

**UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE CIENCIAS BIOMÉDICAS Y TECNOLÓGICAS
TSU HISTOTECNOLOGIA
TRABAJO MONOGRAFICO**



**IMPORTANCIA DE LA INMUNOHISTOQUIMICA EN EL DIAGNOSTICO,
PRONOSTICO Y TRATAMIENTO DEL CANCER DE MAMA**

**AUTORES:
URBANO MILANDRIZ
VERA MELINA
TUTOR:
LOIDA PONCE**

BARBULA, OCTUBRE 2013



**UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE CIENCIAS BIOMEDICAS Y TECNOLOGICAS
T.S.U. EN HISTOTECNOLOGIA
TRABAJO MONOGRÁFICO**



CONSTANCIA DE ENTREGA

La presente es con la finalidad de hacer constar que el Trabajo Monográfico titulado:

**IMPORTANCIA DE LA INMUNOHISTOQUIMICA EN EL DIAGNOSTICO,
PRONOSTICO Y TRATAMIENTO DE CANCER DE MAMA**

Presentado por los bachilleres:

Urbano Milandríz C.I.:17.191.012
Vera Melina C.I.:16.100.600

Fue leído el trabajo monográfico y se considera que cumple con los parámetros metodológicos exigidos para su aprobación. Sin más a que hacer referencia, se firma a los 15 días del mes de Octubre del año 2013.

Loida Ponce

C.I.:10.113.361

Firma



UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE CIENCIAS BIOMEDICAS Y TECNOLOGICAS
DIRECCION DE ESCUELA
COMITÉ DE INVESTIGACION Y PRODUCCION INTELECTUAL



CONSTANCIA DE APROBACION

Quienes suscribimos, Prof. Lisbeth Loaiza, directora de escuela, y Prof. Maira Carrizales, Coordinadora del Comité de Investigación y Producción Intelectual de la Escuela. Hacemos constar que una vez obtenidas las evaluaciones del tutor, jurado evaluador del trabajo en la presentación escrita del trabajo final de grado titulado: **IMPORTANCIA DE LA INMUNOHISTOQUIMICA EN EL DIAGNOSTICO, PRONOSTICO Y TRATAMIENTO DE CANCER DE MAMA**, presentado como requisito para obtener el título de técnico superior Universitario en Histotecnología, el mismo se considera Aprobado.

En Valencia, a los 21 días del mes de octubre del año 2013.

Prof. Lisbeth Loaiza
Directora

Prof. Maira Carrizales
Coordinadora



UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE CIENCIAS BIOMÉDICAS Y TECNOLÓGICAS
TSU HISTOTECNOLOGIA
TRABAJO MONOGRAFICO



**IMPORTANCIA DE LA INMUNOHISTOQUIMICA EN EL DIAGNOSTICO,
PRONOSTICO Y TRATAMIENTO DEL CANCER DE MAMA**

AUTORES: Urbano Milandríz
Vera Melina

TUTOR: Ponce Loida

AÑO:2013

RESUMEN

El cáncer de mama es una neoplasia maligna, caracterizada por la proliferación de células anormales, generando como resultado el desarrollo de células tumorales (cancerígenas). Los síntomas en las pacientes con CM son por lo general alteración a nivel del pezón como secreciones anormales, presencia de nódulos o masas palpables en el contorno de la mama o en axilas, casi siempre indoloro y duro, enrojecimiento e inflamación del área afectada. El diagnostico se obtiene a través de diversas pruebas como: mamografía, citología de la mama por punción, biopsia de mama. En el ámbito del diagnostico es importante la realización de la técnica de inmunohistoquímica la cual permite la detección de la expresión de moléculas nucleares, citoplasmáticas y transmembrana que caracterizan a las células del tejido afectado mediante el uso de anticuerpos o inmunoglobulinas marcadas con fluorocromos o enzimas, contribuyendo de esta manera al diagnostico, pronóstico y tratamiento de esta patología. El desarrollo de la inmunofluorescencia indirecta realizada por Albert Coons y colaboradores, fue el antecedente a la creación de la inmunopatología y sentó las bases de la inmunohistoquímica, y gracias a esto hoy en día podemos determinar factores pronósticos que orienten de manera más precisa hacia tratamientos más efectivos y que mejoren los índices de recuperación de la enfermedad. El objetivo principal de la presente investigación es determinar la importancia de la inmunohistoquímica en el diagnostico, pronóstico y tratamiento del cáncer de mama.

Palabras claves: cáncer de mama (CM), inmunohistoquímica, anticuerpos, inmunoglobulinas.



**UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE CIENCIAS BIOMÉDICAS Y TECNOLÓGICAS
TSU HISTOTECNOLOGIA
TRABAJO MONOGRAFICO**



**IMPORTANCE OF IMMUNOHISTOCHEMISTRY IN THE DIAGNOSIS,
PROGNOSIS AND TREATMENT OF BREAST CANCER**

AUTORES: Urbano Milandríz
Vera Melina

TUTOR: Ponce Loida
AÑO:2013

ABSTRACT

Breast cancer is a malignant neoplasm characterized by abnormal cell proliferation, generating results in the development of tumor cells (cancer). Symptoms in patients with CM are usually altered to nipple level as abnormal secretions, presence of nodules or masses palpable in the contour of the breast or underarm, usually painless, hard, redness and swelling of the affected area. The diagnosis is obtained through various tests such as mammography, breast cytology needle, breast biopsy. In the field of diagnosis is important to conduct immunohistochemical technique which enables detection of the expression of nuclear molecules, cytoplasmic and transmembrane characterizing affected tissue cells by using antibodies or immunoglobulins labeled with fluorophores or enzymes, thus contributing to the diagnosis, prognosis and treatment of this disease. The development of indirect immunofluorescence by Albert Coons and collaborators, was the background to the creation of the immunopathology and laid the foundation of immunohistochemistry, and thanks to this we can now determine prognostic factors more precisely guide to treatments effective and improve recovery rates of the disease. The main objective of this research is to determine the importance of immunohistochemistry in the diagnosis, prognosis and treatment of breast cancer.

