



**UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE
HIDALGO**

FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS Y BIOLÓGICAS

"DR. IGNACIO CHÁVEZ"

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA SALUD

**“VALORACIÓN DE eIF3F Y Ki67 COMO POSIBLES MARCADORES
DE PROLIFERACIÓN CELULAR QUE AUNADO A LA
ESTADIFICACIÓN COADYUVEN EN LA TERAPÉUTICA Y
PRONÓSTICO DE CÁNCER DE MAMA”**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRA
EN CIENCIAS DE LA SALUD**

PRESENTA:

Q.F.B. LESLY YARELI DURAN DIAZ

DIRECTORA DE TESIS:

D. EN C.B. ANA EDITH HIGAREDA MENDOZA



MORELIA, MICHOACÁN, MÉXICO

MAYO, 2021

El comité tutorial designado por la División de Estudios de Posgrado de la Facultad de Ciencias Médicas y Biológicas “Dr. Ignacio Chávez” de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo

Aprobó la tesis presentada por:

Química Farmacobióloga, Lesly Yareli Duran Diaz

Doctora en Ciencias

Ma. Soledad Vázquez Garcidueñas

Doctora en Ciencias

Ana Edith Higareda Mendoza

Doctor en Ciencias

Marco Aurelio Pardo Galván

Doctora en Ciencias

Martha Eva Viveros Sandoval

Maestra en Ciencias

Berenice Alcalá Mota Velazco

La Maestría en Ciencias de la Salud de la
Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo
Pertenece al Programa Nacional de Posgrados de Calidad
del CONACyT

La estudiante de la Facultad de Ciencias Médicas y Biológicas
“Dr. Ignacio Chávez” de la
Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo
agradece al CONACYT la beca que le fue otorgada
durante la realización de su tesis
Núm de becario CONACYT: 732201

Se agradece también el apoyo brindado por el
Centro de Estatal de Atención Oncológica (CEAO) y el
Hospital General “Dr. Miguel Silva”

al:

Departamento de Anatomía Patológica, Laboratorio de Histología y al personal involucrado agradeciendo de manera especial las atenciones y orientación de la Dra. Lina Urania Hernández Román, M.C René Martínez Valencia, Tec. María Esperanza Morán Diaz Barriga y Q.F.B Verónica Gómez Ruiz.

El presente Trabajo de Tesis se realizó en:

Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo
Facultad de Ciencias Médicas y Biológicas
“Dr. Ignacio Chávez”
División de Estudios de Posgrado
Laboratorio de Biología Celular Humana

y en el

Laboratorio Privado de Histología Avanzada para la Enseñanza asociado al
Departamento de Histología de la misma Facultad.

Dirección de Tesis:

Doctora en Ciencias Biológicas

Ana Edith Higareda Mendoza

Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo

Contribuciones:

Médico Especialista en Cirugía General

Carlos Torres Vega

Maestra en Ciencias

Berenice Alcalá Mota Velazco

Maestro en Ciencias

René Martínez Valencia

Dedicatoria

A la mujer más extraordinaria y mayor ejemplo de lucha, todo lo que soy y espero ser se lo debo a ella; atribuyo cada éxito en esta vida a la enseñanza que recibí de su parte.

Te amo mamá.

Agradecimientos

A mis padres:

Marbella Diaz y Noe Duran Resendiz

Mi fortaleza e inspiración diaria, es una dicha recibir su amor, comprensión, dedicación y apoyo incondicional para lograr todas y cada una de mis metas, sueños y anhelos.

A mi hermana:

Brizeida Zuleima Duran Diaz

Su constante motivación ha sido reconfortable en cada momento, mi excepcional compañera de vida.

A la D.C.B Ana Edith Higareda Mendoza

Quién ha sido participe de mi formación académica por varios años, me brindo la oportunidad de integrarme a su grupo de investigación, con gran disposición y apoyo absoluto ha sido mi mentora.

Al Dr. Carlos Torres Vega

Por su continua guía durante el desarrollo y ejecución de la investigación, así como el tiempo y los amplios conocimientos compartidos. Un honor haber coincidido en este proceso.

ABREVIATURAS

AJCC: American Joint Committee on Cancer

BIRADS: Breast Imaging Report and Database System

CEAO: Centro Estatal de Atención Oncológica

eIFs: Factores de iniciación de la traducción eucariótica

eIF3: Factor de iniciación eucariótico 3

IHQ: Inmunohistoquímica

kDa: Kilodalton

RE: Receptor de estrógenos

RP: Receptor de progesterona

HER2: Receptor del factor de crecimiento epidérmico 2

TNM: Estadificación del cáncer de mama: Tumor (T), ganglios linfáticos (N) y metástasis (M).

TRH: Terapia de reemplazo hormonal

WHO: World Health Organization

ÍNDICE

RESUMEN	15
ABSTRACT	16
1. INTRODUCCIÓN	17
2. ANTECEDENTES	20
2.1 Cáncer de mama	20
2.1.1 Glándula mamaria	20
2.1.2 Clasificación histológica del cáncer de mama	21
2.1.3 Clasificación histológica molecular del cáncer de mama	22
2.1.4 Factores de predisposición	23
2.2 Epidemiología	32
2.3 Diagnóstico y estadificación del cáncer de mama	33
2.4 Tratamiento.....	36
2.5 Ciclo celular	40
2.6 La proliferación celular y el cáncer: Ki67	44
2.7 La traducción y el cáncer: eIF3.....	47
2.8 eIF3f.....	48
3. JUSTIFICACIÓN	52
4. HIPÓTESIS	53
5. OBJETIVOS	53
5.1 Objetivo general.....	53
5.2 Objetivos específicos	53
6. ESTRATEGIA EXPERIMENTAL	54
7. MATERIALES Y MÉTODOS	55
7.1 Tipo de estudio	55

7.2. Universo o población	55
7.3 Muestra.....	55
7.4 Definición de las variables	56
7.5 Criterios de inclusión.....	57
7.6 Criterios de exclusión.....	57
7.7 Criterios de eliminación.....	57
7.8 Diagnóstico, estadificación y clasificación molecular de cáncer de mama ..	57
7.9 Tinción de Hematoxilina y Eosina	57
7.10 Selección de los anticuerpos y fluorocromos para la tinción de inmunohistoquímica.....	59
7.11 Inmunohistoquímica para la detección de eIF3f y Ki67.....	59
7.12 Análisis y evaluación de la técnica de inmunohistoquímica de triple fluorescencia.....	60
7.13 Análisis estadístico	61
7.14 Aspectos éticos.....	61
8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	63
Objetivo 1. Identificar las muestras histológicas de cáncer de mama y clasificarlas por parámetros clínico-patológicos.....	63
a) Distribución de pacientes de acuerdo a factores de riesgo.....	64
b) Distribución de pacientes de acuerdo a los parámetros del diagnóstico clínico.....	68
c) Distribución de pacientes de acuerdo a los tipos de terapéutica y estado del paciente.....	73
Objetivo 2. Determinar la expresión de eIF3f y Ki67 en los cortes histológicos de cáncer de mama	75
a) Estandarización de la técnica de inmunohistoquímica semicuantitativa de triple fluorescencia.	75

b) Determinar y analizar la expresión de eIF3f y Ki67 en los cortes histológicos de cáncer de mama	77
Objetivo 3. Correlacionar la expresión de eIF3f y Ki67	82
Objetivo 4. Asociar la expresión de eIF3f y Ki67 en relación al estadio clínico, grado y tipo histológico, e inmunofenotipo.....	84
a) Estimación de las posibles diferencias en la distribución entre grupos de los parámetros clínico-patológicos.....	84
b) Asociación de la expresión conjunta de eIF3f y Ki67	88
c) Estimación de las diferencias en la distribución y las asociaciones entre la intensidad de eIF3f, Ki67 e índice eIF3f/Ki67 con los factores de riesgo.	93
9. CONCLUSIÓN	96
10. PERSPECTIVAS.....	97
11. BIBLIOGRAFÍA	98
12. ANEXOS	107
12.1. Carta de aprobación del Hospital General “Dr. Miguel Silva”.....	107
12.2. Carta de aprobación del Centro Estatal de Atención Oncológica	108
12.3. Carta de aprobación del Comité de Ética en Investigación de la Facultad de Ciencias Médicas y Biológicas “Dr. Ignacio Chávez”	109
12.4. Formato de recopilación de datos del expediente clínico	111

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación de BIRADS: American College of Radiology (ACR).	34
Tabla 2. Sistema de estadificación TNM.	35
Tabla 3. Tipos de terapia endocrina en uso clínico.	38
Tabla 4. Algunos tipos de terapia dirigida	40
Tabla 5. Comparación de la estadística descriptiva con otro estudio realizado en mujeres mexicanas	67

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Tipos de mama	21
Figura 2. Diferentes vías de señalización involucradas en la TE	39
Figura 3. Ciclo celular.....	42
Figura 4. Puntos de control del ciclo celular.....	44
Figura 5. Modelado de eIF3	48
Figura 6. Perfil de expresión de la proteína y ARNm de eIF3f en referencia al índice mitótico de células A549.....	51
Figura 7. Distribución de pacientes de acuerdo al origen/procedencia.	63
Figura 8. Distribución de pacientes de acuerdo grupos de edad.....	64
Figura 9. Distribución de pacientes de acuerdo a la edad de la menarca.	65
Figura 10. Distribución de pacientes de acuerdo a su periodo hormonal.....	65
Figura 11. Distribución de pacientes de acuerdo al primer embarazo.....	65
Figura 12. Distribución de pacientes de acuerdo a la lactancia.	65
Figura 13. Distribución de pacientes de acuerdo a los antecedentes familiares con cáncer de mama.....	66
Figura 14. Distribución de pacientes de acuerdo al IMC.	66
Figura 15. Distribución de pacientes de acuerdo al consumo de sustancias nocivas.	67

Figura 16. Distribución de pacientes de acuerdo a la exposición de estrógenos exógenos.....	67
Figura 17. Distribución de pacientes de acuerdo a la localización del tumor.	68
Figura 18. Distribución de pacientes de acuerdo a la localización del tumor por cuadrantes.....	68
Figura 19. Distribución de pacientes de acuerdo al BIRADS.	69
Figura 20. Distribución de pacientes de acuerdo a T.	70
Figura 21. Distribución de pacientes de acuerdo a N.....	70
Figura 22. Distribución de pacientes de acuerdo a M.	70
Figura 23. Distribución de pacientes de acuerdo al estadio clínico.	70
Figura 24. Distribución de pacientes de acuerdo al tipo histológico.	71
Figura 25. Tinción H&E de 3 casos de pacientes.....	71
Figura 26. Distribución de pacientes de acuerdo al grado histológico.....	72
Figura 27. Distribución de pacientes de acuerdo a la expresión molecular.....	72
Figura 28. Distribución de pacientes de acuerdo al inmunofenotipo.	73
Figura 29. Distribución de pacientes de acuerdo al tratamiento quirúrgico.	73
Figura 30. Distribución de pacientes de acuerdo a la terapéutica.	73
Figura 31. Distribución de pacientes de acuerdo al estado del paciente.....	74
Figura 32. Inmunohistoquímica de tejidos con Ki67, eIF3f y β .actina.....	76
Figura 33. Inmunohistoquímicas de triple fluorescencia en muestras de cáncer de mama de un carcinoma de grado histológico 1.	77
Figura 34. Inmunohistoquímicas de triple fluorescencia en muestras de cáncer de mama de un carcinoma de grado histológico 2.	78
Figura 35. Inmunohistoquímicas de triple fluorescencia en muestras de cáncer de mama de un carcinoma de grado histológico 3.	79
Figura 36. Inmunohistoquímicas de triple fluorescencia en muestras de cáncer de mama de un carcinoma sin anticuerpo primario de eIF3f.....	80
Figura 37. Coeficiente de correlación de Spearman entre eIF3f y Ki67 normalizados.....	82

Figura 38. Coeficiente de correlación de Spearman entre el porcentaje de células de Ki67 en IHQ tradicional con la intensidad de fluorescencia de Ki67 normalizados.....	83
Figura 39. Distribución de la intensidad de Ki67 (a), eIF3f (b) e índice eIF3f/Ki67 (c) en relación al estadio clínico	85
Figura 40. Distribución de la intensidad de Ki67 (a), eIF3f (b) e índice eIF3f/Ki67 (c) en relación a la estratificación del estadio clínico.....	85
Figura 41. Distribución de la intensidad de Ki67 (a), eIF3f (b) e índice eIF3f/Ki67 (c) en relación al inmunofenotipo	86
Figura 42. Distribución de la intensidad de Ki67 (a), eIF3f (b) e índice eIF3f/Ki67 (c) en relación al pronóstico	87
Figura 43. Distribución de la intensidad de Ki67 (a), eIF3f (b) e índice eIF3f/Ki67 (c) en relación a la expresión molecular de Her2	88
Figura 44. Asociación del índice eIF3f/ki67 en relación al tamaño tumoral	89
Figura 45. Asociación del índice eIF3f/Ki67 en relación al estadio clínico	90
Figura 46. Asociación del índice eIF3f/Ki67 en relación a la estratificación del estadio clínico.....	90
Figura 47. Asociación del índice eIF3f/Ki67 en relación al inmunofenotipo.....	92
Figura 48. Vía de señalización de activación de la activación de Her 2 (+) y síntesis proteica	92
Figura 49. Distribución de la intensidad de Ki67 (a), eIF3f (b) e índice eIF3f/Ki67 (c) en relación al IMC	93
Figura 50. Distribución de la intensidad de Ki67 (a), eIF3f (b) e índice eIF3f/Ki67 (c) en relación a la exposición a estrógenos exógenos.....	94
Figura 51. Distribución de la intensidad de Ki67 (a), eIF3f (b) e índice eIF3f/Ki67 (c) en relación al estado de periodo hormonal	95
Figura 52. Asociación del índice eIF3f/ki67 en relación al estado del periodo hormonal	95

RESUMEN

El cáncer de mama ocupa el primer lugar en incidencia de las neoplasias malignas en mujeres, representando el 16% de todos los cánceres femeninos. En México, la atención médica se basa en la NOM-041-SSA-2011 “Para la prevención, diagnóstico, tratamiento, control y vigilancia epidemiológica del cáncer de mama”. Un marcador de proliferación celular conocido y aplicado como factor pronóstico es Ki67, una proteína nuclear no histónica que se expresa durante todo el ciclo celular, excepto en estado quiescente. Un posible marcador de proliferación adyuvante es la subunidad f del complejo proteico eIF3 que tiene una función reguladora en la iniciación del proceso de traducción. Los niveles bajos de eIF3f se han relacionado con el estado maligno de diferentes tipos de cáncer y se expresa en todas las fases del ciclo celular, incluyendo el estado quiescente.

Objetivo general: Establecer el valor de la expresión conjunta de Ki67 y eIF3f como marcadores de proliferación celular en los distintos estadios de cáncer de mama y su valor pronóstico. **Materiales y métodos:** Estudio retrospectivo, observacional, descriptivo y transversal. Selección de 77 pacientes del Hospital General “Dr. Miguel Silva” y el CEAO de la Secretaría de Salud con diagnóstico confirmatorio de cáncer de mama durante el 2018. Estandarización de la técnica de inmunohistoquímica con marcadores fluorescentes de anticuerpos específicos para eIF3f y Ki67. Análisis y visualización de imágenes por microscopía confocal. El análisis estadístico incluye medidas de tendencia central y dispersión, prueba de normalidad Kolmogorov-Smirnov, correlación de Spearman, prueba de distribución de datos mediante U de Mann Whitney y asociaciones mediante χ^2 , con significancia de $p < 0.05$. **Resultados:** La expresión de eIF3f y Ki67 se correlaciona significativamente ($p < 0.05$), se tienen distribuciones y asociaciones estadísticamente significativas con el tamaño del tumor, estadios clínicos (temprano y avanzados), inmunofenotipos y con algunos factores de riesgo que son predisponentes para padecer la neoplasia. **Conclusión:** Medir la expresión conjunta de eIF3f/Ki67 sí agrega valor en la caracterización del crecimiento neoplásico y pronóstico de cáncer de mama.

Palabras clave: eIF3f, Ki67, proliferación celular, inmunohistoquímica con marcadores fluorescentes, cáncer de mama.

ABSTRACT

Breast cancer ranks first in incidence of malignant neoplasms in women, accounting for 16% of all female cancers. In Mexico, medical care is based on NOM-041-SSA-2011 "For the prevention, diagnosis, treatment, control and epidemiological surveillance of breast cancer". A known cell proliferation marker applied as a prognostic factor is Ki67, a non-histonic nuclear protein that is expressed throughout the cell cycle, except in a quiescent state. A possible adjuvant proliferation marker is the f subunit of the eIF3 protein complex, which has a regulatory role in the initiation of the translation process. Low levels of eIF3f have been linked to the malignant state of different types of cancer and it is expressed in all phases of the cell cycle, including the quiescent state. **General objective:** To establish the value of the joint expression of Ki67 and eIF3f as markers of cell proliferation in the different stages of breast cancer and its prognostic value. **Materials and methods:** Retrospective, observational, descriptive and cross-sectional study. Selection of 77 patients from the General Hospital "Dr. Miguel Silva" and the CEAO of the Ministry of Health with a confirmatory diagnosis of breast cancer during 2018. Standardization of an immunohistochemical technique with fluorescent antibody markers specific for eIF3f and Ki67. Analysis and visualization of images by confocal microscopy. Statistical analysis includes measures of central tendency and dispersion, Kolmogorov-Smirnov normality test, Spearman correlation, Mann Whitney U test of data distribution and associations using χ^2 , with significance of $p < 0.05$. **Results:** The expression of eIF3f and Ki67 is significantly correlated ($p < 0.05$), it has statistically significant distributions and associations with tumor size, clinical stages (early and advanced), immunophenotypes, and with some risk factors that are predisposing to suffer from the neoplasia. **Conclusion:** Measure the joint expression of eIF3f / Ki67 adds value in the characterization of neoplastic growth and prognosis of breast cancer.

Key words: eIF3f, Ki67, cell proliferation, immunohistochemistry with fluorescent markers, breast cancer.

1. INTRODUCCIÓN

El cáncer de mama es una de las enfermedades que tiene mayor presencia en las mujeres a nivel mundial, representa el 16%. Ocupa el primer lugar en incidencia de las neoplasias malignas en las mujeres. La incidencia varía mucho en todo el mundo, con tasas normalizadas por edad de hasta 99.4 por 100,000 mujeres. En América del Norte, Europa Oriental, América del Sur, África Austral y Asia Occidental presentan incidencias moderadas, pero en aumento; la incidencia más baja se da en la mayoría de los países africanos, aunque también se observa un incremento. Las tasas de supervivencia de pacientes con cáncer mamario varían mucho en todo el mundo, desde el 80% o más, pasando por un 60% aproximadamente en los países de ingresos medios, hasta cifras inferiores al 40% en los países de ingresos bajos. Las bajas tasas de supervivencia observadas en los países en desarrollo pueden explicarse principalmente por la falta de programas de detección precoz, pero también por la falta de servicios adecuados de diagnóstico y tratamiento. (WHO, 2019)

En el 2018, el INEGI reportó 6,854 defunciones registradas por cáncer de mama que se concentran en tres grupos de edad: el mayor número de muertes se distribuye en los grupos de 45 a 54 años (23.9%), de 55 a 64 años (25.6%) y de 65 y más años (35.2%). En México, el modelo de atención se realiza con la exploración clínica de mama a partir de los 25 años y la mastografía cada dos años en mujeres de 40-69 años. Los resultados de las mastografías se reportan tomando en cuenta la escala de BIRADS y a partir de ahí, se decide su seguimiento o su referencia para la evaluación diagnóstica. (Secretaría de Salud, 2013)

No obstante, hay marcadores que permiten la caracterización de la enfermedad. Un marcador importante es la proliferación celular ya que este tipo de marcador permite predecir la agresividad del tumor, así como el pronóstico y la respuesta al tratamiento. Un marcador de proliferación celular muy conocido y aplicado como factor pronóstico en pacientes con cáncer de mama es Ki67. Ki67 es una proteína nuclear no histónica que se expresa durante todo el ciclo celular,

excepto en el estado quiescente de la célula (Gerdes *et al.*, 1983). Se produce continuamente desde el inicio de la fase S hasta la salida en mitosis, degradándose durante las fases G0 y G1 (Miller *et al.*, 2018).

