los más importantes son:

- a) Determinación de histogénesis, que nos permite definir la estirpe histológica de neoplasias poco diferenciadas, cuyo diagnóstico diferencial es muy amplio y también nos permite establecer con certeza tipos y subtipos de los tumores.
- b) Identificación de agentes infecciosos específicos, por ejemplo, pneumocystiscarinii.
- c) Separación de procesos reactivos de neoplásicos, como por ejemplo, la caracterización funcional en tejidos endocrinos, o bien, la ausencia de células basales en las glándulas del adenocarcinoma prostático.
- d) Indicadores pronósticos y predictivos en las neoplasias, por ejemplo la determinación cualitativa de receptores hormonales en el carcinoma mamario, o la expresión de proteína p53, Ki-67 o c-erbB-2.
- e) Identificación de mutaciones genéticas.

1.4.1 USO DE INMUNOHISTOQUIMICA EN CARCINOMA DE MAMA.

Últimamente se ha observado un gran incremento en el estudio y el uso, como factores pronósticos relacionados con el comportamiento biológico del tumor y que corresponden a la presencia o ausencia de receptores de estrógeno y progesterona, ploidía, enzimas, factores de crecimiento, oncogenes y sus productos. El grado de expresión de estos marcadores en el tejido tumoral se analiza a través de procedimientos inmunohistoquímicos que persiguen averiguar en definitiva el grado de proliferación, malignidad y capacidad de invasión de las células neoplásicas (5).

El interés clínico en estos factores pronósticos se relaciona con la posibilidad de delimitar a los pacientes en estadios precoces de carcinoma mamario que tienen posibilidades ciertas de recidivar y aquellos que tienen posibilidades más remotas y, por lo tanto, pueden ahorrarse la terapia sistémica y su morbilidad (5).

RECEPTORES DE ESTRÓGENOS Y PROGESTERONA.

Las hormonas esferoidales circulan en la sangre en forma libre o unidas a proteínas transportadoras, cruzan la membrana celular por difusión y se unen a proteínas localizadas en el núcleo o el citoplasma: los receptores esferoidales. Estos, al ser activados por las hormonas, se fosforilan y se convierten en receptores activos.

Los receptores de hormonas esferoidales, principalmente el receptor de estrógeno y el receptor de progesterona, han sido utilizados y estudiados ampliamente como indicadores de pronóstico y como guías para la realización de la terapia hormonal. Entre un 50% a un 80% de los cánceres de mama expresan receptores de estrógenos. La frecuencia con la cual los tumores expresan receptores y la concentración de éstos se incrementa al aumentar la edad y alcanzan su mayor nivel en las pacientes postmenopáusicas.

La presencia de receptores de estrógeno implica que los mecanismos celulares normales para procesar esta hormona se encuentran conservados a pesar de la transformación neoplásica, especialmente si conjuntamente se expresa el receptor de progesterona. El receptor de progesterona se expresa sólo después de la activación transcripcional de su gen.

La importancia clínica del receptor de estrógenos se relaciona con el hecho de que su presencia identifica tumores que son sensibles al tratamiento hormonal con el antagonista correspondiente. Cerca de un 50% a un 60% de los pacientes responden favorablemente a este tipo de terapia endocrina. Un porcentaje mayor de tumores responde si se expresan tanto el receptor de progesterona como el de estrógeno y la intensidad de tinción del receptor de estrógeno es alta. Es así como se ha observado que pacientes con tumores que expresan receptores de estrógenos tienen mayor supervivencia, un período mayor libre de enfermedad y una mayor supervivencia después de recaer cuando se les compara con pacientes que tenían tumores negativos para este receptor.

Los tumores positivos para el receptor de estrógenos generalmente tienen características histopatológicas de bajo grado, además de grado nuclear e índice de proliferación bajos. La influencia de la terapia en el pronóstico es difícil de excluir, porque los pacientes positivos para este receptor son habitualmente tratados y se benefician de la terapia hormonal, tanto en forma coadyuvante como paliativa.

Un análisis multivariado de factores pronósticos que incluyó los receptores hormonales para 3000 casos, demostró que los receptores estrogénicos son más importantes para el pronóstico que el tamaño tumoral en los casos sin metástasis ganglionares pero no en los casos con metástasis. (17).

Fisher y cols. demostraron que el estado de los receptores de estrógeno era menos importante para el pronóstico de la supervivencia libre de enfermedad o la supervivencia total que el número de ganglios positivos y el grado nuclear (4).

INDICE MITÓTICO

El índice mitótico mide la proliferación celular directamente en cortes histológicos. La actividad mitótica se mide como el número de mitosis por un determinado número de campos ópticos (generalmente 10) de alto aumento en cortes teñidos en forma rutinaria. Estas mitosis se hacen mas evidentes al realizar tinción de inmunohistoquímica con el anticuerpo Ki-67.