Keywords: breast cancer (CM), immunohistochemistry, antibodies, immunoglobulins.

INDICE DE CONTENIDO

	Pág
Introducción.....	7- 11
Referentes teóricos.....	11-13
Antecedentes de la investigación.....	13-14
Conclusiones.....	21
Recomendaciones.....	22
Referencias bibliográficas.....	23
Anexos.....	24

INTRODUCCION

Las glándulas mamarias, forman parte del aparato reproductor en la mujer. Anatómicamente ocupan una posición prominente en la cara anterior de la pared torácica, extendiéndose desde el borde lateral del esternón hasta la línea axilar media, proyectándose una porción del tejido mamario en la axila, dicha proyección se conoce como “cola de SPENCE”¹. En las mamas yacen unas Bandas Fibrosas de tejido conectivo que alcanza la dermis formando los densos ligamentos de COOPER, también llamados “Ligamentos Suspensorios de la mama” (esto hace que la glándula mamaria esté firmemente insertada a la dermis de la piel que está por encima². El parénquima de la glándula mamaria, constituido por lóbulos, se divide en segmentos lobulares dispuestos radialmente, los cuales convergen en una serie de conductos en el pezón. Cada lóbulo mamario drena un conducto excretor lactífero (galactóforo); por lo que cada lóbulo contiene diversos acinos lobulillares. En cada una de las mamas hay un área circular más pigmentada que mide 2,5 cm o más de diámetro “la areola”. El pezón se encuentra en el centro de la areola, es aquí donde desembocan los conductos galactóforos³. En la mujer, las mamas tienen una importante función, la producción y secreción de leche para la lactancia; la cual es producida en los bulbos que se agrupan para formar lobulillos; estas estructuras glandulares están conectadas por unos tubos ductales que van confluyendo en otros de menor tamaño hasta desembocar en el pezón. La leche, se acumula y permanece en el seno galactóforo provocándose la extracción, mediante la succión y compresión de la areola⁴.

La dependencia hormonal de las glándulas mamarias, explica la dinámica de estos órganos, los cambios en su estructura, y la aparición de enfermedades relacionadas con las diferentes edades, predisposición genética, los cambios cíclicos hormonales, el embarazo, la lactancia y la menopausia⁵.

Existen diversas patologías que afectan a las glándulas mamarias como lo es el cáncer de mama (CM), el cual se caracteriza por producir la proliferación de células anormales, generando como resultado, el desarrollo de células tumorales (cancerígenas), los cuales pueden crecer limitado a la mama o bien diseminarse

en el tejido parenquimatoso de la mama⁶. Esta enfermedad puede ser originada por factores físicos, químicos, genéticos y biológicos⁷.

Los síntomas en las pacientes con CM por lo general se caracterizan porque las mismas presentan alteración a nivel del contorno del pezón y desviación del mismo produciéndose envolvimiento de los conductos galactóforos, aparecen nódulos o masas palpables, en el contorno de la mama o en las axilas, casi siempre indoloros, duros, y suelen crecer con el tiempo, se observan secreciones anómalas por el pezón, hoyuelos en la piel debido a la invasión cancerosa del tejido glandular (apariencia de “piel de naranja”), enrojecimiento e inflamación de la total o parcial de la mama. En su etapa inicial, este tipo de neoplasia, es generalmente asintomática y se detecta en la mayor parte de los casos por cambios en la mama⁷. Esta patología tiene como consecuencia extenderse a través de los vasos linfáticos, llevando células cancerosas desde la mama hasta los ganglios linfáticos (principalmente los axilares) ,donde forman redes de células tumorales (metástasis); Debido a que la mayor parte del drenaje linfático de la mama, es hacia los ganglios axilares, estos son los lugares más comunes de metástasis de la enfermedad; la ausencia de este signo en esta área, significa que las células malignas pueden haber pasado a otros ganglios como los infraclaviculares y los supraclaviculares, también puede diseminarse hacia cualquier otro órgano como hueso, pulmón, y el hígado⁷.

El diagnóstico del cáncer de mama se obtiene a través de diversos tipos de pruebas como se menciona y explican a continuación⁸.

Mamografía: consiste en comprimir cada mama en sentido horizontal y de forma oblicua mientras se toma la imagen radiográfica digitalizada por un ordenador en cada posición.

Citología de la mama por punción: consiste en realizar una punción en la tumoración, a fin de obtener el contenido de la lesión para un estudio histopatológico (de este resultado se determinará una biopsia).

Biopsia de mama: extracción de una muestra de tejido, por medio de una aguja gruesa que se introducirá en la masa solida (tumoración) para recoger células y transferirlas a un portaobjetos o tubo de ensayo para su posterior análisis⁸.

Las características clínicas e histológicas del cáncer de mama, han sido utilizadas y lo siguen siendo, como elementos importantes para la definición de los diferentes factores pronósticos y tratamientos para esta enfermedad⁹. Por otro lado, la detección de la expresión de moléculas nucleares, citoplasmáticas y/o transmembrana que caracterizan a las células del tejido afectado mediante el uso de anticuerpos o inmunoglobulinas marcadas con fluorocromos o enzimas a través de una técnica conocida como inmunohistoquímica, permite diferenciar alteraciones somáticas y genéticas que proporcionan la posibilidad de clasificar el cáncer de mama de una manera más adecuada a lo que se refiere a pronóstico y efectividad del tratamiento⁹.