Para su detección se ha utilizado comúnmente la técnica de inmunohistoquímica y en diversos estudios se ha relacionado con una función predictiva. Varios grupos de investigación han encontrado que un valor elevado de Ki67 se asocia a un mayor riesgo de recurrencia y muerte por cáncer de mama; también se relaciona con el tamaño del tumor, es decir, cuanto más agresivo es el tumor mayor es el porcentaje de expresión de Ki67 (De Azambuja *et al.*, 2007; Inwald *et al.*, 2013; Petrelli *et al.*, 2015). A pesar de la gran cantidad de artículos publicados sobre el valor pronóstico de Ki-67 en cáncer de mama, aún existe cierta incertidumbre en la forma de evaluar a Ki67: se desconoce el umbral de mayor significado pronóstico. Petrelli *et al.* (2015) concluyen en un estudio meta-analítico que Ki67 tiene un valor independiente en términos de la supervivencia global, pero que tasas de expresión superiores al 25% se asocian con un mayor riesgo de muerte, en comparación con tasas de expresión menores al 25%.

Un posible marcador de proliferación que se ha estudiado en los últimos años es eIF3f. Esta proteína es una subunidad de un complejo proteico que tiene una función reguladora en la iniciación del proceso de la traducción y los niveles bajos de eIF3f se han relacionado con el estado maligno de diferentes tipos de cáncer. En el 2010, Higareda Mendoza y Pardo Galván determinaron que la expresión de eIF3f está disminuida en células en reposo, en comparación con la de células en un ciclo celular activo; observaron la expresión máxima en la fase G2/M, seguida de una expresión intermedia en la fase S temprana del ciclo celular. Doldan *et al.* (2008) usaron la técnica de inmunohistoquímica y analizaron la expresión de eIF3f en tejidos de melanoma y cáncer de páncreas, en ambos casos hubo una disminución significativa de la expresión de eIF3f en este tejido neoplásico, con respecto a la expresión en tejido adyacente libre de neoplasia.

La estimación del grado de crecimiento con Ki67, por sí sola, no es suficiente para describir el crecimiento tumoral (Scholzen y Gerdes, 2000). Ki67 sólo proporciona información sobre el estado proliferativo de la población celular, y

no sobre la velocidad de la proliferación. En cambio, la concentración de eIF3f varía en relación a la distribución de la población celular en las distintas fases del ciclo celular, por lo tanto, podría ser un marcador adicional que aporte a la descripción del crecimiento tumoral. El precisar la descripción del crecimiento neoplásico podría mejorar la determinación pronóstica e incluso la selección de la terapia más apropiada, como se describirá más adelante.

2. ANTECEDENTES

2.1 Cáncer de mama

Los tumores malignos se denominan, en conjunto, cáncer. Pueden invadir y destruir las estructuras adyacentes y metastatizar, causando la muerte (Kumar *et al.*, 2015).

El término "cáncer de mama" hace referencia al crecimiento anormal y desordenado de células del epitelio de los conductos o lobulillos mamarios que pueden tener la capacidad de diseminarse (Secretaría de Salud, 2013).

2.1.1 Glándula mamaria

La mama está compuesta por lóbulos y conductos: cada mama tiene 15-20 lóbulos, que se dividen en lobulillos y, a su vez, en docenas de bulbos que pueden producir leche. Los lóbulos, los lobulillos y los bulbos están conectados por tubos delgados denominados conductos. El aporte sanguíneo de cada mama proviene de vasos sanguíneos y vasos linfáticos; por medio de los cuales las células neoplásicas se diseminan a otras partes del cuerpo, proceso denominado metástasis (Martín Jiménez, 2009)

El BIRADS (Breast Imaging Reporting and Data System) del ACR (American College of Radiology) es una herramienta diseñada para estandarizar el informe de la imagen de la mama, disminuyendo la confrontación entre la interpretación y las recomendaciones de manejo. Respecto al uso del BIRADS en el informe de mamografía, se incluyen dos cosas: la primera corresponde a la composición del tejido mamario y la segunda a los hallazgos encontrados en la mamografía (Tabla 1). En cuanto a la composición del tejido mamario, el BIRADS propone cuatro tipos (Fig. 1):

- 1) Tipo A: Las mamas están compuestas casi completamente por tejido adiposo.
- 2) Tipo B: En las mamas hay áreas de densidad fibroglandular dispersas.
- 3) Tipo C: Las mamas son heterogéneamente densas.

- 4) Tipo D: Corresponden a mamas extremadamente densas, lo cual disminuye la sensibilidad de la mamografía.

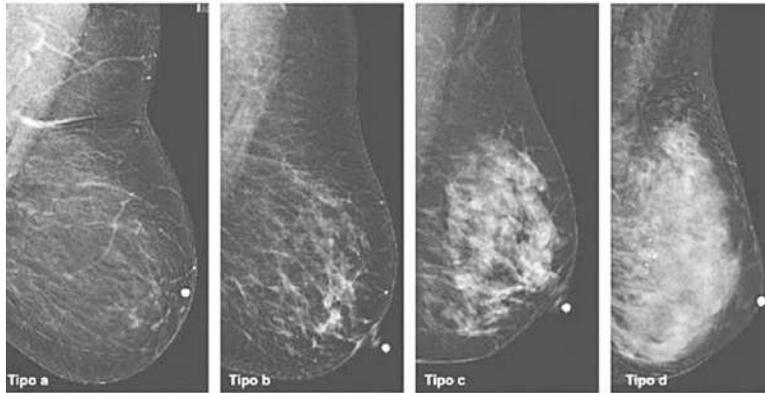


Figura 1. Tipos de mama. (Rios y Rodríguez, 2019)

2.1.2 Clasificación histológica del cáncer de mama

De acuerdo a la clasificación establecida por la OMS, el cáncer de mama puede clasificarse ampliamente en carcinoma *in situ* y carcinoma invasivo:

- a) El carcinoma de mama *in situ* se subclasifica como ductal o lobular. Los patrones de crecimiento y las características citológicas forman la base para distinguir entre los dos tipos. El carcinoma ductal *in situ* (DCIS) es considerablemente más común que su contraparte, el carcinoma lobular *in situ* (LCIS), y abarca un grupo heterogéneo de tumores. Tradicionalmente, el DCIS se ha subclasificado en función de las características arquitectónicas del tumor, lo que ha dado lugar a cinco subtipos bien reconocidos: comedo, cribiforme, micropapilar, papilar y sólido.
- b) Los carcinomas invasivos son un grupo heterogéneo de tumores diferenciados en subtipos histológicos. Los principales tipos de tumores invasivos incluyen el ductal infiltrante, el lobular invasivo y el mixto (ductal y lobular). De éstos, el carcinoma ductal infiltrante (IDC) es el subtipo más común, representando el 70-80% de todas las lesiones invasivas. El IDC se subclasifica como bien diferenciado (grado 1), moderadamente diferenciado (grado 2) o pobremente diferenciada (grado 3), con base en los niveles de

pleomorfismo nuclear, formación glandular/tubular e índice mitótico (Malhotra GK, Zhao X, Band H, 2010; Sinn HP, 2013; WHO, 2019).

2.1.3 Clasificación histológica molecular del cáncer de mama

La determinación de la expresión genética por micro-arreglos de ADN ha permitido establecer un perfil biológico más exacto del tumor, además de permitir una clasificación molecular del cáncer de mama que posee consideraciones pronósticas más precisas que la clasificación histopatológica. La mayor parte de los diagnósticos se realiza mediante coloración de hematoxilina - eoxina (H-E) y técnicas de inmunohistoquímica, siendo los más usados los receptores de estrógeno (RE), receptores de progesterona (RP), receptores del factor de crecimiento epidérmico 2 (HER2) y el índice de proliferación celular con la expresión de Ki67 (Severiche, 2015).

En el año 2013, con el objetivo de homogeneizar los criterios, el Consenso Internacional de Expertos de St. Gallen propuso la última clasificación para dividir los tumores en cuatro subtipos intrínsecos (Goldhirsch *et al.*, 2013): Luminal A, Luminal B/Her2- o Luminal B/Her2+, Her2+ y triple negativo, añadiendo a Ki67 como un marcador diferencial para Luminal A y Luminal B.

- 1) El de tipo luminal A es un subtipo con mejor pronóstico y se caracteriza por expresar el receptor de estrógenos (RE), progesterona (RP) >20 y queratinas de bajo peso molecular (CK7, CK8), similar al epitelio de los ductos mamarios. (Cardoso *et al.*, 2010)
- 2) El de tipo luminal B tiene una expresión a receptores de estrógenos (RE), receptores de progesterona (RP) <20, un índice de proliferación tumoral alto; lo que hace que empeore el pronóstico y se subclasifica en dos grupos, los que expresan receptores de HER2 y los que no expresan.
- 3) El de tipo HER2 no hay expresión de RE ni RP, tiene aumentada la expresión de genes HER2 y se asocia a genes de angiogénesis y proteólisis, haciendo que el pronóstico sea malo.
- 4) El subtipo triple negativo debe su nombre a la ausencia de expresión de RE, RP y de HER2; se caracteriza por la sobre-expresión de citoqueratinas de la

capa basal (CK5, CK6, CK17) y la expresión de genes de proliferación celular. Este subtipo se asocia a la mutación BRCA1 y presenta el comportamiento más agresivo.

En este consenso, se utiliza a Ki67 como marcador diferencial principal entre los subtipos moleculares del cáncer de mama. Por ejemplo, el luminal A, presenta un Ki67 bajo o menor al 20%, mientras que el luminal B presenta valores de Ki67 altos o mayores al 20%. Igualmente, se reconoce que hasta ahora siguen existiendo dificultades para la unificación de la medición de Ki67, así como la definición del punto de corte para clasificar un Ki67 de alto o bajo grado (Goldhirsch *et al.*, 2013).

Recientemente se ha agregado a la clasificación el subtipo bajo en claudina (proteína de la zona de oclusión entre las células de los epitelios y endotelios) que presenta CD44/24+ y ausencia de RE, RP y HER2 (Malhotra *et al.*, 2010).

En resumen, los subtipos luminales son de mejor pronóstico, aunque el Luminal B tiene peor pronóstico que Luminal A debido a la variación en la respuesta al tratamiento. Estos subtipos son tratados con hormonoterapia. Varios estudios han reportado que los tumores RE+ responden poco a la quimioterapia convencional. También, se ha demostrado que los pacientes con tumores RE- tienen más respuestas patológicas completas a la quimioterapia neoadyuvante que los RE+. Los tumores luminales tienen 6% de respuesta patológica completa a quimioterapia preoperatoria basada en paclitaxel seguida de 5-fluoracilo, doxorubicina y ciclofosfamida, contrario al 45% de respuesta patológica completa en el subtipo basal y Her2+. El triple negativo o tipo basal es el de peor pronóstico; no es susceptible a tratamientos blanco convencionales, sin embargo, presentan alta sensibilidad a la quimioterapia. (Zepeda *et al.*, 2008; Goldhirsch *et al.*, 2013)

2.1.4 Factores de predisposición

El conocimiento de los factores de riesgo del cáncer de mama permite identificar a las mujeres con mayor predisposición; a continuación se mencionan algunos:

A. Factores de predisposición no modificables

a) Factores hormonales endógenos

La exposición prolongada o las concentraciones elevadas de hormonas endógenas están relacionadas con un mayor riesgo de cáncer de mama. Las vías de metabolización de los estrógenos son similares en las mujeres pre y posmenopáusicas. El metabolismo del estradiol ocurre principalmente por oxidación transformándose en estrona, un proceso reversible, pero la reducción de estrona a estradiol ocurre más lentamente. El metabolismo de estrona ocurre de forma irreversible a dos vías exclusivas: en mayor cantidad la 2-hidroxilación y 16-hidroxilación y en menor cantidad la 4-hidroxilación.

Los 2-hidroxiderivados tienen acciones biológicas opuestas a los 16-hidroxiderivados. Los primeros son inhibidores de la proliferación celular con acción antiestrogénica *in vivo*, en cambio los segundos estimulan la mitosis, de tal forma que si estos estrógenos se metabolizan en 2-alfa hidroxiestrona pierden gran parte de su potencia estrogénica y con ello su capacidad proliferativa y eventualmente carcinogénica. Aquellas mujeres con alta tasa de metabolización de sus estrógenos a 2-hydroxyestrona tienen una disminución de 40% del riesgo de cáncer de mama. En cambio, en mujeres que metabolizan estrógenos a 16-alfa hidroxiestrona presentan un riesgo elevado de cáncer de mama. Se ha podido demostrar que los estrógenos metabolizados a 16-alfa hidroxiestrona presentan efectos genotóxicos directos sobre células blanco.

Las enzimas que intervienen en su conversión a estrógenos constituyen un grupo de aromatasas: el grupo enzimático de los citocromos p450. El ovario es el sitio de mayor concentración y los sitios de metabolización extra-ovárico son fundamentalmente el tejido adiposo y la piel, por lo que la aromatización de los andrógenos está directamente relacionada al volumen de tejido adiposo presente en cada mujer. En el período de transición menopáusica hay un cambio desde un mecanismo de producción endócrino (estrógenos de producción ovárica) a uno parácrino (síntesis tisular de estrógenos). La aromataasa tisular, responsable de este último proceso, regulada por citoquinas, factores de crecimiento y glucocorticoides. Algunos tumores benignos o malignos estrógeno dependientes comparten la característica de presentar una mayor expresión de esta enzima,

siendo el caso especial el cáncer de mama. Esto ha llevado a que los inhibidores de la aromatasa sean estudiados y ya utilizados en forma experimental para el tratamiento de cáncer de mama.

Cabe mencionar que los estrógenos son metabolizados también por glucuronización, sulfonación y oximetilación. Aunque su contribución relativa al metabolismo es menor que la de las vías mencionadas previamente. (Cóppola *et al.*, 2005).

b) Antecedentes familiares y mutaciones genéticas

Hay genes que actúan como genes supresores tumorales, cuyos productos participan en el mantenimiento de la integridad del ADN y en la regulación de la transcripción. Sin embargo, se cree que las mutaciones en estos genes causan entre el 5% y el 10% de los cánceres de mama que son hereditarios; el exceso de riesgo es más marcado en mujeres jóvenes y cuando la enfermedad se ha desarrollado en un pariente cercano (madre, hija o hermana) antes de la edad de 50 años. Las mutaciones más frecuentes en mujeres son aquellas portadoras de mutaciones en los genes BRCA 1 y BRCA 2 (Alberto *et al.*, 2012).

Jensen y colaboradores demostraron que el gen BRCA 1 es una proteína activada por adenosin monofosfato cíclico (AMPc) y que su expresión es regulada por estrógenos en diversos tejidos neuroendocrinos, tales como el cerebro, la hipófisis, las glándulas suprarrenales y el tiroides (Jensen *et al.*, 1996). También se evidenció que la proteína BRCA 1 era un inhibidor selectivo del crecimiento de células ováricas y mamarias. Esto demostró que el gen BRCA 1 era un mediador del crecimiento celular al inhibir la proliferación de células epiteliales de la mama, encontraron actividades supresoras tumorales del gen y esto llevó a la consideración de que el BRCA 1 es necesario para el crecimiento y desarrollo tisular normal (Holt *et al.*, 1996). La posición intragénica en el extremo carboxilo (3') de las mutaciones del gen BRCA 1 produce una frecuencia más alta de cáncer de mama y son responsables de aproximadamente el 50% de los cánceres hereditarios de mama.

Los cánceres de mama relacionados con BRCA 1 son, en su mayoría, ductales infiltrantes, también se presenta un exceso de la forma medular (13%);

además, exhiben un pobre grado histológico, un índice mitótico alto, mayor aneuploidía y usualmente tiene receptores hormonales negativos y no sobre-expresan el HER 2 (Kim *et al.*, 2003). Se diagnostican en etapas más tempranas, y presentan tasas similares de recurrencia y mortalidad si se compara con el cáncer de mama no hereditario (Rubin *et al.*, 1998). Exhiben una mayor sensibilidad a la quimioterapia, parecida a la de los tumores de mama, que se caracterizan por tener una tasa de proliferación elevada (Narod SA, 2005; Alberto *et al.*, 2012).

A la mutación en BRCA 2 se le atribuye el 40% de los cánceres de mama hereditarios y la aparición de cáncer de mama masculino en los grupos familiares. Las características clínicas y patológicas de los cánceres mamarios parecen ser similares a los esporádicos, el mayor tipo histológico es el ductal infiltrante. Hay un exceso de presentación de la forma lobular–tubular y muestran unas características patológicas menos agresivas. Hay pocos estudios disponibles sobre los receptores hormonales y la expresión del HER 2, pero parece que su expresión es similar a los carcinomas esporádicos (Narod, 2005; Alberto *et al.*, 2012).

Algunas de las mutaciones menos frecuentes se presentan en genes como (Kumar, 2015; Enrique *et al.*, 2016):

- ATM: Tiene un rol central en el mantenimiento de la integridad del genoma por activación de los puntos de control del ciclo celular, la detención del ciclo celular, apoptosis y senescencia, lo que evita la inestabilidad genómica, así como, en la reparación del ADN. Los portadores heterocigóticos de mutaciones tienen mayor riesgo de cáncer de mama comparados con la población general. En mujeres <50 años, el riesgo se incrementa 5 veces.
- CDH1: Codifica una molécula de adhesión celular dependiente de calcio, que tiene una función en el establecimiento y mantenimiento de conexiones intercelulares. En comparación con el epitelio normal, las células cancerosas muestran un decrecimiento de la adhesión intercelular mediada por cadherina. Otra función de este gen es la inhibición de la motilidad

celular. Las mujeres con una anomalía en este gen tienen un riesgo de entre 39 y 52% de desarrollar carcinoma lobulillar de mama.

- CHEK2: Da instrucciones para la fabricación de una proteína que detiene el crecimiento neoplásico. Una anomalía del gen puede, como mínimo, duplicar el riesgo de desarrollar cáncer de mama.
- PTEN: El gen codifica una fosfatasa que sirve como un regulador negativo de AKT y es un interruptor de la carcinogénesis debido a su actividad fosfatasa de fosfatidilinositol-3-cinasa (PI3K). La disfunción de éste lo incapacita para detener el ciclo celular y la apoptosis, lo que origina una supervivencia celular anormal. Las mujeres con mutación en este gen tienen un riesgo permanente de desarrollar cáncer de mama de hasta 85%.
- TP53: El gen codifica una proteína cuya principal función es actuar como factor de transcripción. Un potenciador en la estabilidad genómica que tiene funciones en la detección del ciclo celular, la apoptosis y reparación en respuesta al daño del ADN. Juega un importante rol en el pronóstico del cáncer de mama su sobreexpresión provoca mala respuesta a la quimioterapia, por constituir tumores invasivos, poco diferenciados y con alto grado de malignidad.
- PALB2: A este gen se le llama el socio y localizador de BRCA2. Trabaja en conjunto con la proteína de BRCA2 para reparar el ADN dañado y detener el crecimiento neoplásico. Una anomalía de este gen aumenta de 5 a 9 veces más que lo normal, casi tan alto como el de los genes BRCA1 y BRCA2.