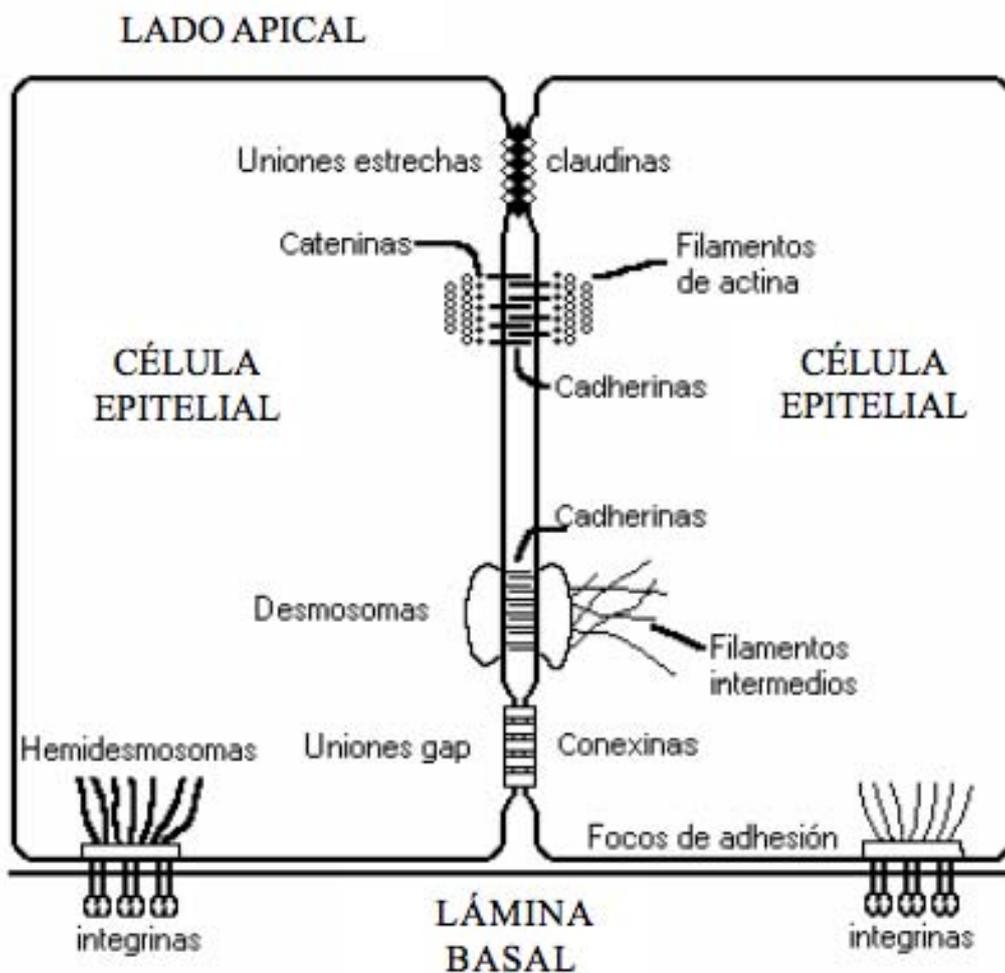
El Antígeno Ki-67 es un anticuerpo monoclonal que identifica un antígeno nuclear que se encuentra en células en las fases proliferativas del ciclo celular (G1, S, G2 y M).

No identifica células en la etapa de descanso (G0). Su expresión también es frecuentemente evidenciada por métodos inmunohistoquímicos. Los nuevos anticuerpos que se han desarrollado actualmente permiten su identificación en tejidos fijados y en biopsias procesadas en forma rutinaria. Altos índices de Ki-67 están asociados con una baja diferenciación histológica y con la ocurrencia de metástasis ganglionares (4).

Un estudio de Veronese y cols.* , quienes usaron el 20% de las células con tinción nuclear como límite entre índices de proliferación alta y baja, encontró que este marcador predijo la sobrevida a cuatro años independientemente del estado ganglionar y del estado de los receptores de estrógeno. Al estudiar un grupo de pacientes con metástasis axilares se encontró una diferencia significativa en la sobrevida libre de enfermedad en los pacientes que tenían Ki-67 positivo y receptores estrogénicos negativos al compararlos con el grupo de Ki-67 negativo y receptores estrogénicos positivos (6,7).

1.4.2 EXAMEN DE INMUNOHISTOQUÍMICA CON E-CADERINA PARA DIFERENCIAR ENTRE CARCINOMA DUCTAL Y CARCINOMA LOBULAR.

Las células normales están adheridas entre sí y a sus alrededores mediante diversas moléculas de adhesión; de especial importancia son las cadherinas, una familia de glucoproteínas transmembrana. Las cadherinas epiteliales median la adherencia en un tejido epitelial, motivando así la constitución homogénea de un tejido; sin embargo, se sabe que en diversos tumores epiteliales como los adenocarcinomas de colon o mama, existe una regulación a la baja de la expresión de dichas cadherinas. Esto facilita el desprendimiento de las células.



El proceso de metástasis inicia con la interrupción de la interacción local célula-célula, alterando la membrana basal, invadiendo e infiltrando tejido circunvecino, alcanzando y penetrando al interior de los vasos sanguíneos o linfáticos.

Las células se adhieren entre sí y a la matriz extracelular a través de proteínas de superficie celular llamadas moléculas de adhesión celular (CAM). Las CAM pueden ser moléculas de adhesión célula-célula o moléculas de adhesión matriz extracelular-célula. Ciertos componentes de la matriz extracelular (MEC), incluyendo fibronectina, laminina y colágena, tienen capacidad para enlazarse a receptores celulares (8).

Algunas CAM son dependientes de Ca^{2+} , mientras otras son independientes de este catión. Las CAM dependientes de Ca^{2+} son responsables de la adhesión entre células del mismo tejido. Las CAM fueron inicialmente identificadas usando anticuerpos contra moléculas de superficie celular, los cuales inhibieron la adhesión célula-célula al ser probados en un tubo de ensayo que contenía células del mismo órgano que tienden a adherirse entre ellas.

A la fecha se reconocen diferentes tipos de moléculas que permiten la unión entre células y de células con la matriz extracelular. Entre las primeras se tienen a las claudinas y las ocludinas presentes en las uniones estrechas, las cadherinas en las uniones adherentes, las desmogleinas (una subfamilia de cadherinas) en desmosomas y conexinas en las uniones gap. En el segundo tipo de uniones, las integrinas en los hemidesmosomas y adhesiones focales median la interacción célula-matriz. Un tipo de molécula que participa en la unión entre células son las cadherinas, las cuales son el tema central de este trabajo.

Las cadherinas son las principales moléculas que forman parte de las CAM y son responsables de la adhesión célula-célula dependiente de Ca^{2+} en tejidos de vertebrados (9).

Las cadherinas son una superfamilia de moléculas de adhesión que intervienen en el reconocimiento celular, la morfogénesis del tejido y la supresión de tumores. Las cadherinas se clasifican en cinco subfamilias de acuerdo a la estructura base de sus dominios y organización genómica (18).

Las cadherinas tienen un dominio extracelular largo, que une de manera homofílica (moléculas presentes en la superficie celular se unen a otras moléculas del mismo tipo) a las cadherinas sobre una célula adyacente. La cadherina E es el miembro típico de estas moléculas de adhesión dependientes de Ca^{2+} que median la adhesión célula-célula. Las cadherinas clásicas son diferencialmente expresadas durante el desarrollo embrionario normal, es decir, presentan funciones distintas, relacionadas y no relacionadas con su capacidad adhesiva. Las cadherinas E y P se encuentran en epitelio promoviendo uniones adherentes célula-célula. En contraste, la cadherina N se encuentra inicialmente en tejido neural y fibroblastos, donde se ha propuesto que median una adhesión célula-célula de forma más dinámica y menos estable. Al parecer la interacción adhesiva de las cadherinas entre las células, se inicia a través de la dimerización de dos cadherinas sobre la misma superficie celular, que resulta en una fuerza adhesiva célula-célula particularmente fuerte y estable (10).