A través de la inmunohistoquímica se determina la presencia de receptores hormonales, como lo son el receptor de estrógenos (RE) y el receptor de progesterona (RP) los cuales se correlacionan con el grado tumoral y los convierten en indicador de respuesta a tratamientos endocrinos. En el cáncer de mama, la presencia de RE al igual que RP, es fundamental para que exista una buena respuesta al tratamiento hormonal¹⁰. La técnica Inmunohistoquímica (IHQ) muestra métodos que emplean anticuerpos seleccionados que tienen la capacidad de identificar específicamente a moléculas cancerígenas (con características antigénicas). Un antígeno es un agente patógeno que estimula una respuesta inmunitaria, produciendo mecanismos celulares y moleculares que destruirán o neutralizarán su efecto. Uno de los componentes moleculares que intervienen en esa respuesta son los anticuerpos ampliamente utilizados como bioreactivos en la inmunohistoquímica¹¹. El estudio Inmunohistoquímico permite clasificar el cáncer según sus características estructurales obtenidas, determinándose tipos de cáncer con RE positivos denominados luminal A y B, siendo el A tumor con buen pronóstico, y el B de pronóstico desfavorable y requiere en la mayoría de los casos administración de quimioterapias, y RE negativos denominados HER2/neu (receptor de crecimiento epidermal humano), el cual es un oncogen y Basallike el cual es un fenotipo tumoral, negativo para receptores hormonales, de pésimo pronóstico¹².

Desde hace mucho tiempo se conoce la complejidad de la enfermedad maligna de la glándula mamaria y en muchas oportunidades las decisiones terapéuticas se han tomado en base a factores pronósticos que no representan la verdadera cualidad del tumor. La necesidad de identificar factores pronósticos que orienten de manera más precisa hacia tratamientos más efectivos y que mejoren los índices de recuperación de la enfermedad, son cada vez más necesarios, dado el incremento significativo de este tipo de cáncer. Así como también disminuir los efectos que resultan de la aplicación de terapias incorrectas a las pacientes¹³.

Basado en lo antes expuesto nos interesa determinar la importancia de la inmunohistoquímica en el tratamiento del cáncer de mama siendo este el objetivo principal de la presente investigación, y como objetivos específicos identificar los anticuerpos monoclonales que se relacionan con el tratamiento del cáncer de mama, establecer los factores pronósticos de la inmunohistoquímica de acuerdo a los resultados, y describir el protocolo de la técnica de inmunohistoquímica.

DESARROLLO

El cáncer de mama es uno de los cánceres tumorales que se conoce desde antiguas épocas. La descripción más antigua del cáncer (aunque sin utilizar el término “cáncer”) proviene de Egipto del 1600 a.C. aproximadamente¹⁴.

El papiro Edwin Smith describe 8 casos de tumores o úlceras del cáncer que fueron tratados con cauterización con una herramienta llamada “la horquilla de fuego”. El escrito dice sobre la enfermedad: “No existe tratamiento” cuando el tumor es sangrante, duro e infiltrante. A lo mínimo en caso descrito es de un hombre. También se hacen descripciones en el antiguo Egipto y en el papiro Ebers. Más recientemente Hipócrates describe casos y apunta que las pacientes con el cáncer extendido y profundo no deben ser tratadas pues viven por más tiempo¹⁴.

Por siglos los médicos han descrito casos similares, todos teniendo una triste conclusión, no fue sino hasta que la ciencia médica logro mayor entendimiento del sistema circulatorio en el siglo XVII que se lograron grandes avances. En presente siglo se ha podido determinar la relación entre el cáncer de mama y los nódulos linfáticos axilares¹⁴. El cirujano francés Jean Louis Petit (1674-1750) y posteriormente el cirujano Benjamín Bell (1740-1806) fueron los primeros en remover los nódulos linfáticos, el tejido mamario y los músculos pectorales, abriendo el camino a la mastectomía moderna. Bell es el autor de la obra más importante en esta materia de su época: Tratado de enfermedades del seno y de la región mamaria. Su senda de comprensión y avance fue seguida por William Stewart Halsted que invento la operación conocida como “mastectomía radical de Halsted”, procedimiento que ha sido popular hasta los últimos años desde los años setenta¹⁴.

La inmunohistoquímica es una técnica que ha revolucionado la histopatología ya que permite identificar antígenos intracelulares y de membrana en cortes de tejido visualizando la reacción antígeno-anticuerpo, siendo una técnica ampliamente utilizada en la detección de receptores hormonales para evaluar la susceptibilidad del carcinoma mamario a la terapia antiestrogénica¹⁵. El desarrollo de la

inmunofluorescencia indirecta realizada por Albert H. Coons, Hugh Creech, Norman Jones y Ernst Berlinier en la Universidad de Harvard en 1941, fue el antecedente del florecimiento de la inmunopatología¹⁵.

El uso de anticuerpos marcados con isotiocianato de fluoresceína le permitió a Coons el estudio detallado de diversos antígenos, la identificación de proteínas tisulares, la detección de complejos inmunitarios, la localización de antígenos virales en células infectadas y de antígenos tumorales en diversas neoplasias³⁶. A pesar de esta trascendente innovación, la técnica de inmunofluorescencia quizá fue, hasta cierto punto, de utilidad limitada en la patología quirúrgica diagnóstica, debido a que requiere tejido fresco y un microscopio especial (de fluorescencia) que no cuenta con la mejor resolución morfológica¹⁵. Pero sin duda el método creado por Coons, sentó las bases de la inmunohistoquímica actual¹⁵.

En 1959 Rodney Porter y Gerald Edelman describieron la estructura de las inmunoglobulinas, por lo que en 1972 recibieron el premio Nobel de Fisiología. Su descubrimiento fue posible gracias a que obtuvieron grandes cantidades de estas proteínas de pacientes con mieloma de células plasmáticas (mieloma múltiple). Las inmunoglobulinas del mieloma, proteínas de Bence-Jones y macroglobulinas monoclonales jugaron un papel fundamental en el esclarecimiento de la estructura genética, síntesis y metabolismo de las inmunoglobulinas. Algunos años después Susumo Tonegawa, premio Nobel de Medicina en 1987, describió la diversidad de los anticuerpos, demostró la compleja recombinación somática y los mecanismos de hipermutación a que están sujetos los linfocitos B en sus mecanismos de producción y síntesis de inmunoglobulinas lo que les permite su selecta especificidad ante la demanda de millones de antígenos potenciales¹⁵.