En comparación con la población general, las mujeres portadoras de cualquier tipo de mutación en estos genes tienen un mayor riesgo de presentar cáncer de mama. Se estima que el riesgo asociado con mutaciones en estos genes excede al 80% para mujeres y al 6% para hombres, cuando el sujeto que porta estos genes alcanza la edad de 70 años.

c) **Radiación ionizante**

El monitoreo intensivo de varios grupos de población demostró que el seno es uno de los órganos más sensibles a los efectos de la radiación. El riesgo de cáncer de

mama es similar para una sola exposición o para exposiciones múltiples a igual intensidad total. El riesgo aumenta en la medida en que se dañan el ADN y sus componentes, aún más cuando son expuestos a radiación durante la adolescencia mientras los senos se desarrollan (American Cancer Society, 2019).

d) Edad

Es el factor de riesgo más importante frente al cáncer de mama es la edad. La enfermedad es rara entre mujeres menores de 30 años. En cambio, el riesgo aumenta entre los 50 y 75 años de edad. Casi dos tercios de los cánceres de mama se presentan en este grupo de edad. El envejecimiento es inevitable, con el tiempo hay más oportunidades para el daño genético en el cuerpo, y a medida que éste envejece es menos capaz de reparar el daño genético. (Kumar, 2015; American Cancer Society, 2019).

e) Menarca precoz/ menopausia tardía

Cuando la mujer comienza a menstruar a una edad más temprana, el tejido mamario tiende a ser inmaduro, hiperactivo y particularmente sensible a las influencias hormonales. Cuanto antes se formen las mamas, más temprano estarán listas para interactuar con las hormonas dentro y fuera de tu cuerpo, así como con las sustancias químicas en los productos que son disruptores hormonales. De igual manera, cuanto más tiempo una mujer menstrúa, mayor será su exposición de por vida a las hormonas estrógeno y progesterona. Esta interacción más prolongada con las hormonas y los disruptores hormonales puede aumentar el riesgo. (American Cancer Society, 2019).

f) Densidad de la mama

Este término se utiliza para describir la atenuación de los rayos X en un nódulo; existen cuatro tipos de densidad en los nódulos: hiperdenso, isodenso, hipodenso y contenido adiposo. La mayoría de los cánceres de mama manifiestan nódulos isodensos o hiperdensos respecto al tejido fibroglandular; es poco frecuente que un nódulo hipodenso se asocie con malignidad. El espesor del tejido mamario se mide mediante una mamografía; una mama densa puede dificultar la detección del cáncer de mama en las mamografías. El epitelio y estroma mamario producen mayor atenuación de los rayos X que la grasa, por lo que aparecen blancos en la

mamografía, mientras que la grasa se ve oscura. Así la apariencia de la mamografía varía entre las mujeres, dependiendo de la composición de su mama (Fig. 1)

La proporción de mama constituida por tejido conectivo y epitelial es usualmente denominada como porcentaje de tejido mamario o porcentaje de densidad mamográfica (PDM). Las mujeres con mamas muy densas en la mamografía tienen un riesgo de cáncer 6-8 veces superior, en comparación al de mujeres con una menor densidad, ya que esta condición dificulta la observación de anomalías en la mama al momento del diagnóstico (Rios y Rodríguez, 2019).

B. Factores de predisposición modificables

a) Factores hormonales exógenos

- **Anticonceptivos orales**

El riesgo de cáncer de mama aumenta en mujeres que usan anticonceptivos orales. Sin embargo, este aumento en el riesgo cae al cesar su consumo y parece regresar a la normalidad en un plazo de 10 años. El cáncer de mama es raro en mujeres jóvenes en edad fértil y que usan anticonceptivos orales. El uso significativo de estos productos no da como resultado un número adicional de casos. En cambio, el uso de estas drogas tarde en la vida resulta en un aumento relativo en el riesgo de cáncer de mama (American Cancer Society, 2019).

- **Terapia de reemplazo hormonal (TRH)**

La terapia de reemplazo hormonal influye en el riesgo de presentar cáncer de mama. Uno de los mecanismos activados es que retrasa los efectos de la menopausia. Existen dos tipos principales de TRH: TRH combinada (contiene hormonas de estrógeno y progesterona) y TRH solo con estrógeno (contiene solo estrógeno). Cada tipo de TRH parece tener un efecto diferente en el riesgo de sufrir cáncer de mama.

La TRH combinada aumenta el riesgo de sufrir cáncer de mama en aproximadamente 75%, incluso cuando se usa por un período corto. La TRH combinada también aumenta la probabilidad de que se detecte el cáncer en un estadio más avanzado, además de aumentar el riesgo de que las mujeres con un

diagnóstico de cáncer de mama mueran a causa de esa enfermedad. El riesgo de sufrir cáncer de mama aumenta más durante los primeros 4 años de recibir una TRH combinada. La TRH combinada de dosis más alta aumenta el riesgo de cáncer de mama en mayor medida que la TRH combinada de dosis más baja. El riesgo de cáncer de mama vuelve al promedio aproximadamente 5 años después de interrumpir la TRH combinada.

La TRH solo con estrógeno aumenta el riesgo de cáncer de mama, pero solo cuando se usa por más de 10 años. Resultados de estudios sobre el uso de estrógeno solo después de la menopausia han sido ambivalentes, algunos revelan un riesgo ligeramente mayor y algunos no encuentran aumento de riesgo (American Cancer Society, 2019).

- **Factores relacionados con la reproducción**

El riesgo de sufrir cáncer de mama presenta, en promedio, una disminución del 25% en mujeres que tienen al menos un embarazo a término antes de los 30 años de edad, en comparación con a mujeres nulíparas. El efecto protector de la multiparidad parece aumentar proporcionalmente.

Las células mamarias se desarrollan durante la adolescencia y son inmaduras y muy activas hasta tu primer embarazo a término. Las células mamarias inmaduras responden a la hormona estrógeno así como a sustancias químicas que afectan las hormonas presentes en ciertos productos. El primer embarazo a término hace que las células mamarias maduren completamente y crezcan de manera más regular. Esta es la razón principal por la cual un embarazo ayuda a proteger contra el cáncer de mama. Estar embarazada también reduce el número total de ciclos menstruales en la vida, que puede ser otra de las razones por las que el embarazo temprano parece ofrecer un efecto protector (Lambe *et al.* 1996; Meier y Bentires 2014; American Cancer Society, 2019).

- **No Lactancia**

La asociación entre la lactancia materna y el riesgo de cáncer de mama no es completamente conocida. Algunos mecanismos plausibles son que la lactancia produce cambios hormonales, en particular, la reducción de estrógenos y el aumento en la producción de prolactina. Se ha demostrado que el nivel de

estrógeno en la sangre de las mujeres que amamantan a sus hijos aumenta gradualmente desde el último parto y luego se mantiene por varios años, antes de llegar al nivel registrado en mujeres nulíparas.

Finalmente, el efecto protector de la lactancia materna es atribuible a su papel en el retraso de la ovulación. Las mujeres que amamantaron por un período total de al menos 6 meses tienen un riesgo reducido, en comparación con aquellas que nunca amamantaron (American Cancer Society, 2019).

b) Obesidad y aumento de peso

La obesidad se asocia con un perfil hormonal que promueve el desarrollo de cáncer de mama, en esta condición existen altos niveles de estrógenos circulantes y de manera local en el tejido mamario, sumado a niveles elevados de adipocinas que en conjunto desencadenan efectos inflamatorios sistémicos y locales.

Aumenta el riesgo en aproximadamente un 50% en mujeres posmenopáusicas. El exceso de tejido adiposo causa un aumento en la producción y el tiempo de exposición a hormonas esteroides. El tejido adiposo es la principal fuente de estrógenos del cuerpo después de la menopausia, cuando los ovarios dejan de producir la hormona (Juárez *et al.*, 2018).

c) Grupo étnico

Las mujeres blancas son ligeramente más propensas a desarrollar cáncer de mama que las mujeres afroamericanas. Las mujeres asiáticas, hispanas y nativas americanas tienen un menor riesgo de desarrollar y morir de cáncer de mama.

Aunque hay mayor prevalencia en ciertos grupos de padecer cáncer de mama, como en los judíos. Struewing *et al.* encontraron que 1 de cada 50 mujeres judías son portadoras de la mutación BRCA 1 y BRCA2, correspondiendo al 25% del cáncer de mama de inicio temprano y al 90% de los cánceres familiares de mama. (Struewing *et al.*, 1997)

d) Consumo de alcohol

El alcohol es el único factor de riesgo nutricional establecido para cáncer de mama. Este riesgo aumenta en aproximadamente un 7% para un consumo promedio de una bebida alcohólica por día. Causa un aumento en la concentración de las hormonas en el suero y un aumento en la producción de los

factores de crecimiento IGF (factor de crecimiento similar a la insulina). Los IGF actúan como mitógenos, inhiben la apoptosis e interactúan con el estrógeno. El aumento de la producción de IGF aumenta el riesgo cáncer de mama, especialmente antes de la menopausia (American Cancer Society, 2019).

e) **Consumo de tabaco**

El tabaco es un factor ambiental que se ha asociado al riesgo de padecer cáncer. Gaudet *et al.* (2013) realizaron un estudio donde apoyan la hipótesis de que el tabaquismo activo está asociado con un mayor riesgo de cáncer de mama en mujeres que comienzan a fumar antes del primer embarazo, especialmente en aquellas de edad temprana, y sugieren que fumar podría desempeñar una función específica en la iniciación del cáncer de mama.

2.2 Epidemiología

El cáncer de mama es una grave amenaza a nivel mundial para la salud de las mujeres. Es una de las enfermedades que no hace distinción entre la población de países desarrollados y en desarrollo. Ocupa el primer lugar en incidencia de las neoplasias malignas en las mujeres, representando el 16%. La incidencia varía mucho en todo el mundo, con tasas normalizadas por edad de hasta 99.4 por 100,000 mujeres. En América del Norte, Europa Oriental, América del Sur, África Austral y Asia Occidental se presentan incidencias moderadas, pero en aumento; la incidencia más baja se da en la mayoría de los países africanos aunque también se observa un incremento (WHO, 2019).

Las tasas de supervivencia del cáncer mamario varían mucho en todo el mundo, desde el 80% o más en América del Norte, Suecia y Japón, pasando por un 60% aproximadamente en los países de ingresos medios, hasta cifras inferiores al 40% en los países de ingresos bajos. Las bajas tasas de supervivencia observadas en los países poco desarrollados pueden explicarse principalmente por la falta de programas de detección precoz, pero también por la falta de servicios adecuados de diagnóstico y tratamiento (WHO, 2019).

En México se muestran datos donde el cáncer de mama ocasiona más muertes que otros tipos de cáncer desde 2006: es la principal causa de muerte

entre las mujeres de 30 a 54 años de edad y afecta a todos los grupos socioeconómicos. Los datos sobre su detección muestran 6,000 casos nuevos en 1990 y un aumento previsto en más de 16,500 al año para el 2020. Más aún, la mayoría de los casos son autodetectados y sólo el 10% de todos los casos se detectan en la primera etapa. Los sistemas de seguridad social de México cubren aproximadamente entre el 40 y el 45% de la población, e incluyen tratamiento para el cáncer de mama. Desde 2007, el resto de la población tiene derecho a recibir tratamiento para el cáncer de mama mediante el Seguro de Salud Popular. Pese a estos derechos, los servicios son escasos y las intervenciones para la detección temprana, particularmente la mamografía, son muy limitadas. Desde 2006 sólo el 22% de las mujeres de 40 a 69 años informaron haber tenido una mamografía en el último año (Knaul *et al.*, 2008).

Se estima que en México existen anualmente 27,283 casos nuevos de cáncer de mama, representando un 26% de todos los cánceres femeninos de todas las edades, y tiene un promedio anual de 6,884 muertes por cáncer de mama, siendo una de las principales causas de muerte en mujeres (GLOBOCAN, 2019).

El INEGI reporta para el periodo 2013-2018 un total de 6,854 defunciones en México, donde tres grupos de edad concentran el mayor número de muertes: el de 65 y más años con 2,410 casos (35.2%), el de 55 a 64 años con 1,753 casos (25.6%) y el de 45 a 54 con 1,638 casos (23.9%) (INEGI, 2018).

2.3 Diagnóstico y estadificación del cáncer de mama

Acorde a la NOM-041-SSA-2011 “Para la prevención, diagnóstico, tratamiento, control y vigilancia epidemiológica del cáncer de mama”, la detección se realiza en mujeres a partir de los 25 años con exploración clínica de mama y mastografía cada dos años en mujeres entre 40 y 69 años (Secretaría de Salud, 2011). Las mujeres con resultado anormal en la mastografía o la exploración clínica deben referirse a evaluación diagnóstica para la confirmación histopatológica y, posteriormente, a tratamiento oncológico para los casos positivos a cáncer. Es importante hacer notar que el reporte de resultados de la mastografía en México

se realiza con el sistema del Colegio Americano de Radiología denominado BIRADS (del inglés *Breast Imaging Report and Database System*), mismo que se resume en la Tabla 1 (Secretaria de Salud, 2011).

La estadificación del cáncer de mama se realiza según la clasificación AJCC (American Joint Committee on Cancer). Esta clasificación se basa en las características clínicas y patológicas del sistema TNM: la T se refiere al tumor primario, la N a la afectación de los ganglios linfáticos y M a la presencia de metástasis. La clasificación de los tumores mamarios, sus nódulos y metástasis de acuerdo a la NOM-041-SSA2-2011 se presenta en la Tabla 2 (Secretaria de Salud, 2011).

La agrupación por estadios en función de la extensión del tumor es importante porque permite la elección del tratamiento más adecuado, estima el pronóstico individual y compara los resultados de diferentes programas de tratamiento.

Tabla 1. Clasificación de BIRADS: American College of Radiology (ACR).

Categoría	Evaluación	Recomendaciones
0	Se refiere al estudio que es insuficiente o técnicamente deficiente, por lo que se necesitan además de la exploración clínica, pruebas adicionales como ultrasonido o nuevas imágenes por mastografía, si se cuenta con estudios previos deberán valorarse comparativamente.	Tras la evaluación de los estudios complementarios, será catalogada de manera definitiva como BIRADS del 1 al 5.
1	Negativo. Corresponde a la mastografía normal. Se observan mamas simétricas, sin nódulos, sin distorsiones ni calcificaciones sospechosas.	Se recomienda control cada 2 años.
2	Resultado con lesiones claramente benignas.	Se recomienda control cada 2 años.
3	Resultado con lesión probablemente benigna. Menos del 2% de probabilidad de malignidad. Según indicación médica se solicitarán estudios complementarios (examen clínico, ultrasonido o nuevas imágenes por mastografía) o incluso biopsia.	Puede sugerirse tomar biopsia, Se debe dar seguimiento cada 6 meses.
4	Resultado anormal, sospechoso a malignidad, se trata del hallazgo que no tiene el aspecto típico de malignidad, pero la probabilidad de malignidad es lo suficientemente alta para realizar biopsia y confirmar o descartar la sospecha. Se subdivide en:	Requiere biopsia. Si la biopsia es negativa se deberá realizar seguimiento a los 6 meses.

	4a. Baja sospecha de malignidad (>2 a ≤ 10%) 4b. Sospecha intermedia de malignidad (>10 a ≤ 50%) 4c. Alta sospecha de malignidad (>50 a < 95%)	
5	Resultado anormal, con más del 95% de probabilidad de malignidad, se observa una lesión con características claramente malignas y se requiere realizar una biopsia para confirmar el diagnóstico.	Requiere biopsia.
6	Con diagnóstico histológico de malignidad.	Confirmación de la presencia de cáncer antes de que comience el tratamiento.

Tabla 2. Sistema de estadificación TNM.

Estadio	Tamaño del tumor	Ganglio linfático	Metástasis
0	Tis	N0	M0
I	T1*	N0	M0
IIA	T0	N1	M0
	T1*	N1	M0
	T2	N0	M0
IIB	T2	N1	M0
	T3	N0	M0
IIIA	T0	N2	M0
	T1*	N2	M0
	T2	N2	M0
	T3	N1	M0
	T3	N2	M0
IIIB	T4	N0	M0
	T4	N1	M0
	T4	N2	M0
IIIC	Cualquier T	N3	M0
IV	Cualquier T	Cualquier N	M1
T: Tumor primario			
T0: No hay evidencia de tumor primario			
Tis: Carcinoma <i>in situ</i>			
T1: Tumor de 2.0 cm o menos en su mayor dimensión			
T2: Tumor de más de 2.0 cm pero no más de 5.0 cm en su mayor dimensión			
T3: Tumor mide más de 5.0 cm en su mayor dimensión			

T4: Tumor de cualquier tamaño con extensión directa a la pared torácica o la piel
N: Ganglios linfáticos regionales
N0: No hay metástasis
N1: Metástasis a ganglio o ganglios linfáticos axilares ipsilaterales móviles
N2: Metástasis a ganglio o ganglios linfáticos ipsilaterales unidos entre sí o a otras estructuras
N3: Metástasis a ganglio o ganglios linfáticos mamarios internos ipsilaterales
M: Metástasis distante
M0: No hay metástasis distante
M1: Presencia de metástasis distante

T1* incluye T1 mic [microinvasión (0.1 cm)]

2.4 Tratamiento

El tratamiento del cáncer de mama es complejo y se sugiere la participación de un equipo multidisciplinario, que incluya servicios como: oncología quirúrgica, oncología médica y radio-oncología. Esto con la finalidad de ofrecer a los pacientes un tratamiento óptimo en base al diagnóstico en etapas tempranas. A continuación se mencionan los diferentes tipos de tratamiento de acuerdo con la Guía de Práctica Clínica: Tratamiento del cáncer de mama en segundo y tercer nivel de atención (Secretaría de Salud, 2017):

Quirúrgico

Existen procedimientos quirúrgicos establecidos para cáncer de mama:

- Cirugía conservadora, que incluye la extirpación tumoral con un margen de tejido normal con la preservación de la mama.
Como la tumorectomía (extirpación solo del tumor); cuadrantectomía (extirpación del cuadrante mamario donde se localiza el tumor). Se recomienda un margen quirúrgico de la lesión mayor a 2 mm y hasta 10 mm para evitar recurrencia. Este procedimiento se realiza en casos donde el tumor está localizado regionalmente, en el carcinoma ductal *in situ* es la opción primaria de tratamiento más radioterapia.
- Mastectomía radical, es la extirpación de la mama y los ganglios linfáticos afectados. Todos los casos de carcinoma mamario invasor.

Quimioterapia

Es una técnica terapéutica que emplea agentes antineoplásicos para destruir células neoplásicas, cuyo mecanismo de acción principal es inhibir la síntesis de ADN (American Cancer Society, 2019). Hay dos tipos de quimioterapia (Instituto Mexicano de Seguro Social, 2017):

- Adyuvante, se administra generalmente después de un tratamiento principal como es la cirugía. Para disminuir la incidencia de diseminación a distancia y una posible recurrencia.
- Neoadyuvante, se inicia antes que cualquier tratamiento quirúrgico o de radioterapia con la finalidad de evaluar la efectividad in vivo del tratamiento. Disminuye el estadio tumoral, debe ser considerada en mujeres con cánceres cuyo tumor primario abarca los estadios IIB a IIIC, ya que mejora el índice de conservación mamaria y no va en detrimento a la sobrevida.

Radioterapia

Es una técnica que utiliza partículas u ondas de alta energía, actuando directamente sobre el ADN. Útil en casos donde el tumor es localizado.

El tratamiento adyuvante con radioterapia se determina con base en el índice pronóstico de Van Nuys, modificado en 2003, que incluye las variables: tamaño tumoral, margen tumoral, clasificación histopatológica, edad de la paciente y riesgo mediano de recaída local.

Después de una cirugía conservadora para cáncer ductal *in situ* disminuye el riesgo de recurrencia local, con similar sobrevida comparada con la mastectomía. El riesgo de recaída local se clasifica de acuerdo a índice pronóstico de Van Nuys en:

- Riesgo bajo: Tumor menor de 10 mm, grado nuclear intermedio bajo, márgenes quirúrgicos adecuados.
- Riesgo mediano: Puntuación con índice de 7, 8 y 9.
- Riesgo alto: Puntuación con índice de 10, 11, 12, tumores de alto grado o comedonecrosis, márgenes positivos y pacientes jóvenes (menores de 50 años).

Los factores que determinan el riesgo de recurrencia local son: tumor palpable, tumor voluminoso, alto grado, márgenes positivos o estrechos y edad menor de 50 años. Si la paciente y el médico tratante determinan que el riesgo de recurrencia es bajo, podría tratarse sólo con escisión local (Instituto Mexicano de Seguro Social, 2017).