Las cadherinas también tienen un dominio transmembranal y un dominio citoplásmico que está altamente conservado entre la mayoría de los miembros de la familia de las cadherinas. El dominio citoplásmico interacciona con moléculas intracelulares denominadas cateninas, las cuales unen el dominio citoplásmico de las cadherinas con las fibras de actina del citoesqueleto. La unión de las cadherinas al citoesqueleto es necesaria para la adhesión célula-célula, de tal manera que una mutación en la cadherina E o en las cateninas, trae como consecuencia una disfuncionalidad que impide la formación del complejo cadherina-cateninas, eliminando la adhesión celular.

Característicamente los carcinomas lobulares tienen pérdida de la expresión de la proteína E-cadherina presentando esto discohesividad celular, al perder estas proteínas los carcinomas lobulares tienen mayor facilidad para presentar

metástasis locales, a la mama contralateral o a otras partes del cuerpo, siendo esta característica la que nos ayuda a hacer la diferenciación del carcinoma ductal (11) .

Her-2/Neu.

En los últimos años, el estudio de los oncogenes celulares ha sido uno de los campos de mayor investigación dentro de la Biología Molecular y la Medicina. Se conoce que la activación y la sobre-expresión de estos oncogenes cumplen un importante papel en el desarrollo del cáncer, lo que permite obtener información adecuada para la evaluación de las decisiones terapéuticas a aplicar en cada caso.

Dentro de esta familia de oncogenes se encuentra el HER-2/neu, sigla proveniente de Human Epidermal Growth Factor Receptor-2. El gen HER-2/neu codifica un receptor para factores de crecimiento que se expresa en células epiteliales normales. Es una proteína, denominada p185, de 185 kDa de peso molecular, presente en la superficie celular con funciones en el crecimiento y proliferación celular. Se supone que cada célula tiene dos copias del gen HER-2, pero por razones aún desconocidas, algunas células cancerosas poseen múltiples copias de dicho gen (amplificación genética) lo que se traduce en una sobre-expresión de la proteína HER-2/neu.

La oncoproteína HER-2/neu está compuesta por tres dominios: el dominio citoplasmático con actividad de tirosina quinasa, el dominio transmembrana y el dominio extracelular (ECD) que es la porción que interactúa con los factores de crecimiento y con los dominios extracelulares de otros miembros de la familia HER-2/neu, como HER-1, HER-3 y HER-4 que también son receptores de la superficie celular para factores de crecimiento.

Existe una estrecha correlación entre los niveles circulantes de Her-2/neu, sobre-expresión de Her-2/neu, masa tumoral y activación del receptor de membrana. La liberación del dominio extracelular se asocia con un incremento de la fosforilación tirosin-quinasa intracelular y la concentración sérica del Her-

2/neu puede ser un indicador no sólo de la amplificación génica sino también de la activación del receptor (16).

Desde 1980, se ha descrito que el oncogen HER-2/neu y su producto proteínico intervienen en el desarrollo del cáncer de mama y de sus metástasis. Se estima que un 20-30% de los cánceres de mama sobre-expresan esta proteína (17).

Los tumores que presentan la sobre-expresión son más agresivos, tienen un crecimiento más rápido, una mayor probabilidad de recurrencia post-tratamiento y pueden responder de manera diferente a las terapias habituales, por lo que generalmente los pacientes tienen un pobre pronóstico (8).

El significado de la positividad para HER-2/neu tiene valor pronóstico, dado que se asocia con enfermedad más agresiva y valor predictivo porque permite la identificación de pacientes que pueden beneficiarse de Herceptin.

Los métodos más comúnmente utilizados para la determinación del gen y de la proteína HER-2/neu son: FISH (Fluorescent In Situ Hybridization) para DNA, inmunohistoquímica para medir la expresión de la proteína p185 e Inmunoensayos (ELISA y Quimioluminiscencia Directa) para medir el dominio extracelular (ECD) circulante en suero (10).

CAPITULO II. MATERIAL Y MÉTODOS.

2.1 Planteamiento del problema.

¿El uso de inmunohistoquímica con E-cadherina (E-c) de manera rutinaria, puede elevar la certeza diagnóstica en el estudio histopatológico para hacer diagnóstico diferencial entre carcinomas lobulares y ductales?

2.2 Hipótesis.

La aplicación de E-c de manera rutinaria aumentará la certeza diagnóstica en el estudio histopatológico de biopsias de mama con diagnóstico diferencial entre carcinoma ductal o lobular.

2.3 Objetivos.

General: Determinar si existen diferencias diagnósticas en el estudio histopatológico de biopsias de mama con diagnóstico diferencial entre carcinoma ductal y carcinoma lobular, agregando el uso de E-cadherina.

Secundario: Proponer al servicio de anatomía patológica del H.G.E. Los cambios pertinentes en los protocolos de aplicación de E-c en caso en que las diferencias sean significativas.

2.4 Justificación.

El Carcinoma en mama, tanto ductal como lobular son patologías que en los últimos años han crecido a nivel mundial de una manera exponencial, este fenómeno patológico trae como consecuencia que los nosocomios oncológicos mejoren sus sistemas de recepción, diagnóstico y tratamientos específicos, estos últimos pueden ser tratamiento quirúrgico, quimioterapia y radioterapia.

En este estudio se pretende mejorar la certeza diagnóstica con el uso de E-c, en el diagnóstico de histopatológico de carcinoma ductal y/o lobular al compararlos con los resultados obtenidos sin el uso de esta herramienta diagnóstica.

2.5 Diseño del estudio.

Retrospectivo, abierto, comparativo, transversal, censal.