En 1984 Cesar Milstein, Georges JF Köhler y Niels K Jerne recibieron el Premio Nobel de Medicina por su aportación para la producción de anticuerpos monoclonales. Estos investigadores pudieron unir dos células y obtener un híbrido (hibridoma) que comparten características funcionales de ambas poblaciones celulares. Fusionaron un linfocito B del bazo de un ratón inmunizado con eritrocitos de oveja (que producía anticuerpos contra moléculas del eritrocito

reconocidas como antígenos, denominadas epítopes o determinante antigénicos), con células plasmáticas de mieloma de un ratón, la célula resultado de esta fusión era inmortal *in vitro*. Este híbrido es capaz secretar inmunoglobulinas en contra del epítope del eritrocito de oveja, debido a que el hibridoma también había adquirido la facultad de secreción de inmunoglobulinas del mieloma y su capacidad para vivir *in vitro*. Así fue como pudieron producir anticuerpos *in vitro* en contra de un solo determinante antigénico de una compleja estructura antigénica. Köhler y Milstein demostraron que virtualmente es posible fusionar cualquier célula con líneas celulares de mieloma, produciendo así cantidades homogéneas ilimitadas de anticuerpos con la especificidad de la célula fusionada¹⁵.

Como antecedentes de la presente investigación se tomó en cuenta el estudio realizado por Louredo en el año 2002, titulado “Valor pronóstico de los factores clínicos e inmunohistoquímicos en la recidiva precoz de carcinoma ductal infiltrante de mama” cuyo objetivo de estudio fue analizar la posible asociación entre los diferentes marcadores tumorales moleculares (RE,RP), su valoración como factores pronósticos de recidiva, y bajo un diseño de estudio de cohorte prospectivo, tomando a pacientes intervenidas por cáncer de mama; el total de pacientes fue de 108, con variables de estudio cuantitativos que incluyó la edad, el intervalo libre de la enfermedad y la supervivencia global; realizó una determinación Inmunohistoquímica de RE utilizando el anticuerpo monoclonal ER1DE; aportando así información adicional en este campo, contribuyendo a la ampliación de los conocimientos en este aspecto de la biología tumoral¹⁶.

Posteriormente se realizó un estudio titulado “Correlación de factores pronósticos clásicos con parámetros inmunohistoquímicos y subtipos tumorales en mujeres afectadas por cáncer de mama” el cual tuvo como objetivo principal averiguar si los subtipos tumorales intrínsecos, clasificados según procedimientos inmunohistoquímicos, presentando valor pronóstico en sí mismos y si dentro del grupo triple negativo se podía diferenciar el subgrupo Basallike en cuanto a su comportamiento biológico y clínico; bajo un tipo de estudio descriptivo tomando

como base 888 pacientes con cáncer de mama del registro de tumores del complejo hospitalario universitario de Ourense; en el que tras dividirse mediante técnicas inmunohistoquímicas en subtipos, se analizó los factores de pronóstico, fueron recogidas las siguientes variables: edad, tamaño, localización y tipo de tumor, número de ganglios afectados por el tumor, expresión de RE y RP; dando como resultado que el subtipo triple negativo evidencia más riesgo de muerte, y tuvo como conclusión, que la muestra objeto de estudio, el tamaño tumoral, la afectación ganglionar y el grado II de diferenciación son factores pronósticos independientes¹⁷.

Actualmente existen numerosas estrategias terapéuticas oncológicas que utilizan anticuerpos monoclonales como el anti-CD20 (Rituximab),⁴ anti-CD117 (Gleevec)⁵ y anti-Her2/neu (Herceptin),⁶ determinantes que pueden hacerse evidentes en el tejido obtenido por biopsia mediante inmunohistoquímica con anticuerpos monoclonales dirigidos contra CD20, CD117 y Her2/neu, respectivamente¹⁵. El uso de anticuerpos monoclonales es parte de la rutina de los laboratorios de patología debido a que son de gran utilidad en el diagnóstico de tumores metastásicos de origen primario desconocido, tumores de partes blandas, linfomas y leucemias y pueden ayudar a la identificación de algunos agentes infecciosos; además, los anticuerpos monoclonales pueden ser de utilidad como factores pronósticos y predictivos en diversos tumores ya que al definir la estirpe de los mismos se conocerá con más certeza su comportamiento ante las diferentes terapias y posibilidades de recuperación¹⁵. Es necesario conocer las características biológicas generales de los antígenos utilizados, así como el tejido con el cual reacciona y la localización celular donde la inmunorreacción debe encontrarse¹⁵.

Analizado desde el punto de vista de la inmunohistoquímica el cáncer de mama se ha clasificado por las características del tumor en cuatro grupos fundamentales, donde la presencia o no de receptores de estrógenos son definitivos para la categorización de esta clasificación. Así tenemos:

1. Tumores con receptores de estrógenos positivos

a. LUMINAL A: receptores de estrógeno positivos, receptores de progesterona positivos o negativos, c-erB-2 negativo.

b. LUMINAL B: receptores de estrógeno positivos, receptores de progesterona positivos, c-erB-2 positivo.

2. Tumores con receptores de estrógeno negativos

a. HER 2 NEU: receptores de estrógenos negativos, receptores de progesterona negativos, c-erB-2 positivo.

b. *BASAL LIKE*: receptores de estrógeno negativo, receptores de progesterona negativos, c-erB-2: negativo¹².

El análisis de IHQ proporciona un resultado de 0 a 3+ que revela la cantidad de proteínas receptoras HER2 en las células de una muestra de tejido con cáncer de mama. Si el tumor presenta un resultado de 0 a 1+, se lo denomina “HER2 negativo”. Si presenta un resultado de 2+ a 3+, se lo denomina “HER2 positivo”. Si presenta un resultado de entre 1 y 2, se lo considera ambiguo.

Las personas que presentan resultados de HER2 positivo suelen responder favorablemente al uso de Herceptin. Este medicamento no se considera efectivo para tratar tumores con resultados de IHQ de 0 o 1+ ¹⁸.