Terapia endocrina (TE)

Se usa a menudo después de la cirugía (como terapia adyuvante) para ayudar a reducir el riesgo de que regrese el cáncer; a veces se inicia antes de la cirugía (como terapia neoadyuvante). Por lo general se administra al menos de 5 a 10 años. La elección del tipo de terapia endocrina depende, principalmente, de los siguientes factores: estado menopáusico, uso y respuesta a terapias previas, tiempo libre de enfermedad, toxicidad esperada y biología del tumor. Las opciones actuales de terapia endocrina se describen en la Tabla 3 (Sánchez *et al.*, 2018).

Tabla 3. Tipos de terapia endocrina en uso clínico.

Terapia endocrina	Mecanismo de acción	Ejemplo
MSRE (moduladores selectivos del receptor de estrógenos)	Unión al RE en epitelio mamario, inhibe acción de estrógenos, en epitelio uterino la estimula	Tamoxifeno, Raloxifeno, Toremifeno
DRE (reguladores negativos del receptor de estrógenos)	Unión, bloqueo y degradación del RE, no tiene actividad agonista. Mayor afinidad por RE que tamoxifeno	Fulvestrant
Inhibidores de aromatasa	Inhibición de la síntesis de estrógenos a partir de andrógenos	Anastrozol, Letrozol, Exemestane
Supresión de la función ovárica	Cirugía: ooforectomía Actínica: RT ovárica Agonistas de hormona liberadora de la hormona luteinizante (LHRH) (también llamados <i>análogos de LHRH</i> o <i>agonistas de GnRH</i>): desensibilizan la hipófisis y disminuyen la expresión del receptor, por tanto inhibiendo la liberación de gonadotropina	Goserelin Triptorelina

La resistencia a la terapia endocrina se clasifica como:

- Resistencia *de novo*: un paciente con enfermedad metastásica resistente al tratamiento (progresión antes de 6 meses de la TE) o con recurrencia precoz

después de terminar la TE adyuvante (antes de 1-2 años del término de la TE adyuvante o intratratamiento).

- Resistencia adquirida o secundaria: aquella que se manifiesta como recurrencia del cáncer de mama después de los 2 primeros años de la TE adyuvante, o como la progresión de la enfermedad más de 6 meses después de la iniciación de la TE en cáncer de mama avanzado.

Estas definiciones, aunque imperfectas y arbitrarias, han sido útiles en algunos ensayos clínicos para estratificar a pacientes y definir tipos de tratamiento.

En estudios clínicos recientes, los criterios de inclusión han sido diferentes a estas definiciones, clasificando a pacientes como aquellos con recaída antes o después del año. La evidencia preclínica sugiere que mecanismos de resistencia a la TE (Fig. 2) como la vía PI3K/AKT/mTOR, alteraciones en la maquinaria del ciclo celular y la activación cruzada entre los receptores hormonales y la señalización de receptores de factores de crecimiento, entre otros, participarían en la resistencia a la TE (Sánchez *et al.*, 2018).

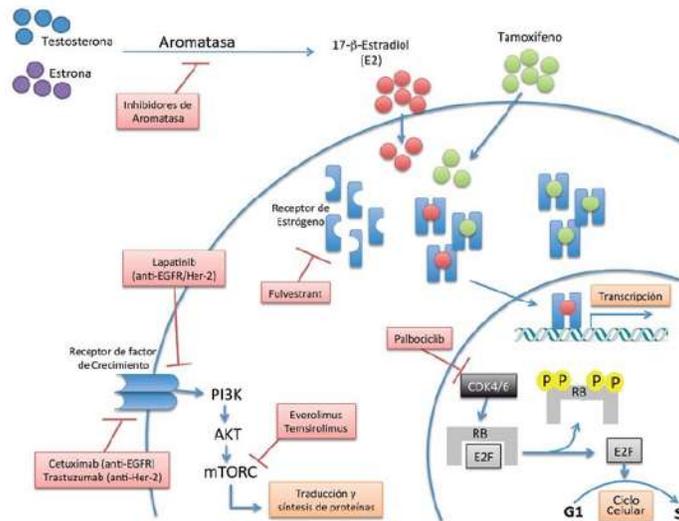


Figura 2. Diferentes vías de señalización involucradas en la TE. (Sánchez *et al.*, 2018).

En la actualidad, surgen las terapias dirigidas siendo la base de la medicina de precisión. Se trata de un tratamiento que utiliza fármacos que, a diferencia de la quimioterapia, actúa de manera selectiva sobre los genes específicos del cáncer, las proteínas o el entorno del tejido que contribuyen al crecimiento y la

sobrevivencia del cáncer. Se ha descubierto que en ciertos tipos de cáncer se producen cambios específicos en ciertos genes; al reunir más conocimientos acerca de estos cambios, han desarrollado fármacos que actúen sobre dichos cambios para bloquear y/o desactivar las señales que indican a las células cancerosas que crezcan y se dividan, y destruir las células cancerosas. Existen varios tipos de terapia dirigida como los resumidos en la Tabla 4 (ASCO, 2018).

Tabla 4. Algunos tipos de terapia dirigida.

Terapias dirigidas	Ejemplo de fármacos	Mecanismo de acción
Inhibidores de transducción de señales	Abemaciclib (Verzenio™) Lapatinib (Tykerb®)	Inhibidor de la CDK Inhibidor de la tirosina cinasa, EGFR y HER2
Moduladores de la expresión de genes	Fulvestrant (Faslodex®)	Disminuye la regulación del receptor de estrógeno
Inductores de la apoptosis	Everolimus (Afinitor®) Telcyta	Inhibidor de mTOR Inhibidores de la glutatión S-transferasa
Inhibidores de la angiogénesis	Axitinib (Inlyta) Bevacizumab (Avastin) Cabozantinib (Cometriq)	Inhibición de nuevos vasos sanguíneos
Inmunoterapias	Atezolizumab (Tecentriq®)	Inhibidor de puntos de control inmunitario (anti-PD-L1 o anti-PD-1)

Es útil saber cómo se desarrollan las células cancerosas para comprender mejor cómo funciona la terapia dirigida. Las células constituyen cada uno de los tejidos del cuerpo, cada tipo celular tiene una función específica, los genes indican a las células como producir proteínas que mantienen a la célula funcionando. Si los genes cambian, estas proteínas también. Estos provocan que las células se desarrollen de manera anormal, sin control, hasta la posibilidad de formar un tumor.

De manera que, si se puede precisar el crecimiento neoplásico, será de gran utilidad para acertar en una terapia más dirigida para cada caso.

2.5 Ciclo celular

El ciclo celular es una secuencia de procesos que culmina en la división celular. Implica dos fases: interfase y mitosis.

La interfase es el lapso más prolongado del ciclo celular, comprende las fases G1 (G de Gap), S y G2. Durante la fase G1 hay una síntesis de ARN y proteínas, en la fase S ocurre la replicación de ADN, además se sintetizan algunas proteínas como las histonas. Una vez finalizada la replicación, la célula entra en la fase G2 donde se sintetizan los compuestos necesarios para la división y se inicia la condensación gradual de la cromatina (Ruíz Herrera, 2007).

La mitosis es el periodo más corto del ciclo celular, donde tiene lugar la cariocinesis, es decir, la división nuclear y la citocinesis; culminando en la división de la célula en dos células hijas idénticas. Esta fase se divide en cuatro etapas (Rhind y Russell, 2012):

1. Profase, en la cual el huso comienza a ensamblarse en el citoplasma y los cromosomas comienzan a condensarse en el núcleo.
2. Metafase, en la cual los cromosomas se alinean en la zona media del huso.
3. Anafase A, en la cual los cromosomas se mueven a los centrosomas, que forman los polos del huso; anafase B, en la cual el huso se alarga.
4. Telofase, en la cual la envoltura nuclear se reforma alrededor de los nuevos núcleos hijos. Las señales durante la telofase desencadenan la citocinesis; la membrana nuclear separa el citoplasma en dos partes, cada una con un núcleo y la mitad de los orgánulos, formando dos células hijas.

Adicional a estas fases, está la fase G0 donde la célula no está activamente en el ciclo celular, es decir, se encuentra en reposo. Las células pueden pasar a G1 desde la reserva de células en fase G0, o bien tras completar una tanda de mitosis, como sucede en aquellas que se replican continuamente (Kumar *et al.*, 2015) (Fig. 3).

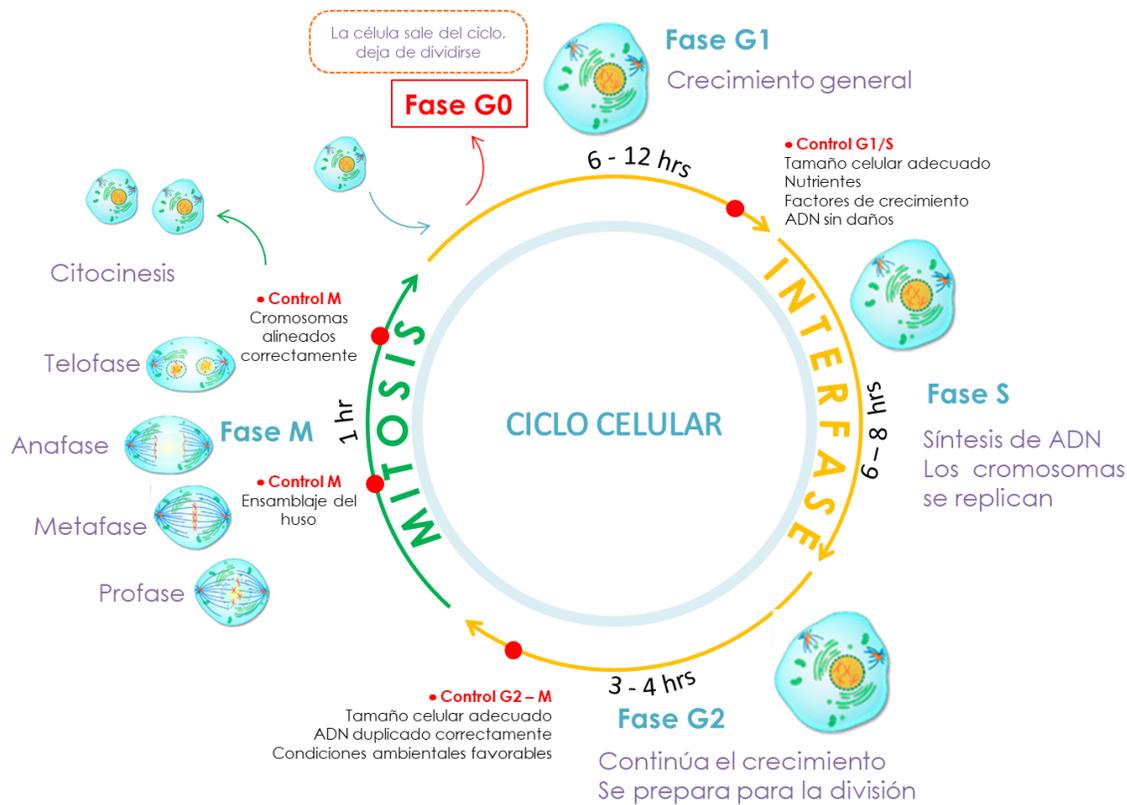


Figura 3. Ciclo celular

La progresión del ciclo celular está determinada por puntos de control que detectan imperfecciones funcionales, como el daño en el ADN o los cromosomas; de ser posible se repara la imperfección y si no, la célula se suicida abriendo programas de muerte celular. La progresión en el ciclo celular también está mediada por proteínas denominadas ciclinas, así nombradas por la naturaleza cíclica de su producción y degradación, y por enzimas asociadas a estas ciclinas, llamadas cinasas dependientes de ciclinas (CDK). Las CDKs tienen actividad cinasa que depende de su acomplejamiento con la ciclina (complejo ciclina-CDK). También participan en el control de la progresión del ciclo celular los inhibidores de CDK (CDKI). Existen distintos CDKI, entre los que destacan una familia proteica compuesta por tres miembros, llamadas p21 (CDKN1A), p27 (CDKN1B) y p57 (CDKN1C) y que inhiben múltiples CDK; y otra familia compuesta por las proteínas p15 (CDKN2B), p16 (CDKN2A), p18 (CDKN2C) y p19 (CDKN2D) (Kumar *et al.*, 2015), que inhiben a CDK4 y CDK6.

Los principales puntos de control son cuatro (Fig. 4) (Kumar *et al.*, 2015; Rhind y Russell, 2012; Ruíz Herrera, 2007):

El primer punto de control es la transición G1/S, y responde tanto a condiciones ambientales (nutrientes, temperatura, etc.), como a señales internas de crecimiento celular (factores de crecimiento). Este punto es regulado por los complejos de ciclina D/CDK4, ciclina D/CDK6 y ciclina E/CDK2 que fosforilan la proteína retinoblastoma (pRb). El estado de fosforilación de esta proteína es el evento clave para pasar este punto de control. Hipofosforilada se une al factor transcripcional E2F, que es requerido para la expresión de genes que codifican para proteínas involucradas en la síntesis de ADN, entre otras biomoléculas, y lo reprime, evitando así la transición de fase G1/S. En contraste, una pRB hiperfosforilada se disocia del factor E2F, liberándolo y activando así la transcripción de genes controlada por él.

El segundo punto de control es la transición G2/M, se regula por el estado de fosforilación del complejo ciclina B/CDK1. La fosforilación es catalizada por la familia Wee1 de cinasas de doble especificidad que fosforilan a CDK1 en un residuo de tirosina (Y15) y en el residuo de treonina adyacente (T14), una vez que CDK1 se une a una ciclina. Estas fosforilaciones inhiben la actividad de la cinasa CDK1 al interferir con la unión del sustrato. El fosfato es eliminado a su vez, por las fosfatasas Cdc25. El daño del ADN y los puntos de control de replicación desactivan a Cdc25; la morfogénesis y los puntos de control nutricionales activan a Wee1. CDK1 regula su propia activación como parte de un circuito de retroalimentación al fosforilar directamente a Wee1 y Cdc25, o al hacerlo indirectamente a través de Plk1 (cinasa polo-como 1).

El tercer punto de control es la transición metafase / anafase durante la fase mitótica, y es regulado por el complejo promotor de la anafase (APC, una ubiquitina ligasa E3). Para establecer la metafase, CDK1 fosforila directa e indirectamente a través de una red de cinasas que incluye Plk1 y Aurora A, a sustratos que desencadenan la descomposición de la envoltura nuclear, la condensación de cromosomas, la separación de centrosomas y el ensamblaje del huso. El paso limitante para la transición de metafase a anafase es la activación

de la ubiquitina ligasa APC. El APC se activa mediante la unión de la subunidad reguladora Cdc20 y por la fosforilación de CDK1. El APC activo destruye a la securina, activando así la separasa que libera la cohesión de las cromátidas, desencadenando la anafase.

El cuarto punto de control posibilita a la célula iniciar un nuevo ciclo de división. Cerca del final de la mitosis, Cdc20/FZ es degradada y un factor de especificidad alternativo, Cdh1/FZR (Cdh1/ proteína relacionada a Fizzy), toma el control de la selección del sustrato de APC. Cuando Cdh1/FZR se une con APC, el complejo APC^{Cdh1} poliubiquitina las ciclinas mitóticas, las cuales son degradadas por el proteosoma 26S y la célula puede proseguir hacia la telofase y la citocinesis.

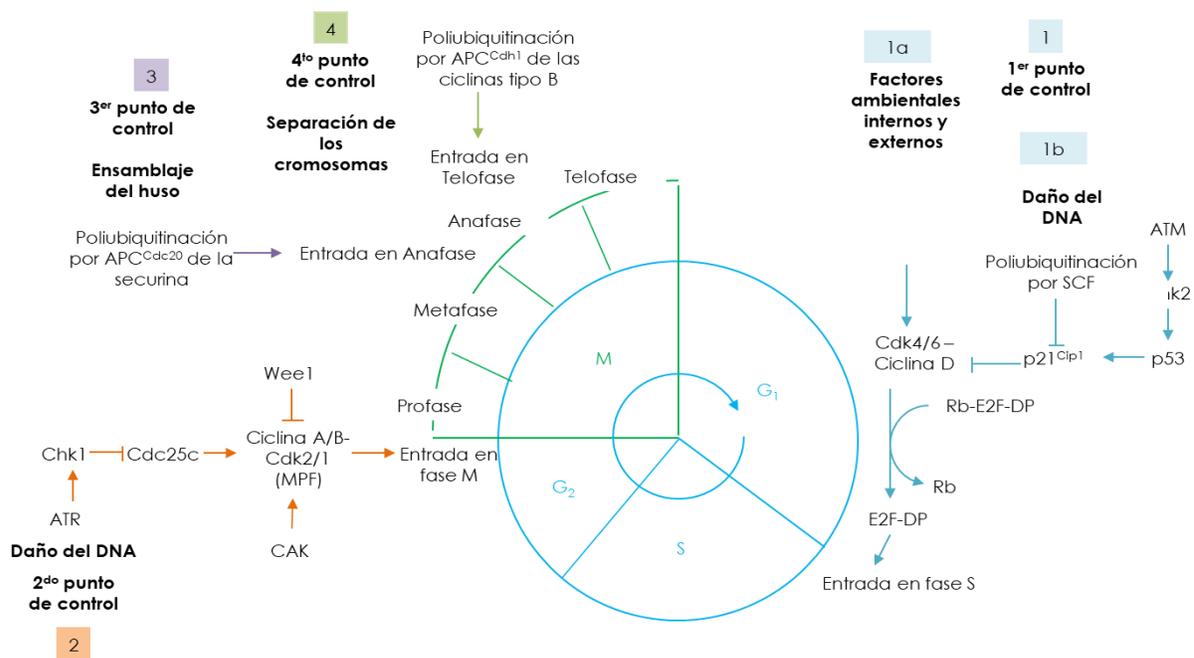


Figura 4. Puntos de control del ciclo celular. (Ruíz Herrera, 2007)

2.6 La proliferación celular y el cáncer: Ki67

La proliferación celular es una característica importante en el cáncer de mama, utilizado para el pronóstico, la predicción de la respuesta al tratamiento, o ambos (Penault-Llorca y Radosevic-Robin, 2017). Consiste en cuán rápidamente una

célula cancerosa duplica su ADN y se divide en dos células hijas. Si las células cancerosas se están dividiendo más rápidamente, esto significa que el crecimiento del tumor es cada vez mayor o más agresivo (American Cancer Society, 2019). Así, la proliferación celular es un determinante importante de las características biológicas del cáncer de mama: se encontró que existe una fuerte correlación entre el estado Ki67 y el grado histológico del cáncer (Spyratos *et al.*, 2002).

Ki67 es una proteína nuclear no histónica que está asociada con la proliferación celular y fue originalmente identificada por Gerdes a principios de la década de 1980, usando un anticuerpo monoclonal de ratón dirigido contra un antígeno nuclear de una línea celular descendiente de linfoma de Hodgkin (Gerdes *et al.*, 1983).

La expresión de la proteína Ki67 humana está estrictamente asociada con la proliferación celular. Se examinó su distribución en el nucleolo durante la interfase, donde se observaron dos patrones diferentes. EL patrón tipo I (nucleoplásmico, moteado) está restringido a células en G1, mientras que el patrón tipo II (nucleolar) es predominante y se presenta en fase S. Así mismo, su localización relativa dentro de la compartimentación nucleolar presenta 3 dominios nucleolares: componente granular (GC), centros fibrilares (FC) y componente denso fibrilar (DFC), en este último se localiza Ki67 (Kill, 1996), mientras que, en la mitosis, la mayor parte de la proteína se reubica a la superficie de los cromosomas (Starborg *et al.*, 1996). El hecho de que la proteína Ki67 esté presente durante todas las fases activas del ciclo celular (G1, S, G2 y mitosis), pero que no esté presente en las células en reposo (G0), la hace un excelente marcador para determinar la llamada fracción de crecimiento de una población celular dada (Scholzen y Gerdes, 2000).

Las concentraciones de la proteína Ki67 no son binarias porque Ki67 se degrada continuamente durante G0 y G1, y se produce de forma continua desde el inicio de la fase S hasta que la salida de mitosis (Miller *et al.*, 2018).