2.6 Grupo de estudio.

Reportes histopatológicos de pacientes que hayan sido referidas al H.G.E. con diagnóstico de carcinoma ductal y/o lobular en el periodo de enero del 2012 a febrero del 2013

2.7 Tamaño de la población.

Se seleccionaran los reportes de pacientes con diagnóstico de carcinoma ductal y/o lobular de enero del 2012 a febrero del 2013, se han localizado 86 estudios.

2.8 Criterios de inclusión.

Reportes de pacientes con diagnóstico carcinoma ductal y/o lobular referidas al servicio de patología del H.G.E.

2.9 Criterios de eliminación.

Biopsias por TRU-CUT cuyo tejido no sea suficiente, se comprometa durante el proceso o cuya tinción no sea adecuada para valoración.

2.10 Descripción general del estudio.

- a) Revisión de los registros del Servicio de Patología del Hospital General del Estado de Sonora para selección de casos.
- b) Obtención de las laminillas.
- c) Obtención de bloques de parafina.
- d) Se revisaran al microscopio las laminillas teñidas en HE y se harán diagnósticos correspondientes por parte del investigador y el asesor.
- e) Se realizaran nuevos cortes de los bloques de parafina de las biopsias seleccionadas y se procesaran con técnica de inmunohistoquímica para e-caderina.
- f) Se observaran al microscopio las laminillas teñidas con técnica de inmunohistoquímica para e-caderina y se procederá al diagnostico correspondiente en cada una de ellas valorando la positividad y localización de la tinción.
- g) Se procesara la inferencia estadística con tablas, graficas y estudios de correlación.

2.11 Análisis estadístico.

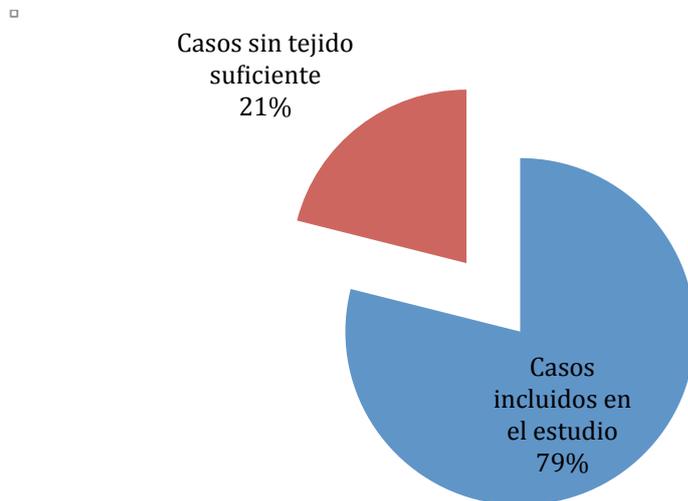
Se aplicara estadística descriptiva en las variables que se obtengan de las muestras tales como: cuadros de frecuencia, proporciones, porcentajes y graficas.

CAPITULO III. RESULTADOS, DISCUSIÓN, CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.

3.1 RESULTADOS.

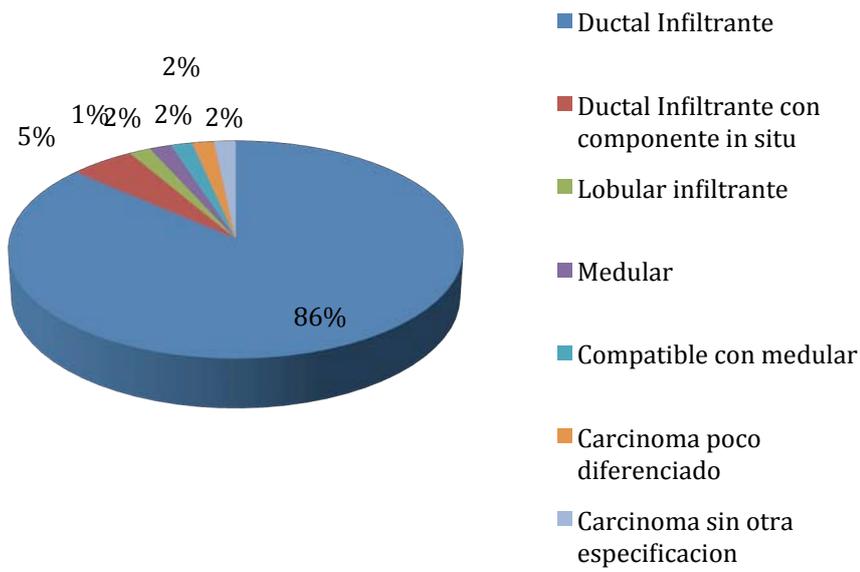
Se obtuvieron un total de 86 casos con biopsia por TRU-CUT con diagnostico de carcinoma ductal o lobular, en el periodo de 1 de enero del 2012 al 29 de febrero del 2013.

De estos se excluyeron 16 (21.1 %) casos debido a que el material era insuficiente para el estudio de inmunohistoquímica.



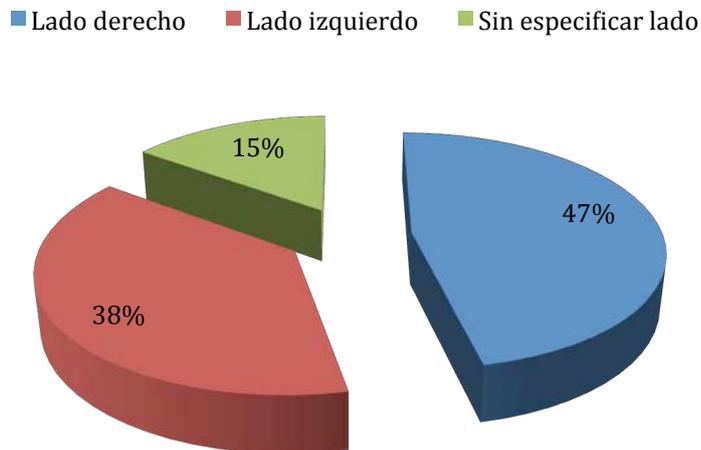
El estudio incluyó un total de 60 casos de biopsias por TRU-CUT los cuales incluían, 51 (85%) con diagnostico de carcinoma ductal infiltrante (fig 1), 3 (5%) casos con diagnostico de carcinoma ductal infiltrante con componente in situ, 1 (1.6%) caso con diagnostico de carcinoma ductal in situ, 1 (1.6 %) caso de carcinoma lobular (fig 2), 1 (1.6%) caso de carcinoma medular, 1 (1.6%) caso de carcinoma poco diferenciado, 1 (1.6%) caso de carcinoma sin otra especificación y 1 (1.6%) caso con diagnostico de compatible con carcinoma medular.