RECEPTORES HORMONALES

La determinación de receptores estrogénicos (RE) y de progesterona (RP) en las biopsias de carcinomas infiltrantes antes del comienzo de las medidas terapéuticas, se ha hecho una práctica habitual en el tratamiento de pacientes con carcinoma de mama¹⁹.

Aproximadamente del 55% al 65% de los carcinomas primarios de mama y del 45% al 55% de sus metástasis tienen una expresión positiva de receptores estrogénicos (RE+). También se ha demostrado que responden a la administración de terapia hormonal entre el 55% y el 60% de las mujeres con tumores RE+ y alrededor del 8% de las mujeres con receptores estrogénicos negativos (RE-) en el tumor. Además, los tumores RE- muestran una mejor respuesta a las quimioterapias citotóxicas. Los tumores que son mejor

diferenciados son más probablemente RE+ y tienen un pronóstico relativamente mejor¹⁹.

Entre el 45% y 60% del cáncer primario de mama y metastásico contiene RP. La presencia de RE y RP en el mismo tumor aumenta la probabilidad de respuesta a los tratamientos hormonales desde un 55% observado en pacientes con tumores RE+, a un 75% y 80% ¹⁹. Los receptores de progesterona son pues al menos tan valorables como los receptores de estrógenos para predecir la conducta de los carcinomas de mama, y la pérdida de RP por las células tumorales está asociada con peor pronóstico. Por tanto, en la actualidad, la determinación de RE y RP se considera uno de los más importantes datos del tumor para ser valorados; sus resultados se utilizan para tomar decisiones terapéuticas y son considerados como indicadores pronósticos independientes¹⁹.

La aplicación de una variedad de anticuerpos monoclonales junto con los otros parámetros establecidos constituye una ayuda en el diagnóstico, pronóstico y tratamiento del carcinoma de mama¹⁹.

Entre los anticuerpos monoclonales destacamos los siguientes:

“Oncogen c-erbB-2 (HER-2/neu o HER 2): El oncogen c-erbB-2 está ubicado en el cromosoma 17 que codifica una proteína de membrana de 185 kD. Se ha observado que está amplificada aproximadamente en el 30% de los carcinomas de mama y se ha llegado a la conclusión de que es un factor pronóstico de la supervivencia total y del período libre de enfermedad en pacientes con cáncer de mama y ganglios linfáticos positivos. La expresión de esta proteína ha sido asociada con un pobre grado histológico, extensión a ganglios axilares y número de ganglios afectados; además, la amplificación del oncogén HER-2 se correlaciona con la ausencia de receptores estrogénicos y de progesterona. También se ha comprobado en algunos estudios la relación con cada uno de los elementos (patrón arquitectural, atipia nuclear y número de mitosis) del grado histológico. Incluso si un tumor primario no expresa la proteína c-erbB-2, las subsiguientes metástasis pueden expresar la proteína; por el contrario, si un tumor

primario expresa dicha proteína, esta capacidad se mantiene en todas las metástasis del tumor¹⁹”.

“Catepsina D: La catepsina D es producida y secretada por las células cancerosas mamarias. Es uno de los últimos marcadores que están siendo actualmente evaluados como indicador pronóstico. Su sobreexpresión parece estar asociada con una conducta tumoral agresiva y un intervalo libre de enfermedad acortado. La relación de la catepsina D con la proteína c-erbB-2 y con la amplificación del oncogen c-myc fue estudiada por Brouillet y cols. y determinaron que la catepsina D no se correlaciona con la expresión del oncogen HER-2, pero sí con la amplificación del oncogen c-myc. La expresión de c-myc está generalmente relacionada con la proliferación celular, resultando que las pacientes en las que el ADN del tumor muestra un c-myc amplificado tienen un período de supervivencia acortado¹⁹”.

“Ki 67: El antígeno Ki 67 identifica las células proliferantes dentro de un tumor, y por tanto cuanto mayor es su presencia, más agresivo es el tumor. La positividad del Ki 67 se correlaciona con el grado de diferenciación tumoral, invasión vascular, metástasis en ganglios linfáticos, y se relaciona inversamente con la presencia de receptores hormonales¹⁹”.

“P 53: El gen p53 se localiza en el cromosoma 17 y se considera un regulador negativo del crecimiento celular. Sus mutaciones constituyen la alternativa genética más frecuente en neoplasias malignas. La mutación de p53 se considera un factor de mal pronóstico por determinar pérdida de la función supresora, activación del crecimiento celular y aumento del riesgo de progresión de la neoplasia. La forma mutante de la proteína p53 se acumula en el núcleo celular, donde puede detectarse por técnicas de inmunohistoquímica sobre tejido incluido en parafina ¹⁹”.

Así pues, la Inmunohistoquímica es de vital importancia para el marcaje selectivo de proteínas y otros elementos que pueden estar presentes, tanto en las membranas celulares, citoplasma, y demás compartimientos citoplasmáticos, así como también en la matriz extracelular. Es de gran utilidad en la identificación de las estirpes celulares de los tejidos básicos, de receptores de membranas,

proteínas citosólicas, y de cualquier otra estructura para la cual se halla desarrollado un anticuerpo específico. Su aplicación es de indiscutible valor en anatomía patológica en el diagnóstico de lesiones tumorales y su pronóstico²⁰.

En cuanto al protocolo de la técnica, se requiere de un entrenamiento especializado sobre todo en el procesamiento de los tejidos, la selección de todos y cada uno de los reactivos necesarios apropiados, y lo más importante: la interpretación de los inmunomarcajes en las preparaciones histológicas.

La técnica de Inmunohistoquímica se fundamenta en la reacción Antígeno – Anticuerpo, siendo el anticuerpo el reactivo fundamental. Los anticuerpos pertenecen a un grupo de proteínas denominadas Inmunoglobulinas, presentes en cinco clases y sintetizadas por células conocidas como Plasmocitos, que no son más que un último grado de diferenciación de los linfocitos B ²⁰.