Un metanálisis de 12,155 pacientes mostró que la positividad de Ki67 denota un mayor riesgo de recurrencia y un peor pronóstico en pacientes con cáncer de mama temprano; sin embargo, éste sólo evaluó el valor pronóstico y no

pudo confirmar que es un factor pronóstico independiente (De Azambuja *et al.*, 2007).

Ki67 es un factor de pronóstico en pacientes con cáncer de mama en un entorno de rutina. En cuanto a su función predictiva, cuanto más agresivo es el tumor, mayor es el porcentaje de células teñidas positivamente para Ki67. Sin embargo, su aplicabilidad es limitada: no se encontró evidencia sólida de que Ki67 pueda servir como una herramienta para identificar a los pacientes que se beneficiarían de una quimioterapia específica o un tratamiento endocrino (Inwald *et al.*, 2013).

Nishimura *et al.* (2014) demostraron que el valor inicial del índice Ki67 en el tumor primario fue un factor pronóstico útil después de la recurrencia del cáncer de mama. Diciendo que el valor del índice Ki67 proporciona datos importantes asociados con el tiempo de recurrencia y el sitio de recurrencia que son cruciales para diseñar un plan de tratamiento adecuado para los pacientes y para una predicción precisa del pronóstico.

Petrelli *et al.* (2015) reportaron que el alto nivel de expresión inmunohistoquímica de Ki67 se asocia con un mayor riesgo de recurrencia (64% de mayor riesgo) y que el marcador proliferativo Ki67 tiene un valor pronóstico independiente a la supervivencia global. En las células del cáncer de mama, el porcentaje de expresión aumenta con el aumento del tamaño del tumor, el grado, la premenopausia, el receptor de progesterona (PR) negativo, los ganglios linfáticos positivos y los tumores con estrógenos negativos en términos de supervivencia y recaída en pacientes con cáncer de mama en etapa temprana y deben ser evaluados de forma rutinaria por patólogos.

El punto de cohorte óptimo para el índice proliferativo de Ki67 aún no se ha estandarizado y la dificultad que surge para elegir un umbral estándar en la práctica clínica. Varios autores establecieron en sus estudios un punto de cohorte del 20%, encontraron una correlación significativa del índice proliferativo con el pronóstico, la supervivencia y la recurrencia (Nishimura *et al.*, 2010; Reyal *et al.*, 2013; Ibrahim *et al.*, 2013; Nishimura *et al.*, 2014; Honma *et al.*, 2015).

El valor pronóstico del índice Ki67 se ha establecido en numerosas publicaciones. A pesar de ello, es evidente que la estimación de la fracción de crecimiento por sí solo no es suficiente para describir el crecimiento del tumor. Por ejemplo, la fracción de crecimiento (y el índice de marcaje Ki67) se refiere únicamente al número (o fracción) de células proliferativas pero no al tiempo necesario para la finalización de un ciclo de división celular. En otras palabras, la estimación de la fracción de crecimiento da información solamente sobre el estado, pero no sobre la tasa o velocidad de proliferación; por lo tanto, un marcador adicional sería útil para evaluar este parámetro. En el futuro, el análisis multiparamétrico puede proporcionar un mejor medio de análisis de la proliferación celular y el crecimiento tumoral. Esto no sólo puede mejorar el valor pronóstico, pero también puede ser un requisito previo para elegir el tipo adecuado de la terapia para cada caso individual (Scholzen y Gerdes, 2000).

2.7 La traducción y el cáncer: eIF3

Otro factor que desempeña una función importante en el desarrollo del cáncer es la traducción desregulada. Se ha reportado que la regulación anormal de la expresión génica es esencial para la tumorigénesis. En particular, varios estudios indican que la regulación de la expresión de oncogenes y de la transformación neoplásica están controladas por las subunidades de los factores de iniciación de la traducción eucariótica (eIFs). El proceso de traducción se divide en: iniciación, elongación y terminación. La traducción se regula sobre todo en la fase de iniciación, en donde el factor de iniciación eucariótico 3 (eIF3) tiene una función central en la iniciación de la traducción (Wen *et al.*, 2012).

eIF3 es el factor de iniciación de mamíferos más grande (800 kDa) y más complejo; en humanos está formado por 13 polipéptidos no idénticos, designados como eIF3a-m (Querol *et al.*, 2016)(Fig. 5).

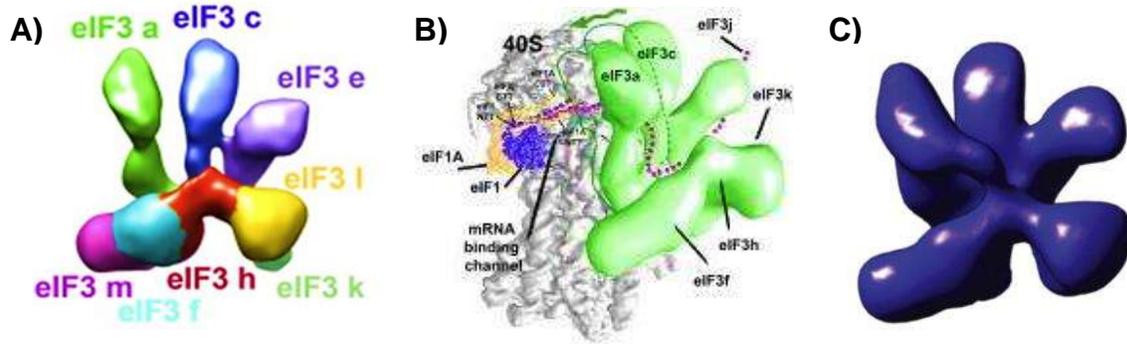


Figura 5. Modelado de eIF3. A) Subunidades del modelo humano de eIF3 B) Modelo tridimensional de eIF3 acoplado a la subunidad menor 40S (Querol *et al.*, 2013). C) Estructura de la eIF3 humano, determinada por cryo-EM a 30 Å de resolución (Hershey, 2014).

eIF3f es miembro de la familia génica Mov34, los miembros de esta familia contienen un motivo N-terminal (MPN) de Mpr1/Pad, cuyos miembros involucrados en procesos de iniciación de la traducción, transcripción y regulación del proteosoma (Aravind y Ponting, 1998). Varias funciones se han atribuido al complejo eIF3, incluyendo la interacción y la estabilización del complejo ternario eIF2-GTP-Met-tRNA_i para su unión a la subunidad ribosomal 40S, facilitando la posterior unión del ARNm a la subunidad ribosomal 40S y, en la terminación de la traducción, promoviendo la disociación de las subunidades ribosomales 40S y 60S (Marchione *et al.*, 2013). Varios cánceres humanos presentan expresión aberrante de las distintas subunidades de eIF3.

2.8 eIF3f

Se ha reportado que concentraciones reducidas de eIF3f correlacionan con el estado maligno en diferentes tipos de cáncer. Shi *et al.*, (2006) utilizaron el cDNA de eIF3f como sonda de una matriz de perfiles de cáncer que contenía 154 pares de cDNA normalizados de tumor y tejidos normales. En varios tumores los niveles de transcripción de eIF3f mostraron una disminución sustancial. En particular, el 100% de los tumores de páncreas y vulva, el 90% de los tumores de mama y el 70% de los tumores de ovario e intestino delgado presentes en la matriz mostraron una disminución significativa de la expresión de eIF3f. El estudio con melanomas y células tumorales pancreáticas muestra una alta frecuencia en la pérdida de

heterocigosidad para el gen eIF3f, lo que probablemente explique los niveles más bajos de ARNm y proteínas (Querol et al., 2013; Hershey, 2014).

Doldan *et al.* (2008a) analizaron la disminución de la proteína eIF3f en tejidos de melanoma. Utilizaron muestras de 9 melanomas, 9 benignos y 10 tejidos de piel normales para el análisis inmunohistoquímico de la expresión de la proteína eIF3f con un anticuerpo específico a éste. La puntuación media de la expresión de la proteína eIF3f se redujo significativamente en los tejidos de melanoma en comparación con los tejidos benignos y los tejidos normales de la piel. Confirmaron la disminución significativa de eIF3f en los tejidos del melanoma humano y ninguna diferencia significativa en la expresión de la proteína eIF3f entre la piel normal y los tejidos benignos.

Doldan *et al.* (2008b) usaron una micro-matriz de tejido de cáncer de páncreas para el análisis inmunohistoquímico de la expresión de la proteína eIF3f. La puntuación media de la expresión de la proteína eIF3f disminuyó significativamente en tejidos de cáncer pancreático bien diferenciado y moderadamente diferenciado en comparación con el páncreas normal adyacente. En adenocarcinoma poco diferenciado, la expresión de eIF3f es más baja que en páncreas normal, pero no es estadísticamente significativa.

Csibi *et al.* (2010) y Sanchez *et al.* (2013) reportaron que un motivo TOS conservado en eIF3f conecta el complejo mTOR/Raptor lo que promueve la fosforilación de S6k1 y regula los efectores posteriores de mTOR y la iniciación dependiente de Cap. Por lo que eIF3f tiene una función para la activación adecuada de mTORC1 para regular el tamaño del músculo esquelético. También MAFbx/atrogin-1 interactúa con el dominio Mov34 de eIF3f y promueve su ubiquitinación dando como resultado la degradación mediada por proteasoma, lo que con lleva a una atrofia muscular.

Cheng *et al.* (2014) realizaron un estudio de inmunohistoquímica en cáncer gástrico, comparando la expresión en el tejido neoplásico y tejido adyacente no neoplásico reportando una tasa de expresión de 33.8 y 59.5 % respectivamente, también encontraron una asociación con estados tumorales más avanzados.

Guanghua Li *et al.* (2014) examinaron 195 muestras de gastrectomía, de los cuales había tejidos con cáncer gástrico en estadio I a III y tejido adyacentes no neoplásicos. Reportaron una disminución de eIF3f en tejido neoplásico, los cuales se correlacionaron con estadios tumorales más avanzados y la probabilidad de recurrencias.

Esteves *et al.*, 2019 analizaron la sobreexpresión de eIF3f en cáncer de pulmón. Demostraron que promueve la metástasis celular *in vivo*, donde se involucran mecanismos moleculares de un grupo de 34 genes promotores de metástasis, incluido Snail2. También evaluaron la interacción entre eIF3f y STAT3, así como su rol en el metabolismo energético a través de la activación de la proteína cinasa activada por AMP y la estimulación de la fosforilación oxidativa cuando eIF3f está sobreexpresado. Sus hallazgos sugieren que eIF3f tiene una función en el control molecular, migración, bioenergética y metástasis.

Higareda Mendoza y Pardo Galván (2010) reportaron que esta proteína es esencial para la viabilidad celular y para mantener activo el ciclo celular. Asimismo, determinaron las concentraciones relativas de eIF3f en las diferentes fases del ciclo celular (Fig. 6), expresándose en todo el ciclo: con un perfil de expresión bifásico presentando expresión máxima en la fase G2/M, seguida de una menor expresión en la fase S y un mínimo de expresión en el resto de las fases G0-G1. El perfil de expresión fue corroborado mediante estudios de cultivos asincrónicos y sincronizados en G0 (inanición de suero), S (adición de hidroxurea) y M (adición de nocodazol). Demuestran que tanto la sobreexpresión y el silenciamiento de la expresión de eIF3f conducen a apoptosis. También demostraron que su regulación se da a nivel transcripcional al determinar y comparar las concentraciones de la proteína por Western blotting y del ARNm por Northern blotting (Fig. 6).

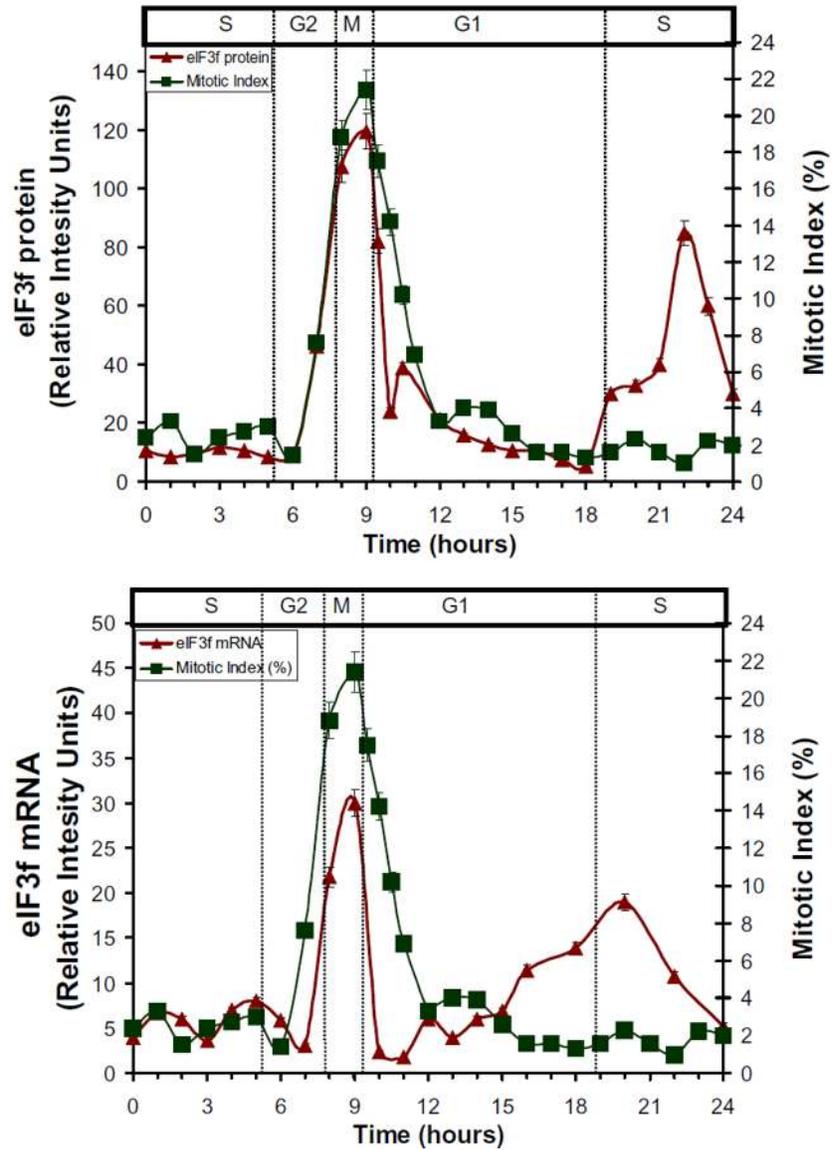


Figura 6. Perfil de expresión de la proteína y ARNm de eIF3f en referencia al índice mitótico de células A549.

El índice mitótico se utilizó como indicador de las fases del ciclo celular en un periodo de 24 horas, posteriores a la sincronización de la población celular con hidroxurea. (Higareda Mendoza y Pardo Galván, 2010)

3. JUSTIFICACIÓN

El cáncer de mama es mundialmente una amenaza grave para la salud de las mujeres. En México, el cáncer de mama es la principal causa de muerte entre las mujeres de 30 a 54 años de edad y afecta a todos los grupos socioeconómicos. Los datos sobre su detección muestran 6,000 casos nuevos en 1990 y un aumento previsto en más de 16,500 al año para el 2020. Se estima que en México existen anualmente 27,283 casos nuevos de cáncer de mama, representando un 26% de todos los cánceres femeninos de todas las edades. Adicionalmente, tiene un promedio anual de 6,884 muertes por cáncer de mama, siendo una de las principales causas de muerte en mujeres.

En la actualidad, hay parámetros que aportan información valiosa para el diagnóstico del cáncer de mama. Un biomarcador importante es la proliferación celular, que puede ser medido mediante marcadores que son expresados durante el ciclo celular. Por ejemplo, Ki67, ya que la estimación de la fracción de crecimiento de Ki67 proporciona información sobre el estado proliferativo, aunque no sobre la tasa de proliferación. Por sí sola, Ki67 no es suficiente para describir el crecimiento tumoral. Otro marcador podría ser eIF3f, dado que la concentración de eIF3f varía en relación a las fases del ciclo celular, por lo tanto, un marcador adicional que describa el crecimiento tumoral podría ser eIF3f.

Se pretende determinar si la expresión de estos dos marcadores, Ki67 y eIF3f, aportan información valiosa y complementaria del índice proliferativo en los estadios del cáncer de mama. Principalmente en aquellos donde se realiza el corte histológico del tumor.

De lograr demostrar estas relaciones, se puede emplear dicha información para una mayor precisión en la determinación del índice proliferativo, aportando información útil, no solo en la mejora del valor pronóstico, sino que también puede coadyuvar en la selección del tipo de terapia apropiada para cada caso.

4. HIPÓTESIS

La evaluación conjunta de la expresión de eIF3f y Ki67 agrega valor pronóstico a la caracterización del crecimiento neoplásico en cáncer de mama.

5. OBJETIVOS

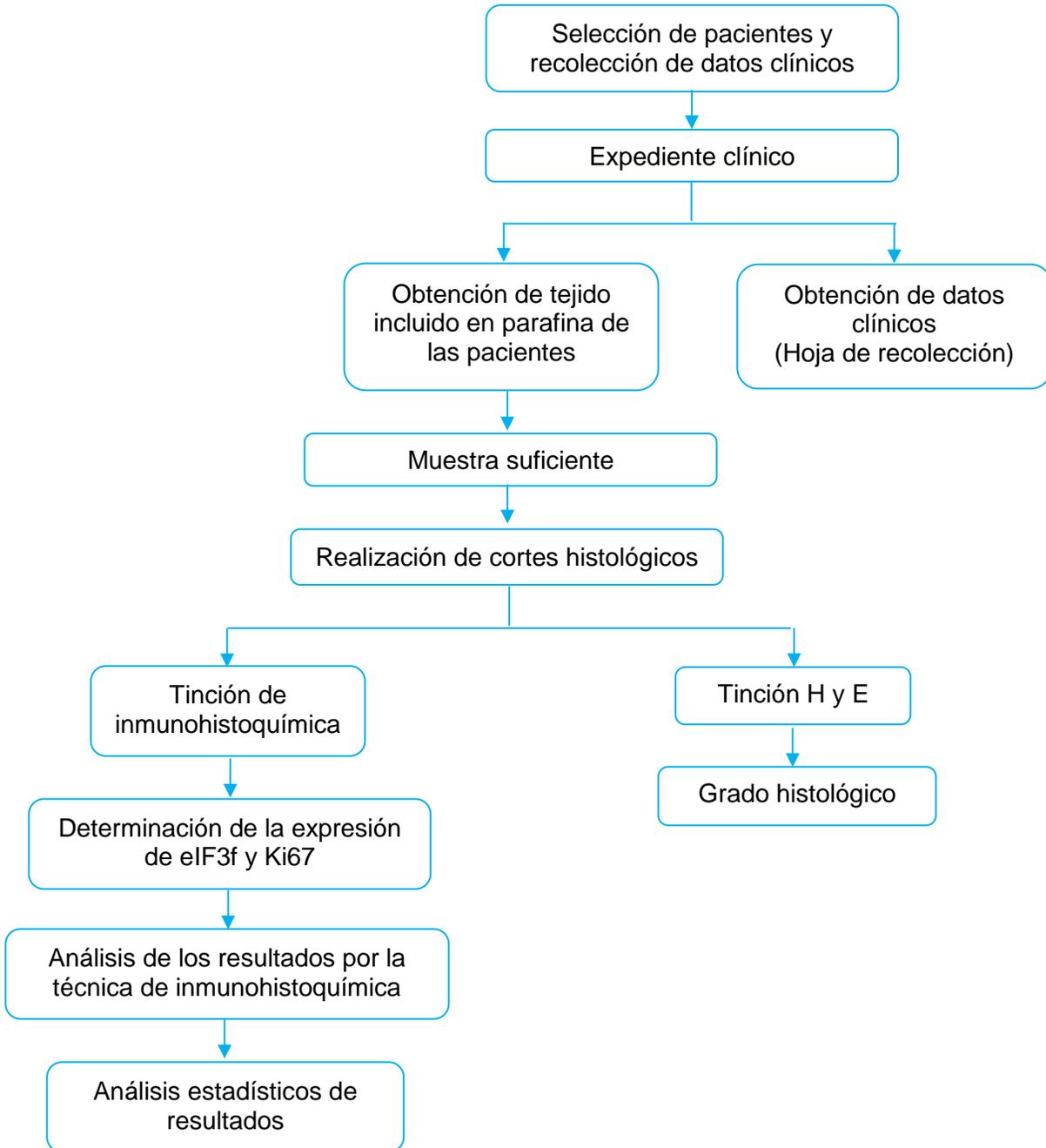
5.1 Objetivo general

Establecer el valor de la expresión conjunta de Ki67 y eIF3f como marcadores de proliferación celular en los distintos estadios de cáncer de mama y su valor pronóstico en pacientes que acuden a los centros de la Secretaría de Salud del Estado de Michoacán.