□



Del total de los casos, 28 (46.7%) casos se presentaron en mama del lado derecho, 23 (38.3) casos en mama izquierda y en 9 (15%) casos no se especifico el lado.

□



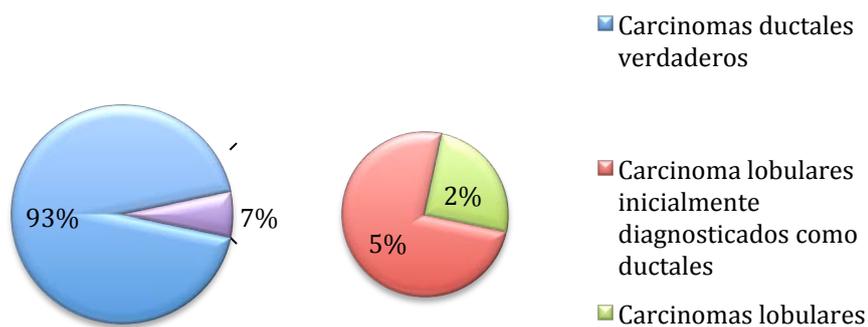
La totalidad de los 60 casos correspondieron a pacientes del sexo femenino.

Del total de los 60 casos, 56 fueron positivos para la tinción de inmunohistoquímica con e-cadherina (fig 3), 59 de los cuales tenían diagnóstico de carcinoma ductal in situ o infiltrante y sus variedades, 1 de carcinoma lobular (Fig 4).

4 casos resultaron negativos para tinción con e-cadherina, de los cuales 3 fueron inicialmente diagnosticados como carcinoma ductal (fig 5).

El diagnóstico cambió en 3 casos, todos previamente diagnosticados como carcinoma ductal a carcinoma lobular, lo que significa 5% del total de las muestras revisadas (Fig 6).

□



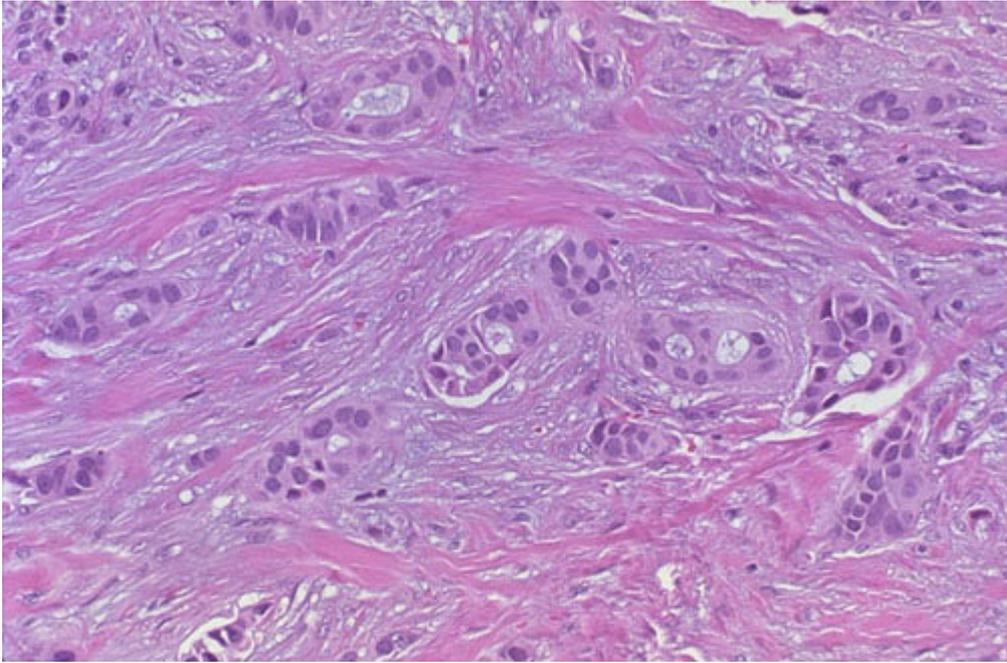


Figura 1.- Carcinoma ductal infiltrante, caracterizado por células neoplásicas malignas con formaciones tubulares sin presencia de células mioepiteliales.