Los anticuerpos monoclonales son producidos por un clon individual de plasmocitos, mientras que los anticuerpos policlonales son producidos por diferentes plasmocitos y en consecuencia pueden reaccionar con varios fragmentos del antígeno para el que fueron creados. El animal más utilizado para la producción de anticuerpos policlonales es el conejo, seguido por la cabra, oveja, caballo, entre otros. Para los anticuerpos monoclonales, el animal de elección es el ratón, tal vez por motivos económicos²⁰.

La reacción antígeno - anticuerpo en la técnica inmunohistoquímica es incolora y para hacerla evidente, se utilizan algunos métodos como la fluorescencia, las reacciones enzima-sustrato que convierte al cromógeno sin color en un compuesto coloreado insoluble que precipita y permite identificar el lugar donde se depositaron los anticuerpos utilizados²⁰.

RECEPCIÓN DE LA MUESTRA

Las muestras a procesar pueden proceder de: archivo de bloques de parafina láminas citológicas, cortes de tejido fresco congelado en nitrógeno líquido similares a los de inmunofluorescencia⁹.

PROCEDIMIENTO GENERAL PARA EL MARCAJE INDIRECTO CON ANTICUERPOS CONJUGADOS A MOLÉCULAS FLUORESCENTES O CONJUGADOS A UNA ENZIMA

1. Cortar las muestras histológicas en micrótopo a 4 micras de espesor.
2. Identificar con lápiz diamante número de inscripción y anticuerpo a utilizar.
3. Fijar la muestra, para la conservación de la arquitectura tisular y molecular
4. Hidratación de los tejidos con PBS tres baños de 5 minutos.
5. Incubación con el anticuerpo primario en cámara húmeda a temperatura ambiente durante una hora.
6. Eliminación del exceso del anticuerpo primario con PBS, tres baños de 5 minutos.
7. Incubación del tejido con el anticuerpo de secundario durante 15 minutos.
8. Eliminación del exceso del anticuerpo secundario con PBS, tres baños de 5 minutos
9. Montaje en medio permanente.
10. Etiquetar con número de inscripción de la sección de IHQ, número de la biopsia o citología y, además, anticuerpo empleado.

Con cada anticuerpo deberá trabajarse una lámina de control positivo (caso conocido) y una lamina de control ²⁰.

TÉCNICAS DE RECUPERACIÓN ANTIGÉNICA

Los tejidos que se procesan en el laboratorio de inmunohistoquímica se reciben casi todos fijados en formalina e incluidos en parafina. Las estructuras tridimensionales de las proteínas tisulares se alteran en grado variable durante este proceso. Esto tiene una gran repercusión sobre la detección adecuada del antígeno que se está investigando en una muestra determinada mediante investigaciones inmunohistoquímicas.

Algunos antígenos tisulares (epítopes) son resistentes a la fijación con formol e inclusión en parafina y son reconocidos por anticuerpos específicos. Otros epítopes pierden su reactividad antigénica después de estos procesos de rutina.

La continua práctica con nuevos anticuerpos ha mejorado el proceder inmunohistoquímico y el uso de pretratamientos proteolíticos de los cortes histológicos es beneficioso en muchos casos. No obstante el éxito mayor se ha obtenido con métodos de pretratamiento con calentamiento de los cortes histológicos que han permitido el desenmascaramiento de estos epítopes, lo que ha mejorado en gran medida los resultados inmunohistoquímico¹¹.

FIJACIÓN Y PROCESAMIENTO DE LOS TEJIDOS

La fijación en soluciones que contengan formaldehído causa reacciones cruzadas en las proteínas. El procesamiento de inclusión en parafina altera la forma de las proteínas. La recuperación antigénica revierte algunos de estos procesos rompiendo las uniones cruzadas, restaurando la conformación del epítope/antígeno y removiendo los iones clásicos con citrato¹¹.

CONCLUSION

El cáncer de mama es una enfermedad en la cual se desarrollan células anormales en el tejido mamario, siendo esta neoplasia la más frecuente en mujeres, una de las causas principales es la carga genética, que supone un riesgo mayor para las mujeres con antecedentes familiares, así como múltiples factores tales como edad, uso de anticonceptivos hormonales, obesidad, radiación, entre otros.

Actualmente el diagnóstico de carcinoma de mama se acompaña de una serie de moléculas marcadoras y factores pronóstico que tratan de predecir cuál será el riesgo de recurrencia de esa neoplasia en esa paciente, intentando aproximarse al curso evolutivo de la enfermedad y a la respuesta a determinados tratamiento, donde muchos tipos son sensibles a las hormonas estrógenos, lo cual significa que dicha hormona hace que el tumor canceroso mamario crezca. Tales cánceres tienen receptores de estrógenos en la superficie de las células y se denominan cáncer positivo para receptores de estrógenos o cáncer positivo para RE.

Algunas mujeres tienen cáncer de mama positivo para HER2, que se refiere a un gen que ayuda a que las células crezcan, se dividan y se reparen por sí mismas. Cuando las células (entre ellas las cancerosas) tienen demasiadas copias de este gen, se multiplican más rápidamente. Hasta ahora las mujeres con cáncer de mama positivo para HER2 tienen una enfermedad más agresiva y un riesgo mayor de que ésta reaparezca (recurrencia) que las mujeres que no tienen este tipo de cáncer. Es posible que esto comience a cambiar gracias a los tratamientos dirigidos específicamente contra el gen HER2.

La determinación de tipos de tumores, conductas terapéuticas adecuadas y pronóstico de la enfermedad es posible gracias a las técnicas de inmunohistoquímica, que utilizando anticuerpos nos ayudan a conocer la naturaleza de los antígenos que se expresan y caracterizan al tumor, obtener los beneficios antes mencionados y así ofrecer una esperanza de vida a las pacientes que padecen esta enfermedad.