5.2 Objetivos específicos

1. Identificar las muestras histológicas de cáncer de mama y clasificar por parámetros clínico-patológicos.
2. Determinar la expresión de eIF3f y Ki67 en los cortes histológicos de cáncer de mama.
3. Correlacionar la expresión entre eIF3f y Ki67.
4. Asociar la expresión de eIF3f y Ki67 en relación al grado y tipo histológico, estadio clínico e inmunofenotipo.

6. ESTRATEGIA EXPERIMENTAL



7. MATERIALES Y MÉTODOS

7.1 Tipo de estudio

Tipo de estudio retrospectivo, observacional, descriptivo y transversal.

7.2. Universo o población

Tejidos incluidos en parafina de pacientes del género femenino con diagnóstico de cáncer de mama que ingresaron al Hospital General “Doctor Miguel Silva”, durante el período de Enero a Diciembre de 2018, que cuenten con expediente clínico y que en el Hospital o en el Servicio de Patología del Centro Estatal de Atención Oncológica (CEAO) se cuente con el bloque de la biopsia del tumor.

7.3 Muestra

Se utilizarán tejidos incluidos en parafina con diagnóstico de cáncer de mama. Según los reportes de directivos de la Secretaría de Salud Michoacán (SSM) y del CEAO, en el periodo del 2016 al 2018 se reportaron en promedio 330 casos anuales de cáncer de mama diagnosticados en el estado, de un total anual de 5,825 mastografías realizadas en el 2018, lo que representa una prevalencia de 5.66%. Considerando estos datos, se calculó el tamaño mínimo de la muestra utilizando la siguiente ecuación para población finita.

$$n = \frac{Nz^2pq}{d^2(N - 1) + z^2pq}$$

Dónde:

n = Tamaño de muestra

N = Tamaño de la población de pacientes que acudieron a la toma de una mastografía en el año 2018: N= 5825

z = Valor crítico de la distribución normal estandarizada. Se utilizará el valor que corresponde a un nivel de confianza del 95%: z=1.96

p = Proporción estimada de pacientes con diagnóstico confirmado de cáncer de mama en Michoacán (p=330/5825): p=0.0566

q = 1- p

d = Precisión o error máximo permisible del 5% (error tipo 1): d= 0.05.

Al sustituir dichos valores en la fórmula anterior, se obtiene lo siguiente:

$$n = \frac{(5825)(1.96)^2((0.0566)(1 - 0.0566))}{0.05^2(5825 - 1) + ((1.96)^2 (0.0566)(1 - 0.0566))}$$

$$n = 80.92 = \mathbf{81}$$

*Por el valor de la n, se propone realizar muestreo por conveniencia, en un lapso mínimo de 6 meses.

7.4 Definición de las variables

Las variables de estudio que se analizarán para esta investigación, se mencionan a continuación:

Objetivo específico	Variable de estudio	Clasificación de variable	Unidades de medida
Presencia de la proteína eIF3f	Concentración relativa de eIF3f	Dependiente	Semicuantitativa (Unidades relativas de fluorescencia)
Presencia de la proteína Ki67	Concentración relativa de Ki67	Dependiente	Semicuantitativa (Unidades relativas de fluorescencia)
Grado de la neoplasia	Clasificación BIRADS	Dependiente	Ordinal
	Clasificación TNM	Dependiente	Ordinal
	Clasificación molecular (Inmunofenotipos)	Dependiente	Ordinal
	Grado histológico	Dependiente	Ordinal
	Tipo histológico	Dependiente	Ordinal

7.5 Criterios de inclusión

Muestras de tejido de mama incluido en parafina.

Muestras sin tratamiento de quimioterapia y/o radioterapia.

7.6 Criterios de exclusión

Muestras de pacientes que hayan recibido un tratamiento de quimioterapia y/o radioterapia como pre-tratamiento quirúrgico.

Muestras de pacientes que no sean atendidas en el CEAO.

7.7 Criterios de eliminación

Muestras insuficientes de tejido de mama incluido en parafina.

Muestras que no cuenten con expediente clínico.

7.8 Diagnóstico, estadificación y clasificación molecular de cáncer de mama

La información reportada se obtuvo del expediente clínico, considerando para el diagnóstico el resultado de la mastografía en base al sistema del Colegio Americano de Radiología denominado BIRADS mencionado en la Tabla 1. La estadificación se realiza según la clasificación AJCC en base a criterios TNM mencionados en la Tabla 2 y los subtipos moleculares de cáncer de mama se clasificaron de acuerdo al Consenso de St. Gallen del 2013 mencionados en el apartado 2.1.3.

7.9 Tinción de Hematoxilina y Eosina

A partir de los tejidos completos incluidos en parafina se realizaron cortes de 2-3 μm de espesor con ayuda de un micrótopo. Se empleó un sistema automatizado SAKURA DIVERSIFIED STAINER DRS-601 para realizar la tinción de Hematoxilina y Eosina, utilizando los siguientes reactivos y tiempos:

Proceso	Paso	Estación	Solución	Concentración	Tiempo
Desparafinación	1	1	Xilol	-	10 min
	2	2	Xilol	-	10 min
Hidratación	3	3	Etanol	100%	10 min
	4	4	Etanol	100%	10 min
	5	5	Etanol	95%	10 min
	6	6	Etanol	80%	10 min
	7	7	Etanol	50%	10 min
	8	8	Agua destilada	-	5 min
Tinción	9	9	Hematoxilina	-	7 min
	10	10	Alcohol-ácido	-	15 seg
	11	20	Agua corriente	-	10 seg
	12	11	Agua destilada	-	3 min
	13	12	Agua destilada	-	3 min
Deshidratación	14	13	Eosina	-	2 min
	15	14	Etanol	70%	5 min
	16	15	Etanol	95%	5 min
	17	16	Etanol	100%	10 min
	18	17	Etanol	100%	10 min
Montaje	19	18	Xilol	-	10 min
	20	19	Xilol	-	10 min

Una vez concluida la tinción se colocó una gota de resina como medio de montaje, se revisaron las laminillas correspondientes a cada caso para analizar la diferenciación glandular, el índice mitótico y el pleomorfismo nuclear. Y de esta manera, se identificó el grado histológico en cada uno de ellos.

7.10 Selección de los anticuerpos y fluorocromos para la tinción de inmunohistoquímica

Se realizó una búsqueda para los fluorocromos de cada anticuerpo con ayuda del Fluorofinder; se analizaron las absorciones y emisiones de cada uno de ellos, para evitar posibles interferencias entre ellos.

Se seleccionó un anticuerpo primario policlonal EIF3F anti-*Homo sapiens* (Human) de conejo (CUSABIO) y su anticuerpo secundario policlonal Cy3 IgG anti-conejo de burro (Biolegend®) cuya absorción máxima es de 552 nm y emisión máxima de 570 nm, un anticuerpo monoclonal conjugado con PerCP-Cy 5.5 anti-Ki67 de ratón (BD Pharmingen™) cuya absorción máxima es de 675 nm y emisión máxima de 694 nm y como control interno un anticuerpo monoclonal conjugado con Alexa Fluor 488® anti-β actina de ratón (Biolegend®) cuya absorción máxima es de 488 nm y emisión máxima de 519 nm.

7.11 Inmunohistoquímica para la detección de eIF3f y Ki67

A partir de los tejidos completos incluidos en parafina se realizan cortes de 2-3 μm de espesor con ayuda de un micrótopo. Se colocan en portaobjetos de carga positiva que interactúan con las cargas negativas de las proteínas, atrayéndolas, permitiendo el acoplamiento electrostático y que la muestra no se desprenda.

Posteriormente, se secan en el horno a 37 °C “overnight”, cuidando de calentamientos excesivos en seco que pueden originar pérdida de antigenicidad (falsos negativos). Para desparafinar se coloca en xilol 2 veces durante 5 minutos, se hidrata el tejido en etanol absoluto durante 5 minutos, etanol al 96% durante 5 minutos, etanol al 70% durante 5 minutos, en agua destilada durante 5 minutos y en PBS 1X durante 5 minutos. Se permeabiliza con tritón al 0.3%.

La recuperación antigénica se realiza con la inmersión del tejido en citrato de sodio 0.01 M pH 7.4 durante 20 minutos a temperatura ambiente y se transfiere a PBS 1X durante 5 minutos. Se coloca en metanol-H₂O₂ al 3% durante 15 minutos para eliminar la peroxidasa endógena y se hacen lavados con agua destilada y PBS 1X de 5 minutos. Se bloquea la unión inespecífica de anticuerpos

a las células con BSA al 5% durante 30 minutos a 37°C y se enjuaga con PBS 1X por 5 minutos.

La incubación de los anticuerpos se realiza en una cámara húmeda en la oscuridad con los anticuerpos correspondientes: Anticuerpo primario policlonal EIF3F anti-*Homo sapiens* (Human) de conejo (CUSABIO), dilución 1:100 durante 1 hora a temperatura ambiente, anticuerpo secundario policlonal Cy3 IgG anti-conejo de burro (Biolegend®), dilución 1:200 durante 1 hora a temperatura ambiente, anticuerpo monoclonal conjugado PerCP-Cy 5.5 anti-Ki67 de ratón (BD Pharmingen™) dilución 1:200 durante 1 hora a temperatura ambiente, anticuerpo monoclonal conjugado Alexa Fluor 488® anti-β actina de ratón (Biolegend®) dilución 1:200 durante 1 hora a temperatura ambiente. Posterior a la incubación con cada anticuerpo se lava 3 veces con PBS 1X. Finalmente, se coloca una gota del medio de montaje acuoso Fluoromount™ (SIGMA), se almacena a 4°C y se protege de la luz hasta su visualización y análisis en un microscopio confocal.

7.12 Análisis y evaluación de la técnica de inmunohistoquímica de triple fluorescencia

Para la visualización y adquisición de imágenes se utilizó un microscopio de fluorescencia Nikon ECLIPSE E800 que tiene integrado un sistema confocal de escaneo láser Radiance 2100 y un software de LaserSharp 2000 (ZEISS) una aplicación unificada que controla la adquisición y proporciona funcionalidad para el procesamiento y análisis de imágenes y datos. El flujo de trabajo del sistema se basa en métodos definidos por el usuario, es una configuración prealmacenada, que cuando se selecciona cargará un conjunto de operaciones y parámetros predeterminados para que se puedan aplicar condiciones de imagen reproducibles a muestras similares. Se hizo una configuración simultánea y 3 configuraciones secuenciales, con un número de 4 paneles; uno para cada anticuerpo y el cuarto panel para la combinación de los 3 (MERGE). Cada panel configurado con parámetros determinados para la excitación y emisión de cada fluorocromo mencionados en el apartado 7.11.

La adquisición de las imágenes fue a 1024x1024 píxeles y con la herramienta de dibujo de región de interés (ROI), se tomaron 3 ROI de zonas representativas en cada corte histológico; los ROI son comunes a todos los paneles, es decir, se permite usar los mismos ROI en las mismas ubicaciones de todos los paneles. El cuadro de resolución define el ancho de la clase a lo largo del eje x, por lo tanto, una resolución de 1 trazará una sola barra contra cada valor de píxel, y una resolución de 10 agrupará los recuentos de píxeles con valores entre 0 y 9 y los trazará como una sola barra, con esto, el operador de histograma analiza el número e intensidad de píxeles en la imagen, permitiendo medir desde la intensidad mínima hasta la máxima, su media \pm DE. De esta manera, no sólo se analizó cualitativamente la expresión o no de dichas proteínas sino también se calcula la intensidad de unidades relativas de fluorescencia de la expresión de las proteínas en el tejido.

7.13 Análisis estadístico

Los datos obtenidos se clasificaron por medio del software Microsoft Excel R. y para la validación estadística se realizó con el software IBM SPSS Statistics versión 25[®] calculando medidas de tendencia central, medidas de dispersión para la estadística descriptiva, una prueba de normalidad (Kolmogorov-Smirnov) y un análisis de correlación de Spearman de las intensidades de eIF3f y Ki67. Los datos del análisis de las intensidades de cada anticuerpo se informaron como medianas y se compararon entre los grupos de los parámetros clínico-patológicos utilizando la prueba de suma de rangos de Wilcoxon de dos muestras (U de Mann Whitney) y pruebas de asociación (χ^2) entre las intensidades de eIF3f y Ki67 con los diferentes parámetros clínico-patológicos. Considerando significativos aquellos de $p < 0.05$.

7.14 Aspectos éticos

Este estudio fue aprobado por el Comité de Investigación y Ética en Investigación de la Facultad de Ciencias Médicas y Biológicas “Dr. Ignacio Chávez” de la U.M.S.N.H. con número de registro 005/P/5/2019. Asimismo, la aprobación por el

Comité de Investigación del Hospital General “Dr. Miguel Silva” con número de registro 17-CI-16053153 y la autorización del Centro Estatal de Atención Oncológica (CEAO) número de oficio 132/2019.

La investigación realizada sólo contempla el uso de tejidos incluidos en parafina de las pacientes del Hospital General “Dr. Miguel Silva” y los expedientes clínicos del Centro Estatal de Atención Oncológica (CEAO) sin requerir la intervención de las pacientes, por tal motivo, no fue necesario el consentimiento informado. Sin embargo, se respetó el anonimato de la información de todas y cada una de las pacientes. Cumpliendo con los principios éticos en correspondencia con la Ley General de Salud y el Reglamento en Materia de Investigación para la Salud.

8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Objetivo 1. Identificar las muestras histológicas de cáncer de mama y clasificarlas por parámetros clínico-patológicos

Se hizo una revisión en el archivo del Departamento de Anatomía Patológica del Hospital General “Dr. Miguel Silva” y en el Centro Estatal de Atención Oncológica (CEAO), considerando aquellos que fueron diagnosticados con la neoplasia en el periodo del 1 de enero de 2018 al 31 de diciembre de 2018. De un total de 606 casos identificados, 396 (65.35%) fueron confirmatorios de cáncer de mama en mujeres y cuentan con resultados de inmunohistoquímica para receptores de estrógenos, progesterona, Her2 y Ki67. Se excluyeron 147 casos cuya muestra no es representativa y 2 casos que no cuentan con expediente clínico. Obteniendo 77 casos que cumplen con los criterios de inclusión establecidos.

En base a los datos adquiridos, se realizó una distribución de pacientes de acuerdo a diferentes categorías en relación a las pacientes que son atendidas en el CEAO, mismas que son presentadas a continuación:



Figura 7. Distribución de pacientes de acuerdo al origen/procedencia.

a) Distribución de pacientes de acuerdo a factores de riesgo

La edad promedio de las pacientes al momento de ser diagnosticadas con la neoplasia, fue de 55.23 ± 13.08 , con una mediana de 56 años y una moda de 48 años. La edad mínima fue 26 años y la edad máxima 85 años. Los grupos más afectados son los de 46 a 55 años (29.87%), de 56 a 65 años (28.57%) y de 65 a 75 años (14.29%) (Fig. 8).

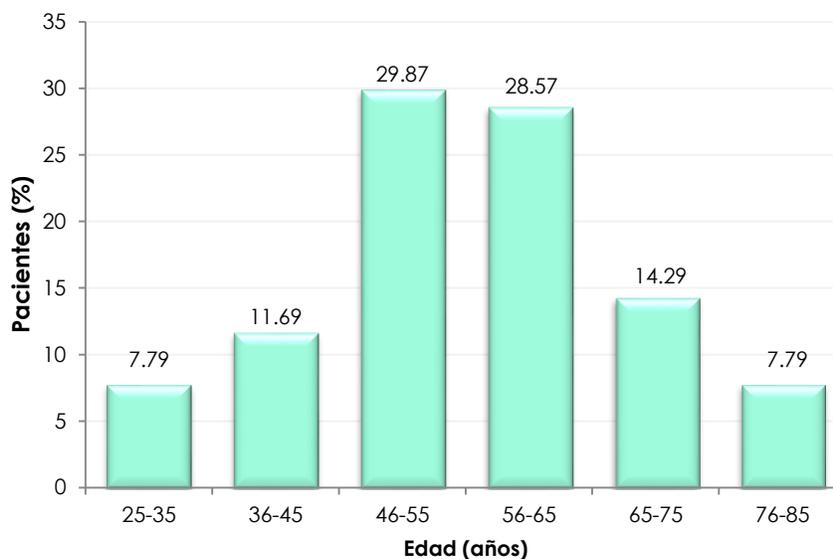


Figura 8. Distribución de pacientes de acuerdo grupos de edad.

La menarca promedio fue de 13.07 ± 1.57 años y la menarca temprana (antes de los 12 años) representa el 10.39% (Fig.9).

El periodo hormonal de las pacientes al momento de ser diagnosticadas con la neoplasia, un 24.68% se encontraba en periodo de menstruación y el 75.32% en un periodo de menopausia (Fig. 10), siendo la edad promedio de 46.96 ± 4.58 años y la edad máxima en el inicio de éste a los 56 años.

El primer embarazo antes de los 30 años se presenta en el 71.43% de las pacientes a una edad promedio de 20.68 ± 4.16 años; el embarazo después de los 30 años se presenta en el 2.60% a una edad promedio de 31.5 ± 2.81 años y el 25.97% son nulíparas (Fig. 11). En cuanto al periodo de lactancia, el 9.09% de las pacientes lactaron <6 meses, 41.56% lactaron >6 meses, en el 29.87% no lactaron y el 19.48% no fue reportado (Fig. 12).

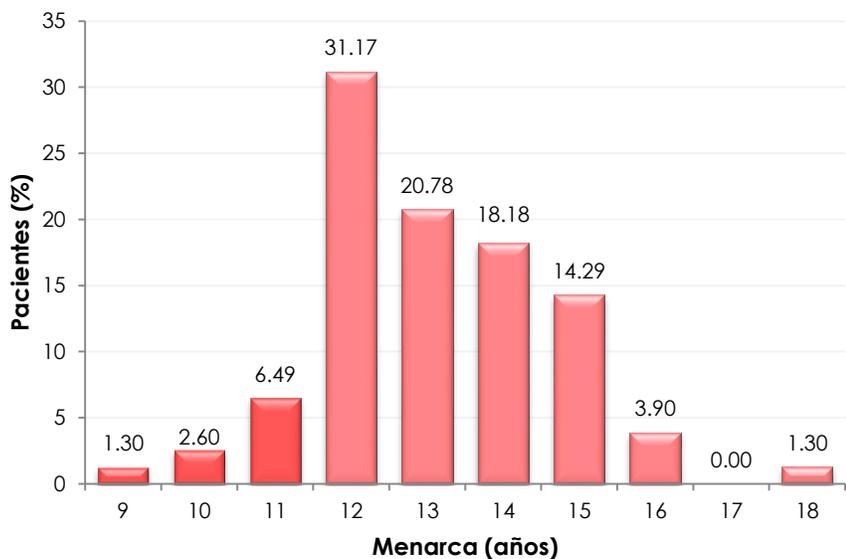


Figura 10. Distribución de pacientes de acuerdo a la edad de la menarca.

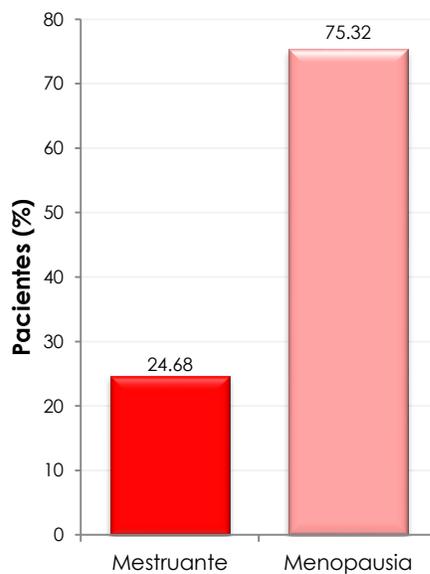


Figura 9. Distribución de pacientes de acuerdo a su estado de periodo hormonal.