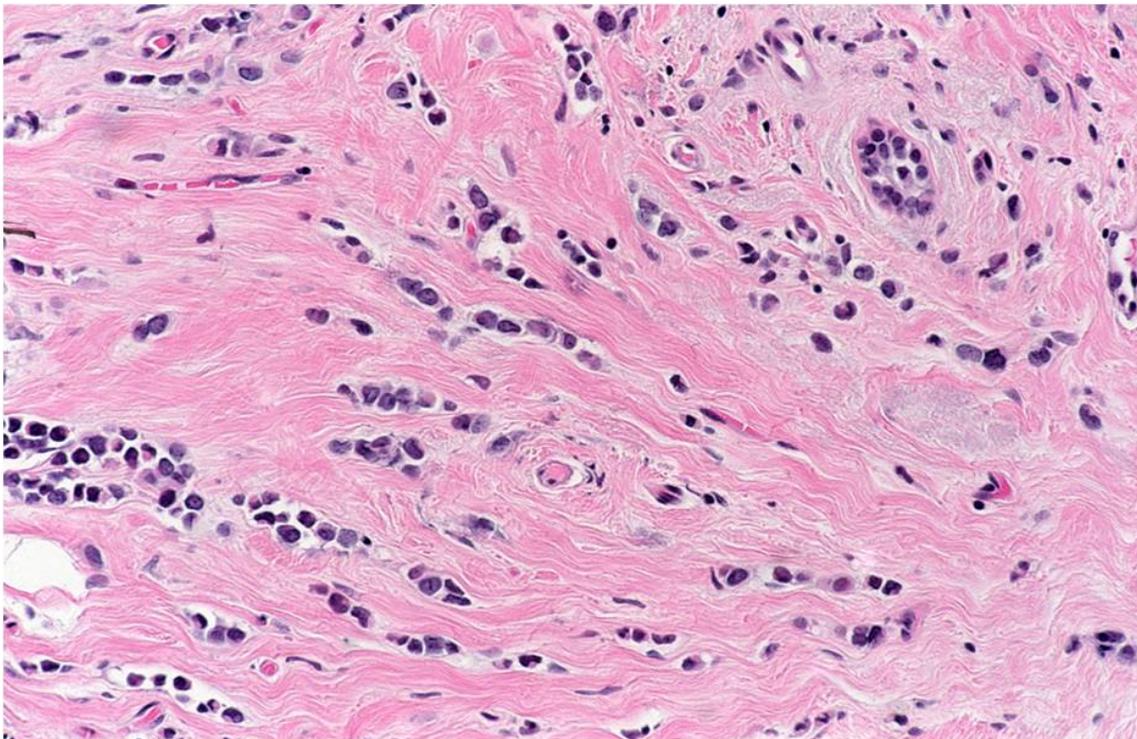


Figura 2: Carcinoma lobulillar infiltrante, con infiltración característica en fila india.

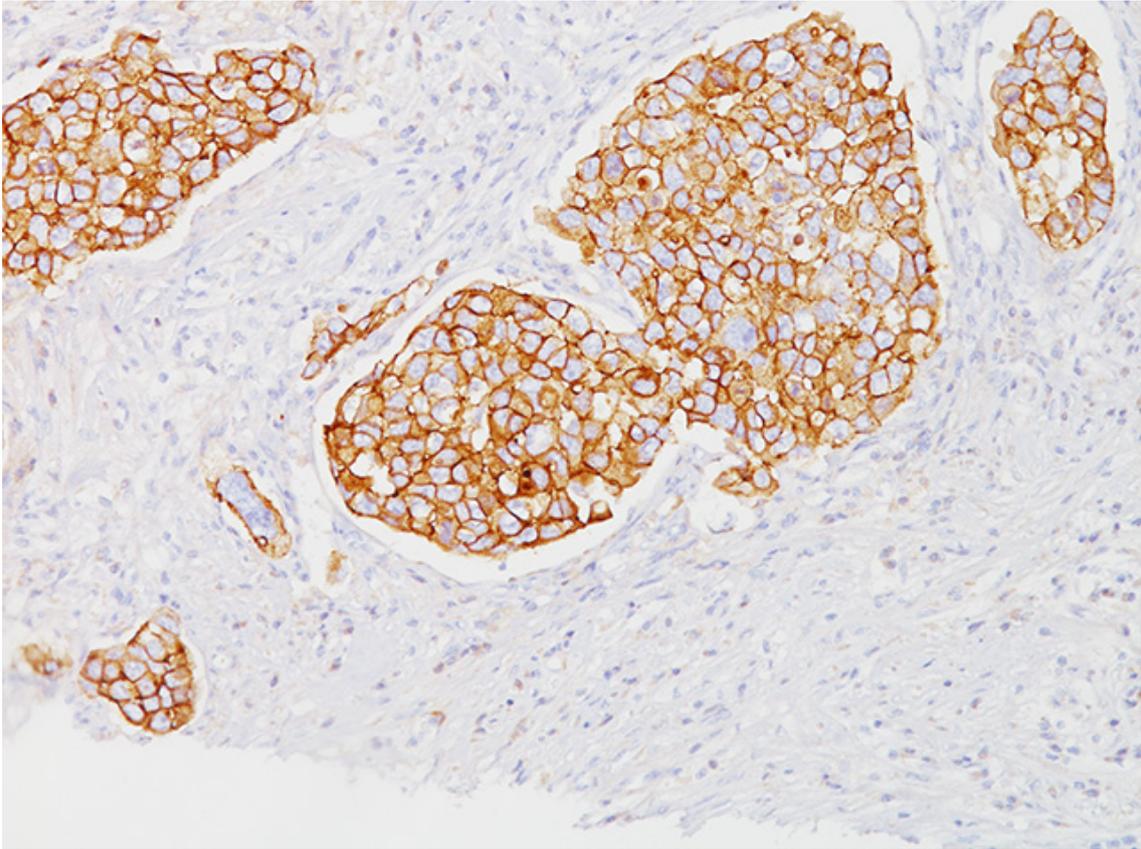


Figura 3: Carcinoma ductal infiltrante, positividad en membrana para e-cadherina (+++).

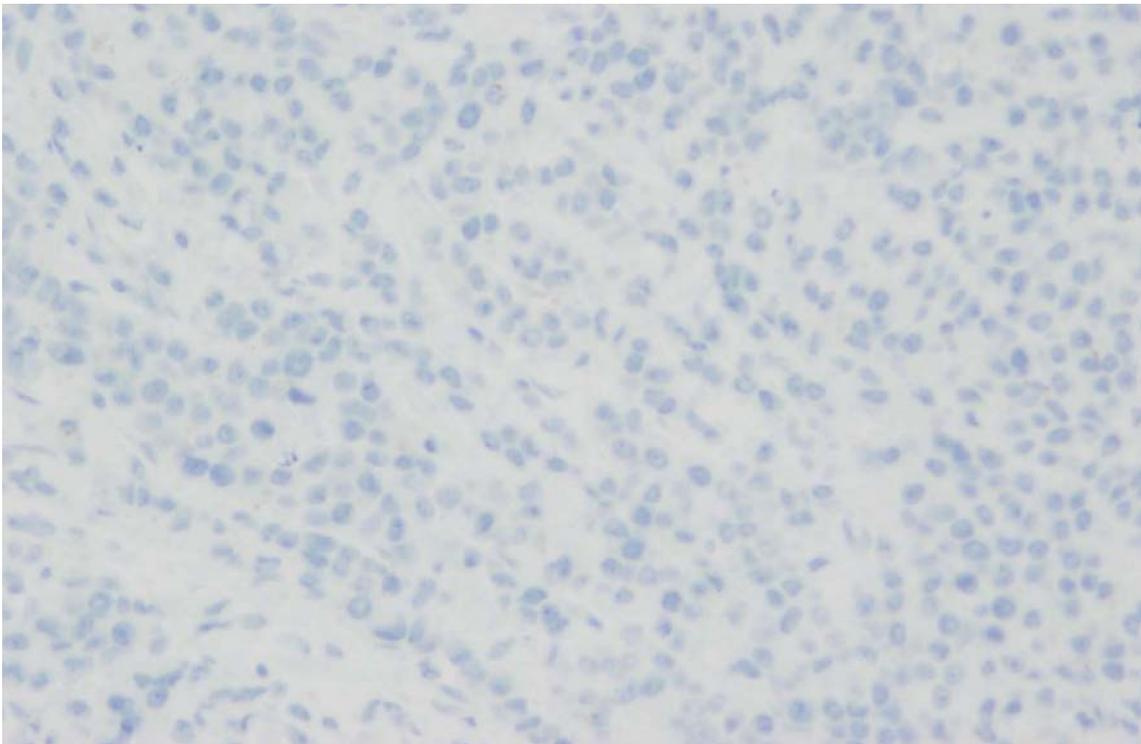


Figura 4.- Carcinoma lobular infiltrante, negativo para e-cadherina.