RECOMENDACIONES

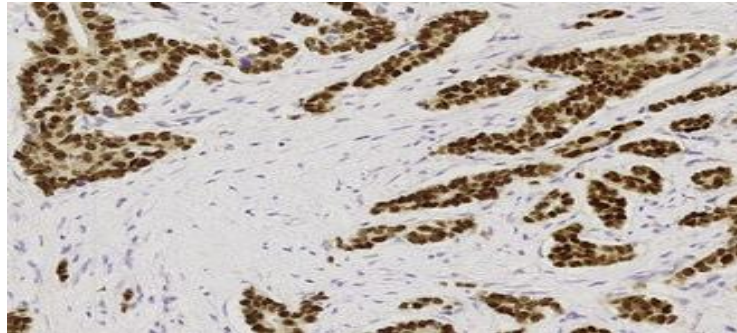
- Es importante realizar la recuperación del antígeno con métodos de pretratamiento como el calentamiento para permitir el desenmascaramiento de los cortes histológicos y así obtener mejores resultados.
- Trabajar con láminas de control positivo y negativo según el caso.
- La práctica clínica actual requiere la determinación de HER2 en todas las pacientes con cáncer de mama infiltrante, tanto por su valor pronóstico como predictivo. Por tanto, debe realizarse siempre antes de realizar la indicación del tratamiento, tanto en cáncer de mama precoz, como en situaciones de cáncer de mama avanzado o metastásico.
- No deben utilizarse fijadores diferentes al formol neutro tamponado al 10%, ya que fijadores basados en alcoholes, ya que pueden generar falsos positivos en inmunohistoquímica
- La prevención más eficaz del cáncer de mama es la detección precoz y por ello es recomendable realizar la autoexploración de las mamas, de forma periódica, luego de la menstruación.
- Si existen factores predisponentes familiares, se deben realizar de forma periódica (cada 2 años) una exploración llamada mamografía según la edad o ecografía mamaria para las mujeres menores de años

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

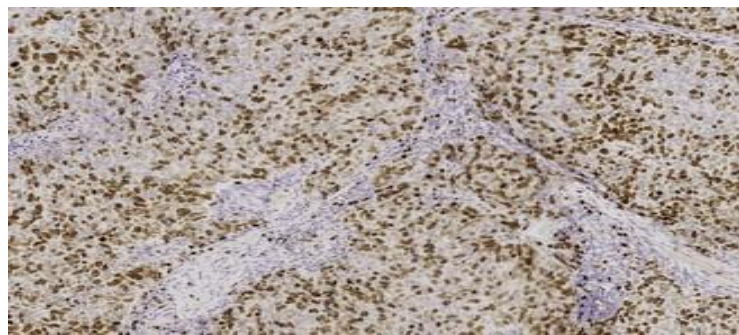
- 1: García A., Piñero A., Moreno J. Cirugía de la Mama. Sección de patología de la mama España. Edit. Aran. 2006
- 2: Álvarez A., Galarza G., Díaz M., Anatomía humana. Unidad III tronco, fascículo1, tórax. Universidad nacional Autónoma de México (facultad de odontología-UNAM). Primera edición 2005. P 18-19
- 3: Baggish M., Kanam M. Atlas de anatomía de la pelvis y cirugía ginecológica. 2° edición, Buenos Aires. Editorial medica panamericana 2009.p1103-1105
- 4: Cáncer de mama: cuestiones más frecuentes. Madrid Grupo editorial Entheos 28046 ISBN 84-690-3084-1 pág. 19-21. 2007
- 5: D´ Agostino R., Castañeda A., Di Torio F. Epidemiología del cáncer de mama (Monografía en Internet) 2002 (Acceso 8 de Septiembre del 2013 a las 2:50 pm). Pag.5-7. Disponible en epid.www.colmed2.org.ar
- 6: Carabias P. Estudio de la importancia del componente intraductal asociado en el cáncer de mama como factor pronóstico. Barcelona: Universidad autónoma de Barcelona. 2011
- 7: Moore K., Dalley G. Anatomía con orientación clínica .México D.F. Editorial panamericana 2007. p 105-109
- 8: Borobia Fernández C. coordinador. Valoración médica y jurídica de la incapacidad laboral.1^{era}ed.España. Sociedad Española de medicina. 2007
- 9: Vaquero M. Manual de la Calidad de Inmunohistoquímica en anatomía patológica. En: Hospital Donostia. (Servicio de anatomía Patológica). Edit. Osakidetza. 2007 p. 10-14
- 10: Sarancone S. laboratorio de patología quantum. Clínica de diagnostico medico Oroño. Argentina 2010
- 11: Prophet E. Fijación de Tejidos. En: Instituto de Patología de la Fuerzas Armadas de los Estados Unidos de América (AFIP). Métodos Histotecnológicos. Washington, D.C. ISBN; 2007. p 253-258.
- 12: Bianchi G., Tamayo J., Gómez M. Recomendaciones para Venezuela del grupo de consenso de inmunohistoquímica pronóstica en cáncer de mama. Rev. Venez. Oncol. (Revista en internet) 2007 (acceso 10 de octubre del 2013 a las 6:40pm). 19(4): 353-355. Disponible en www.scielo.org.ve