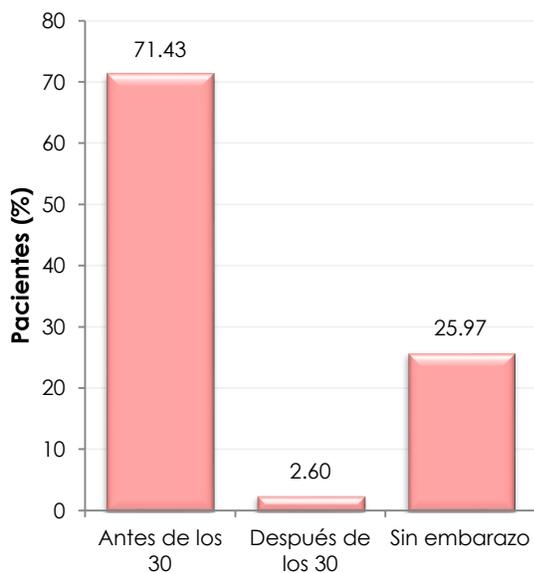


Figura 12. Distribución de pacientes de acuerdo al primer embarazo.

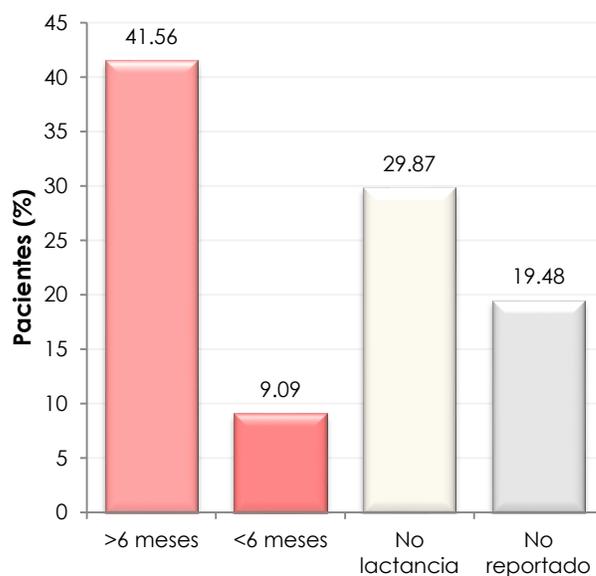


Figura 11. Distribución de pacientes de acuerdo a la lactancia.

El porcentaje de las pacientes con antecedentes familiares de esta neoplasia fue de 18.18%, en comparación con las que no tienen antecedentes 81.82%, siendo la diferencia considerable (Fig. 13).

Para la distribución de pacientes de acuerdo al índice de masa corporal (IMC), basado en la clasificación de la OMS, sólo el 28.57% presenta un peso normal, 32.47% presenta sobrepeso y el 38.97% obesidad en los distintos grados, ninguna de las pacientes presenta un peso bajo (Fig. 14).

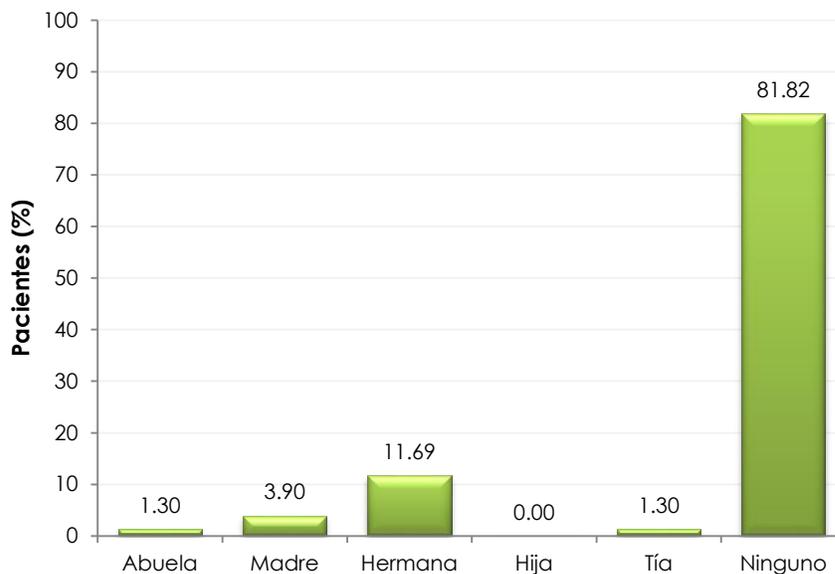


Figura 13. Distribución de pacientes de acuerdo a los antecedentes familiares con cáncer de mama.

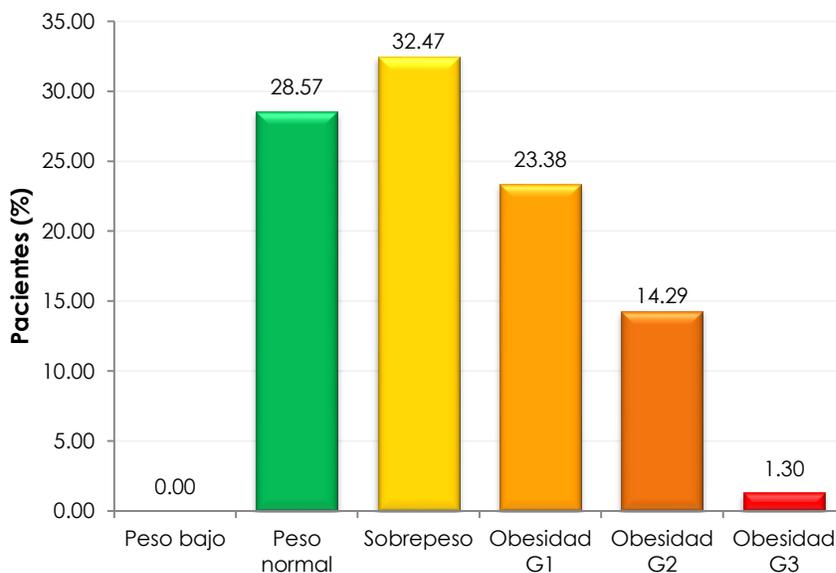


Figura 14. Distribución de pacientes de acuerdo al IMC.

Otros de los factores predisponentes son el consumo de sustancias nocivas (alcohol y tabaco) o exposición a estrógenos exógenos (uso de hormonas/terapia hormonal). El consumo de sustancias nocivas sólo se presenta en el 10.26% (Fig. 15) y en el uso de hormonas/terapia hormonal en el 16.67% de las pacientes (Fig. 16).

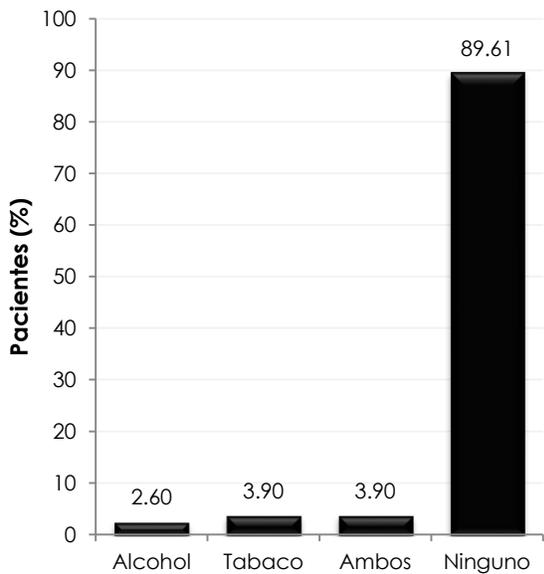


Figura 16. Distribución de pacientes de acuerdo al consumo de sustancias nocivas.

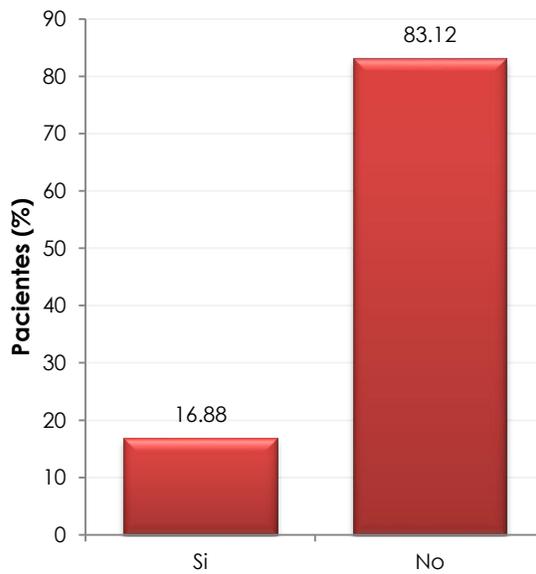


Figura 15. Distribución de pacientes de acuerdo a la exposición de estrógenos exógenos.

De la estadística descriptiva de nuestro estudio en cuánto a los factores de riesgo, se asemejan a lo reportado por Navarro *et al.* (2015) quienes realizan una asociación de los factores de riesgo con 81 casos de cáncer de mama en una población de mujeres mexicanas (Tabla 5).

Tabla 5. Comparación de la estadística descriptiva con otro estudio realizado en mujeres mexicanas

Factores de riesgo	Presente estudio	Navarro <i>et al.</i> 2015
Edad	55.23 ± 13.08	51.8 ± 11.7
Menarca	13.07 ± 1.57	12.7 ± 1.6
Menopausia	46.96 ± 4.58	46 ± 5.1
Obesidad	38.97 %	35.8 %

b) Distribución de pacientes de acuerdo a los parámetros del diagnóstico clínico.

En el diagnóstico clínico, el tumor se localiza mayoritariamente en la mama izquierda con un 49.35%, siendo la diferencia con la mama derecha mínima ya que se reporta un 44.16% y solamente se presenta en ambas mamas en el 6.49% de las pacientes (Fig. 17). En cuanto a la localización del tumor por cuadrantes, éste se encuentra en un mayor porcentaje en el cuadrante superior externo con 32.47% y en menor porcentaje se localiza el tumor en el cuadrante inferior interno 2.60%; lo restante del porcentaje se distribuye en el cuadrante superior interno, cuadrante inferior externo, retroareolar, intercuadrantes y en todos los cuadrantes (Fig.18).

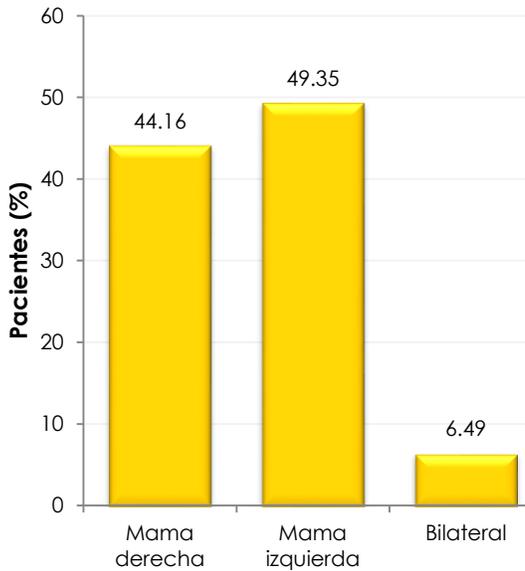


Figura 18. Distribución de pacientes de acuerdo a la localización del tumor.

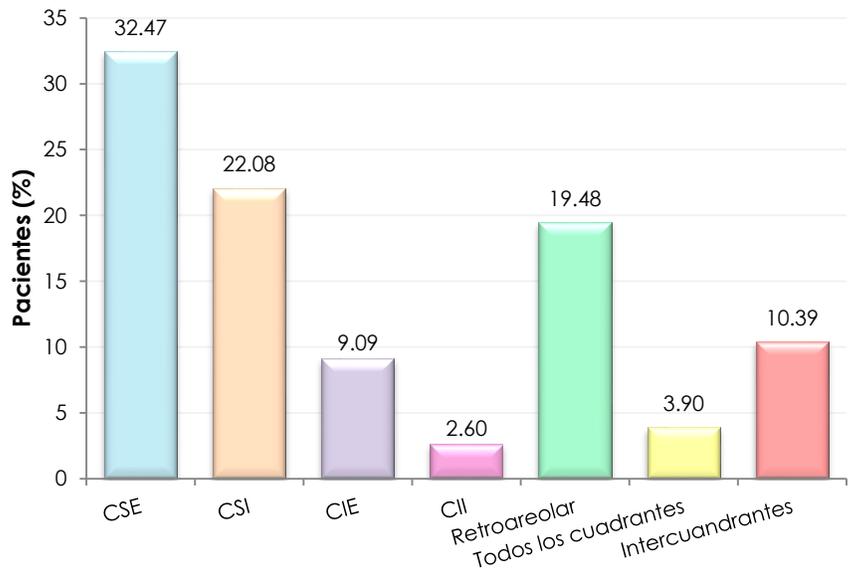


Figura 17. Distribución de pacientes de acuerdo a la localización del tumor por cuadrantes.

En el método de diagnóstico a partir de una mastografía o ultrasonido se reportaron mayormente BIRADS 4 (4a, 4b, 4c) en el 44.16%, BIRADS 5 en el 35.06%, BIRADS 3 y 6 en el 1.30% y sólo un 18.18% no se reportó en el expediente clínico (Fig. 19).

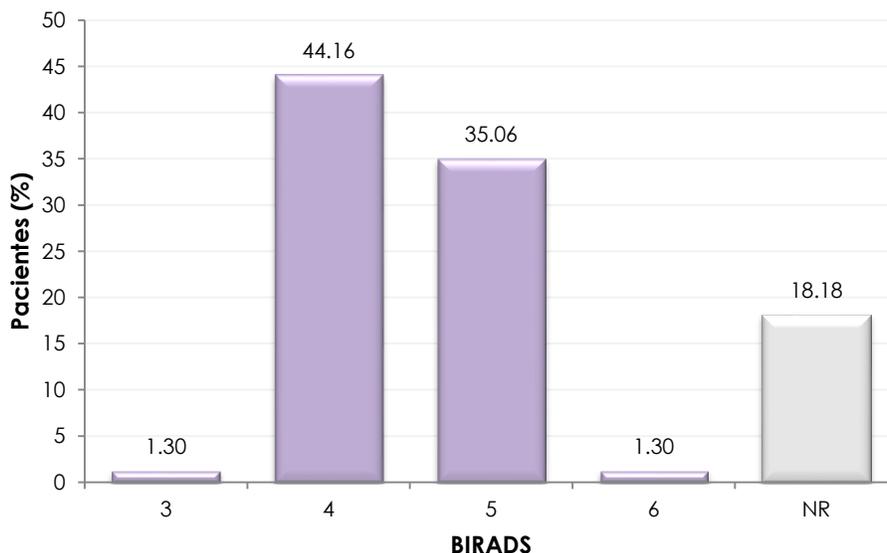


Figura 19. Distribución de pacientes de acuerdo al BIRADS.

Se reporta la estadificación de acuerdo a la clasificación TNM:

En relación al tamaño tumoral (T), se reporta que en un 2.60% no hay evidencia de tumor primario (T0), 2.60% son carcinoma *in situ* (Tis), 23.38% el tumor es de 2 cm o menos en su mayor dimensión (T1), 29.87% el tumor es de más de 2 cm pero no más de 5 cm en su mayor dimensión (T2), 18.18% el tumor mide más de 5 cm en su mayor dimensión (T3) y 18.18% el tumor es de cualquier tamaño pero con extensión directa a la pared torácica o la piel (T4) (Fig. 20).

En cuanto a la afectación ganglionar (N), el 57.14% no presentaron afectación ganglionar (N0), un 22.08% tiene afectación a ganglio o ganglios linfáticos axilares ipsilaterales móviles (N1), el 12.99% tiene afectación a ganglio o ganglios linfáticos ipsilaterales unidos entre sí o a otras estructuras (N2) y el 2.60% tiene afectación a ganglio o ganglios linfáticos mamarios internos ipsilaterales (N3) (Fig. 21).

En la metástasis (M) el 93.51% no está presente (M0) y sólo en el 3.90% hay metástasis distante (M1) (Fig. 22).

En base a los datos anteriores se categorizan en estadios clínicos: el 2.60% corresponde al estadio 0, 23.38% al estadio I, 18.18% al estadio IIA, 20.78% al estadio IIB, 10.39% al estadio IIIA, 15.58% al estadio IIIB, 1.30% al estadio IIIC y 3.90% al estadio IV (Fig. 23).

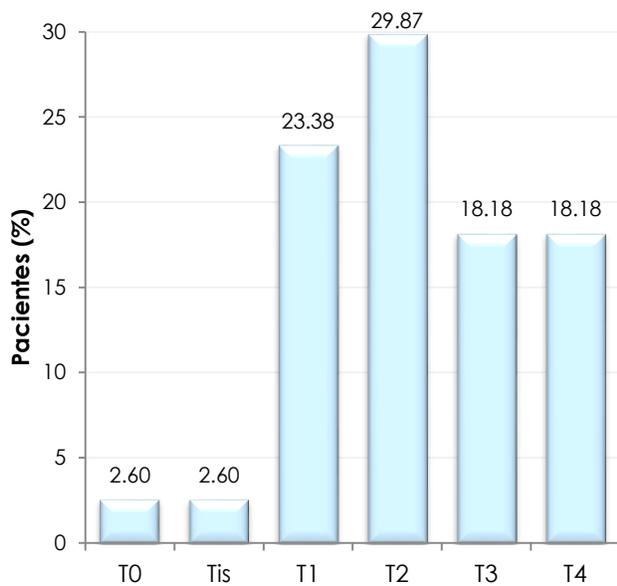


Figura 21. Distribución de pacientes de acuerdo a T.

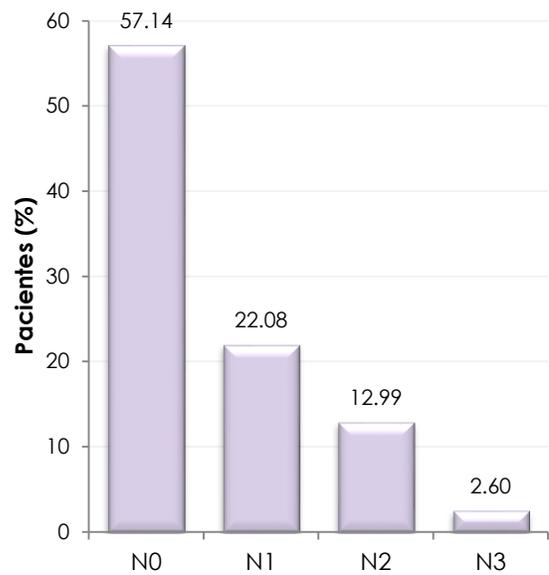


Figura 20. Distribución de pacientes de acuerdo a N.

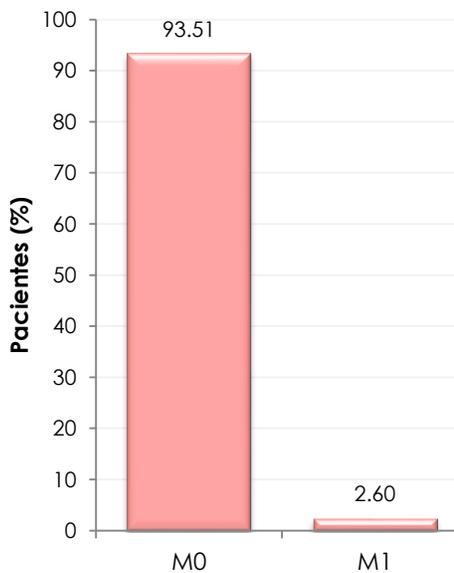


Figura 22. Distribución de pacientes de acuerdo a M.