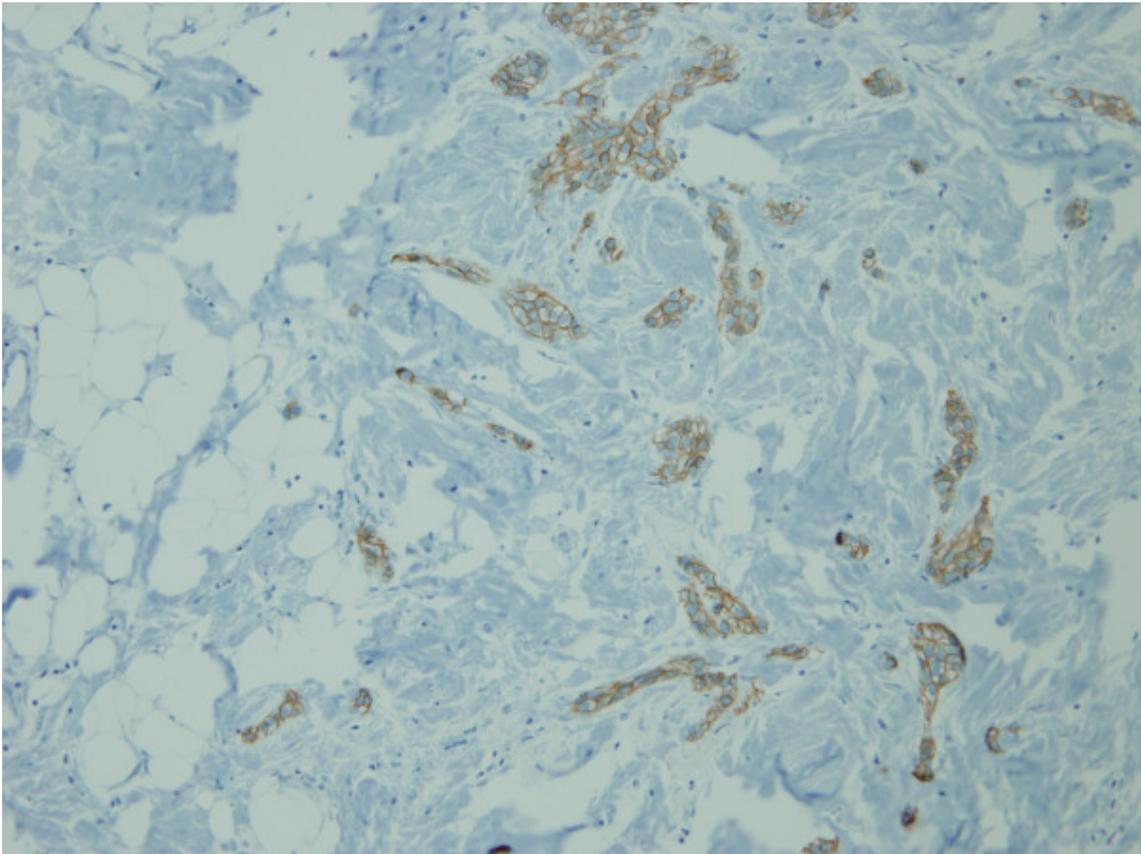


Figura 5: Carcinoma ductal infiltrante aparentando patrón en fila india. La positividad de e-cadherina descarta diagnóstico de carcinoma lobular.

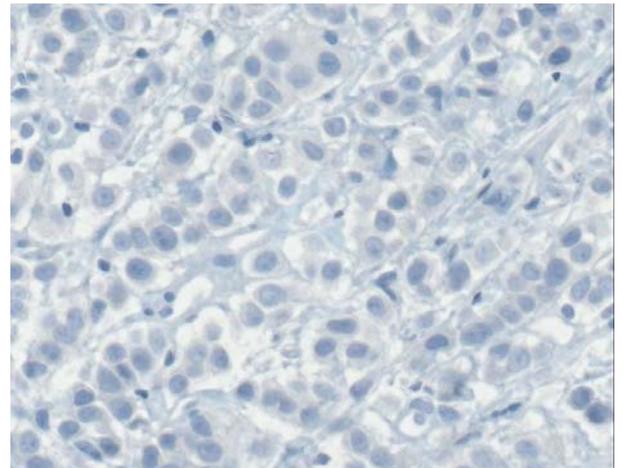
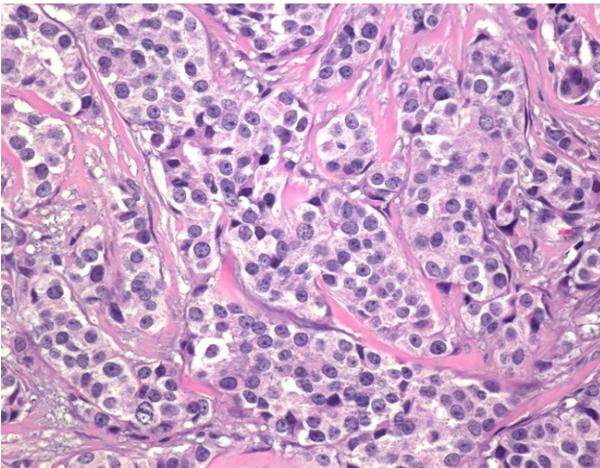


Figura 6.- Negatividad para e-cadherina en carcinoma previamente diagnosticado como carcinoma ductal.