- 13: Uribe J., Hernández C., Menolascino F. Clasificación Molecular del cáncer de mama. Rev. Venez. Oncol. (Revista en internet) 2010 (Acceso 10 de Octubre del 2013 a las 5:30) 22 (2): 109-116. Disponible en www.scielo.org.ve
- 14: Manosalva F. como prevenir el cáncer de mama en las mujeres del Perú. (Monografía en internet) 2011 (acceso 8 de octubre del 2013). Pag.12-13 Disponible en www.slideshare.net
- 15: Buys D, Lara C., Ortiz H. Interpretación básica de Inmunohistoquímica. Patología Revista Latinoamericana (Revista en internet) 2007 (Acceso 5 de Octubre del 2013 a las 3:40 pm). 45 (83): 126-140. Disponible en www.revistasmedicasmexicanas.com.mx
- 16: Louredo A. Valor pronóstico de los factores clínicos e inmunohistoquímicos en la recidiva precoz del carcinoma ductal infiltrante de mama (tesis en internet) 2002 Universidad Complutense de Madrid. (Acceso 30 de septiembre a las 5:00 pm). Pag.1-2. Disponible en biblioteca.ucm.es
- 17: Pérez M. Correlación de factores pronósticos y clásicos con parámetros inmunohistoquímicos y subtipos tumorales en mujeres afectadas por cáncer de mama. (Tesis de internet). 2012. Universidad Santiago de Compostela. Disponible en dspace.usc.es/bitstream/10347/6110/1/rep_248.pdf. Pag.2-8
- 18: Breastcancer.org (sitio web). Organización sin fines de lucro. (Acceso 10 de octubre del 2013, a las 4:45). Disponible en www.breastcancer.org
- 19: Hospital General de Teruel. Boletín oncológico (Sitio web). España. Vera J. ISSN 1579-6094 (Acceso 7 de octubre a las 5:45 pm). Disponible en www.boloncol.com
- 20: Histoweb. Cátedra de Histología. Departamento de Ciencias Morfológicas (sitio web). Medicina Universidad de los Andes. (Acceso 5 de Octubre del 2013 a las 5:30PM). Disponible en <http://www.medic.ula.ve/histologia/laboratorios/inmuno>

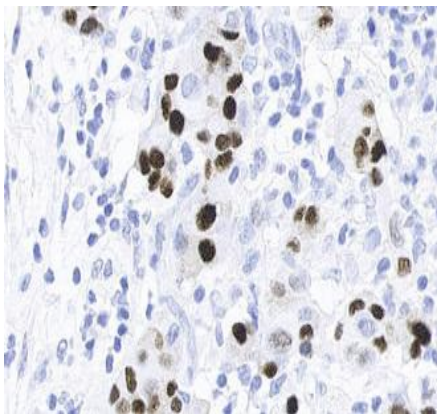
ANEXOS



Carcinoma de mama humano: tinción inmunohistoquímica para el receptor de estrógeno. Observe la intensa tinción nuclear de las células tumorales. Corte de parafina.

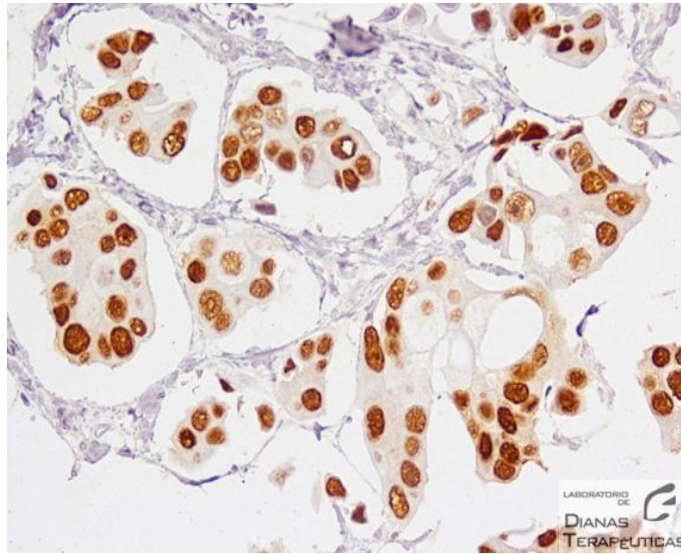


Cáncer de mama humano, carcinoma intraductal: tinción inmunohistoquímica para el antígeno Ki67. Corte de parafina.

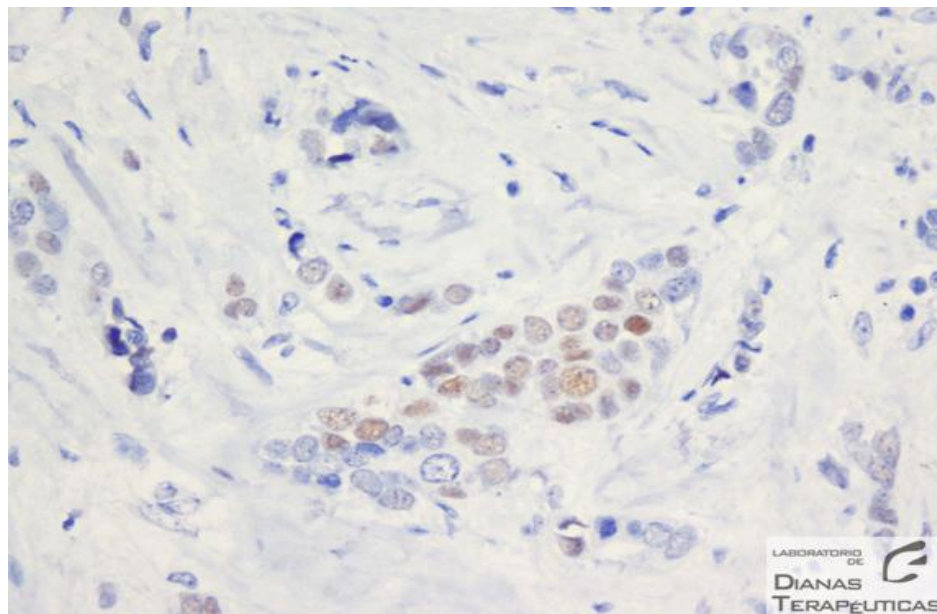


Carcinoma de mama humano: tinción inmunohistoquímica para el receptor de la progesterona. Corte de parafina.

(Fuente: LeycaBiosystem. Anticuerpos para inmunohistoquímica Disponible: www.leycabiosystem.com)



Tinción inmunohistoquímica para estudio de factores pronóstico en cáncer de mama. Tinción positiva del 95% para receptores hormonales de progesterona. (40X)



Tinción inmunohistoquímica para estudio de factores pronóstico en cáncer de mama. Tinción positiva de receptores hormonales estrogénicos. (40X)

(Fuente: cátedra de dianas terapéuticas, disponible en <http://www.dianasterapeuticas.com>)