3.2 Discusión.

Los carcinomas ductales y lobulillares, pueden tener parecido histológico y en ocasiones es difícil para el patólogo diferenciarlos. Ambas neoplasias se producen por la proliferación del epitelio de los conductos mamarios. El carcinoma lobulillar originado de la porción terminal del lobulillo, usualmente muestra positividad a los receptores de estrógenos en un 60 a 90% y esta caracterizado por la perdida de la expresión de e-cadherina la cual esta presente en neoplasias ductales.

Estudios realizados en diversas publicaciones señalan la necesidad de examinar inmunohistoquímicamente y en detalle la relación entre el diagnostico de carcinoma lobulillar y el ductal en cáncer de mama. En particular observando que en algunos casos existen dificultades para hacer el diagnostico diferencial entre estas dos neoplasias en los cortes teñidos con hematoxilina/eosina sin el apoyo de la tinción de inmunohistoquímica de e-cadherina.

Se ha reportado en distintas series que el diagnostico inicial se ha tenido que modificar en 3.2 a 14.4% posterior al empleo de e-cadherina, refiriendo casos en los que el diagnostico inicial de carcinoma ductal fue modificado a carcinoma lobular o a carcinoma ductal con componente lobular.

Algunas series refieren que los carcinomas que muestran histología de alto grado tienden a tener una tinción con e-cadherina mas tenue que en los casos de carcinomas de bajo grado en los cuales por lo general la tinción es intensa.

En el tejido mamario fijado en formol e incluido en parafina la e-cadherina se expresa en la membrana de las celulas epiteliales de los conductos así como en carcinoma ductal in situ e infiltrante; no así en el carcinoma lobulillar in situ o infiltrante. Es un hecho conocido que las celulas del carcinoma lobulillar cuando se hace infiltrante adoptan una disposición en fila india, este fenómeno es una consecuencia de la perdida de la expresión de la proteína e-cadherina.

3.3 Conclusiones.

El uso de e-cadherina de manera rutinaria incrementa la certeza diagnóstica en el estudio histopatológico de biopsias con diagnóstico de carcinoma ductal y lobular.

El examen de estos resultados lleva a detectar fallas en el diagnóstico de carcinomas ductales y lobulares cuando las biopsias sean examinadas histológicamente sin empleo de técnica de inmunohistoquímica con e-cadherina,

No siempre que el patólogo estudia una neoplasia mamaria con morfología de carcinoma ductal este será el diagnóstico correcto, debido a que algunos carcinomas lobulares muestran morfología que podría confundir con un carcinoma ductal.

Se pueden dar casos de carcinomas ductales con apariencia de carcinoma lobular o de carcinoma mixto los cuales pueden llevar a un diagnóstico incorrecto.

3.4 Recomendaciones.

El empleo del estudio de inmunohistoquímica de manera rutinaria para tener más certeza diagnóstica en estudios histopatológicos de biopsias de mama.

1. Anatomía con orientación clínica, Keith L. Moore, 6ta edición 2010, Williams y Wilkings.
2. Coltran, Kumar y Robbins, Patología funcional y estructural, 7ª edición. Elsevier, 2004.
3. Mills, SE. Histology for pathologists. 3a edición. Lippincott Williams & Wilkins, 2007.
4. Differential expression of E-cadherin in lobular and ductal neoplasms of the breast and its biologic and diagnostic implications. Acs G1, Lawton TJ, Rebbeck TR, LiVolsi VA, Zhang PJ. Am J Clin Pathol. 2001 Jan;115(1):85-98.
5. E-Cadherin as a diagnostic biomarker in breast cancer. Rajeev Singhai, Vinayak W Patil, Sanjog R Jaiswal, Shital D Patil, Mukund B Tayade. Am J Med Sci. May 2011; 3(5): 227–233.
6. E-Cadherin Status in Breast Cancer Correlates With Histologic Type but Does Not Correlate With Established Prognostic Parameters. Hina S. Qureshi, MD, Michael D. Linden, MD. Am J Clin Pathol 2006;125:377-385.
7. E-cadherin expression in primary carcinomas of the breast and its distant metastases. Paul J Kowalski, Mark A Rubin and Celina G Kleer. Breast Cancer Res 2003, 5:R217-R222.
8. E-Cadherin Staining Can Distinguish Ductal From Lobular Carcinoma. Alison Palkhivala.
9. E-Cadherin: An aid in Distinguishing Ductal from Lobular Breast Proliferations. Rodney T. Miller, M.D.
10. Differential Expression of E-cadherin in Ductal and Lobular Carcinoma of the Breast. Modern Pathology 13, 2000.
11. Qualitative and Quantitative Immunophenotypic Distinction between Ductal and Lobular Carcinomas. Modern Pathology 11 (1): 31A, 1998.
12. Cytokeratin Immunostaining Pattern and E-cadherin Expression Distinguish Lobular from Ductal Carcinoma of the Breast. Am J Clin Pathol 114:190-196, 2000

13. Differential expression of e-cadherin in lobular and ductal carcinoma of breast in an Iranian Cancer Care Hospital, Alireza Abdollahi, Ensani F, Maleki Z, Iravanlo G, Ashtari A. (2011-03-06).
14. Differentiation of tumours of ductal and lobular origin: proteomics of invasive ductal and lobular breast carcinomas. Gulisa Turashvilia, Jan Bouchala, George Burkadzeb, Zdeněk Kolářa. *Biomed. Papers* 149(1), 57–62 (2005).
15. Rosen PP. *Rosen's Breast Pathology*. Lippincots-Raven Publishers 1997.
16. Weidner N, Cote R, Suster S, et al. *Modern Surgical Pathology*. Elsevier Science, 2003. p. 891–2.
17. Molland JG, Donnellan M, Janu NC, Carmalt HL, Kennedy CW, Gillett DJ. (2004) Infiltrating lobular carcinoma--a comparison of diagnosis, management and outcome with infiltrating duct carcinoma. *Breast* 13, 389-96.
18. Gamallo C, Palacios J, Suarez A, Pizarro A, Navarro P, Quintanilla M, Cano A. (1993) Correlation of E-cadherin expression with differentiation grade and histological type in breast carcinoma. *Am J Pathol* 142, 987–93.