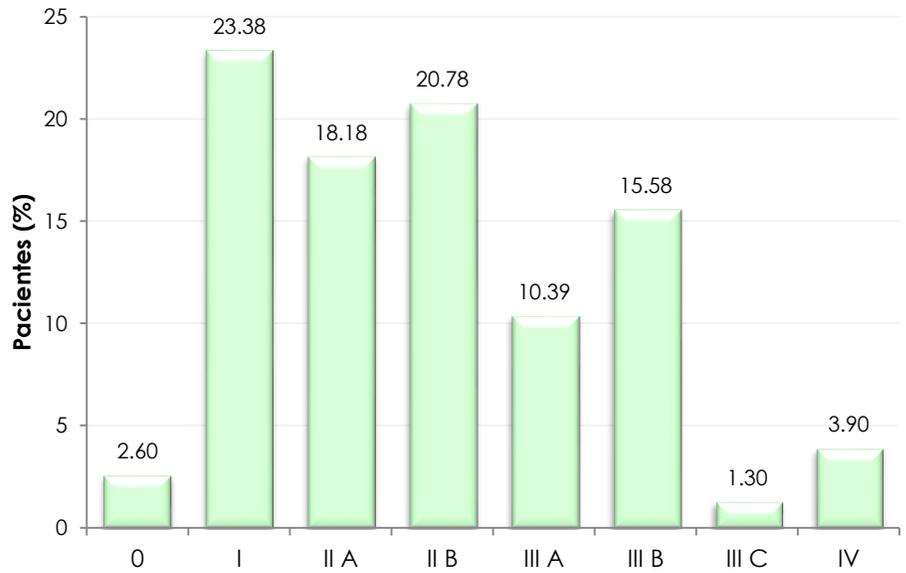


Figura 23. Distribución de pacientes de acuerdo al estadio clínico.

De acuerdo al tipo histológico, predomina con 79.22% el carcinoma ductal infiltrante de tipo no específico y en menor porcentaje otros patrones histológicos ductal infiltrante: lobulillar (5.19%), mucinoso (9.09%), papilar (2.60%), y sólo el 3.90% es carcinoma ductal *in situ* (Fig. 24).

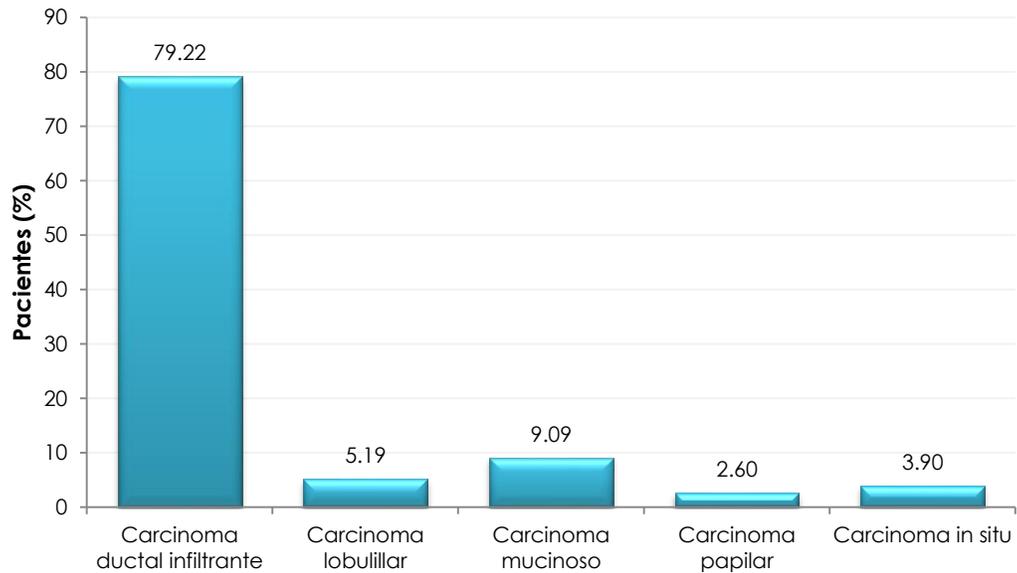


Figura 24. Distribución de pacientes de acuerdo al tipo histológico.

En la Fig. 25 se ejemplifican casos de cada grado histológico por la tinción de H&E realizada. Se analizó la diferenciación glandular, el índice mitótico y el pleomorfismo nuclear, identificando así, el grado histológico de cada uno de los pacientes. El 35.06% presenta grado histológico tipo 1, el 45.45% grado histológico tipo 2 y el 19.48% grado histológico tipo 3 (Fig. 26).

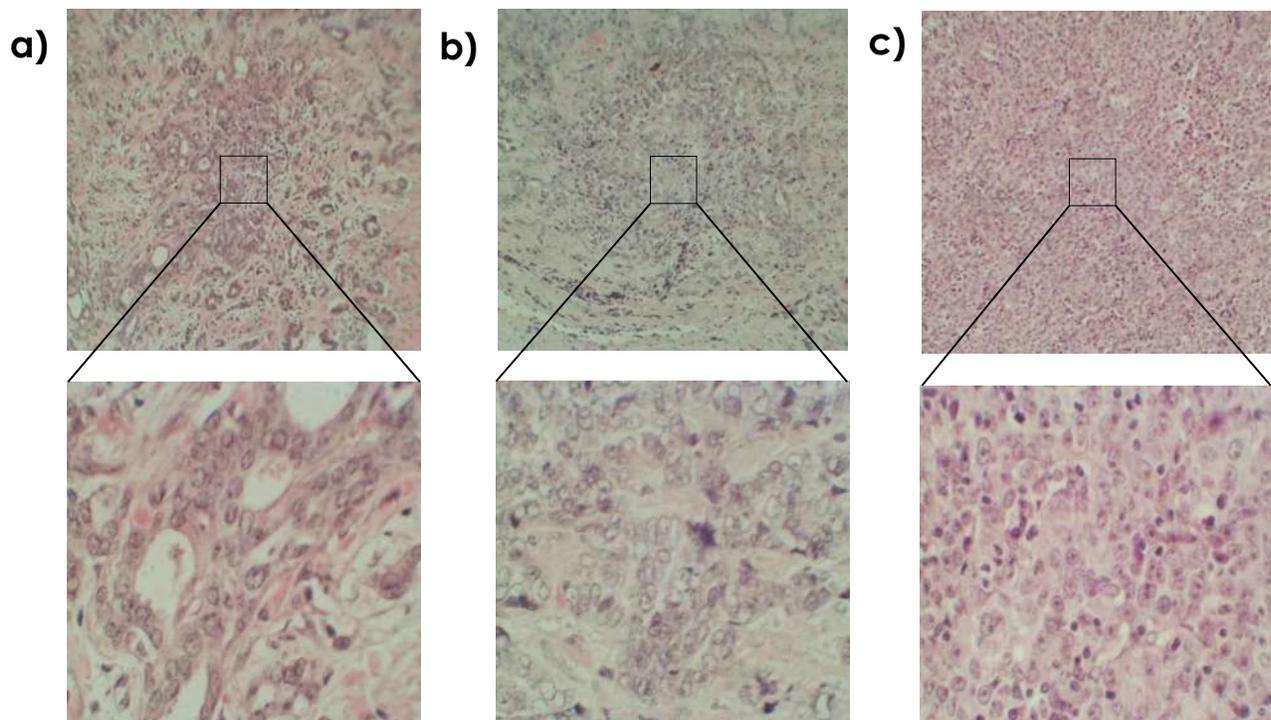


Figura 25. Tinción H-E de 3 casos de pacientes (20x, 60x). a) G.H 1 b) G.H 2 c) G.H 3

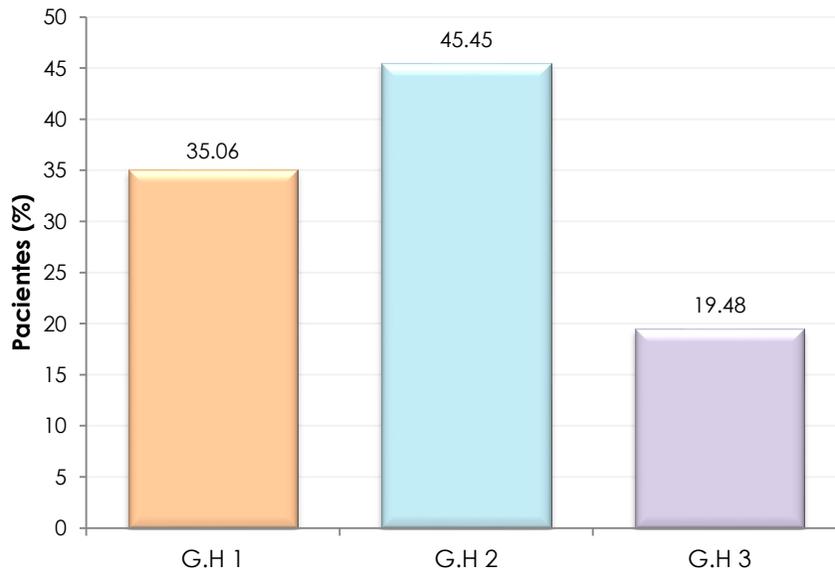


Figura 26. Distribución de pacientes de acuerdo al grado histológico.

En el reporte de inmunohistoquímica se identifica la expresión molecular de RE, RP, Her2 y Ki67. El 63.64% es positivo a RE, el 57.14% a RP, el 33.77% a Her2 y el 98.70% positivo a Ki67 (Fig. 27).

Obteniendo así, la clasificación molecular de acuerdo al inmunofenotipo; 20.78% son Luminal A, 19.48% son Luminal B/Her2-, 11.69% son Luminal B/Her2+, 15.58% son Her2, 18.18% son triple negativo, 11.69% tienen características de tipo Luminal A pero con un Ki67>20 y el 2.60% no cumple las características para clasificarlos en los inmunofenotipos establecidos (Fig. 28).

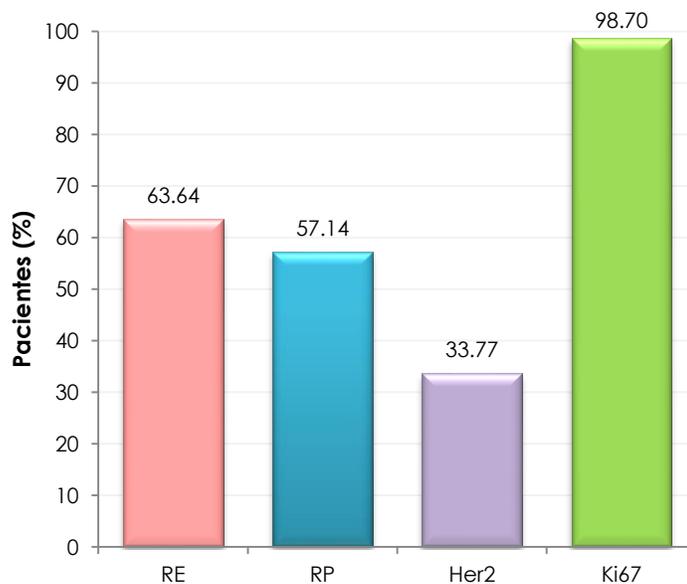


Figura 27. Distribución de pacientes de acuerdo a la expresión molecular

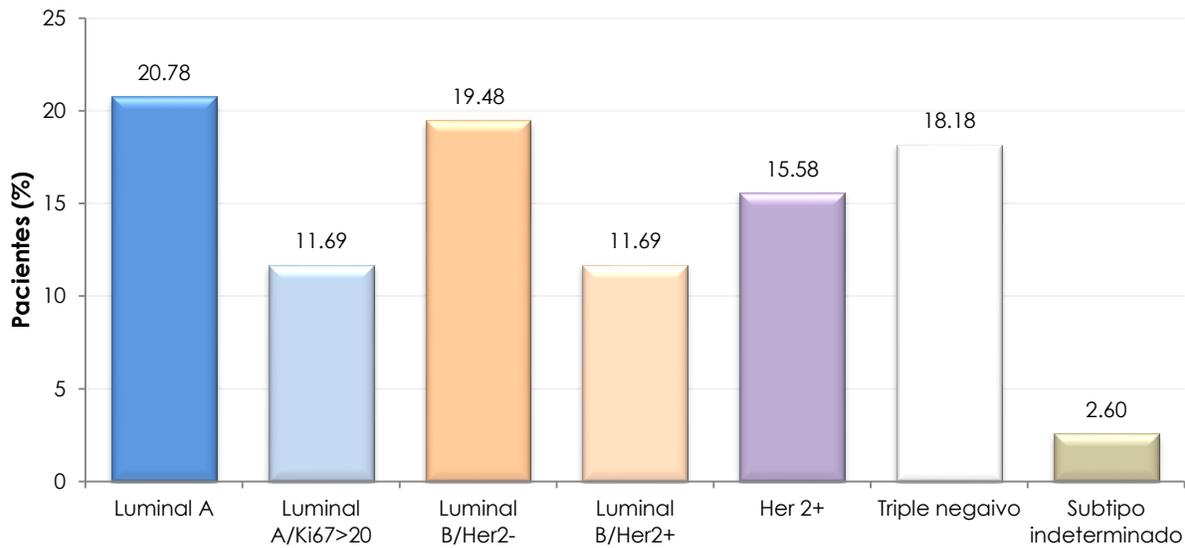


Figura 28. Distribución de pacientes de acuerdo al inmunofenotipo.

c) Distribución de pacientes de acuerdo a los tipos de terapéutica y estado del paciente

Con los datos reportados anteriormente se inicia la terapéutica más conveniente para cada paciente. Referente al tratamiento quirúrgico, al 84.42% de las pacientes se le realizó una mastectomía radical modificada, al 3.90% una mastectomía conservadora y al 11.69% no se les realizó cirugía quirúrgica (Fig. 29). De acuerdo a la terapéutica, el 81.82% recibió quimioterapia y de ésta, el 55.56% recibió quimioterapia neoadyuvante, 53.97% mismo porcentaje para quimioterapia adyuvante, el 51.95% terapia hormonal y el 57.14% radioterapia (Fig. 30).

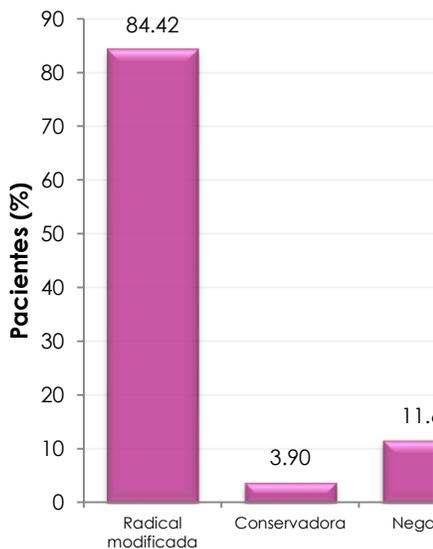


Figura 29. Distribución de pacientes de acuerdo al tratamiento quirúrgico.

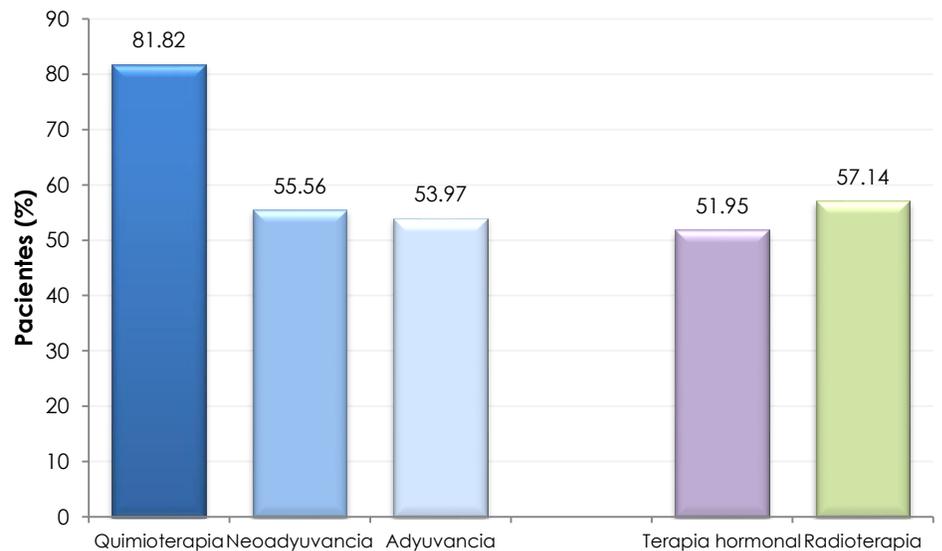


Figura 30. Distribución de pacientes de acuerdo a la terapéutica.

Por último, en relación al estado actual del paciente al concluir la recolección de los datos clínicos, el 66.67% está sin datos de actividad tumoral, el 6.41% son recidiva, el 24.36% están en tratamiento y 2.56% son defunción (Fig. 31).

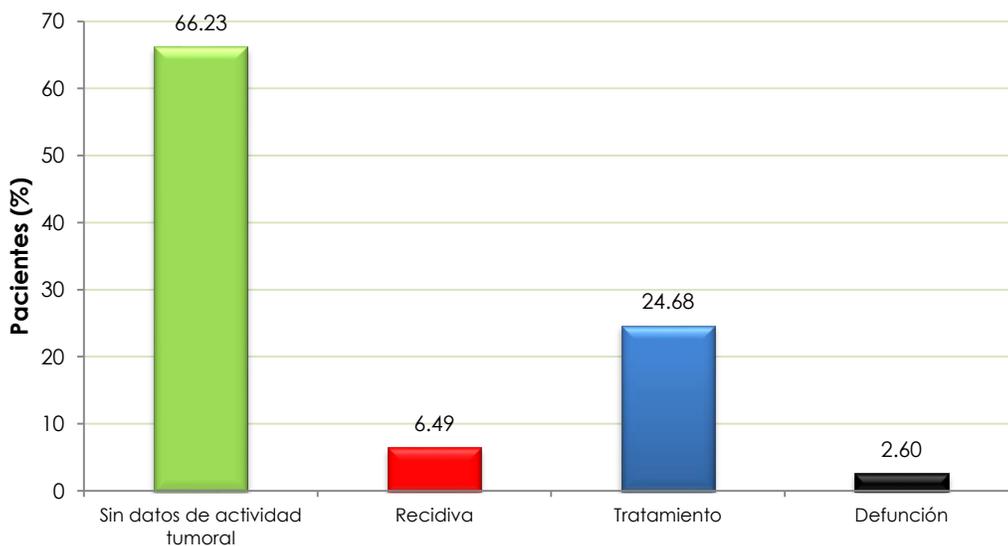


Figura 31. Distribución de pacientes de acuerdo al estado del paciente.

Objetivo 2. Determinar la expresión de eIF3f y Ki67 en los cortes histológicos de cáncer de mama

a) Estandarización de la técnica de inmunohistoquímica semicuantitativa de triple fluorescencia.

Para determinar la expresión de eIF3f y Ki67 se realizaron ensayos piloto, primero inmunohistoquímicas por separado de cada anticuerpo y posterior a ello se realizaron inmunohistoquímicas de triple fluorescencia, donde se incubaron los 3 anticuerpos en el mismo tejido para tener la certeza que marcaran en la zona correcta: Ki67 en el núcleo, eIF3f principalmente en citoplasma y en menor cantidad se puede presentar en núcleo y membrana; se empleó como control interno β -actina, una de las 6 isoformas de la actina que se encuentra en el citoesqueleto, tiene función en la motilidad celular y es comúnmente empleado como un marcador constitutivo siendo una manera de normalizar internamente las intensidades promedio de Ki67 y eIF3f, ya que es un indicativo del número y tipo de células, así como estructuras presentes en el tejido. La muestra empleadas para estos estudios previos fueron:

- 1) Ganglio linfático: Son estructuras encapsuladas donde se localizan numerosos linfocitos organizados: Los linfocitos son agranulocitos que presentan un núcleo esférico, ligeramente hendido, ocupa la mayor parte de la célula y un citoplasma escaso, situado de forma periférica.
- 2) Fibroadenoma: Es una lesión benigna de la mama, son procesos hiperplásicos o proliferativos del conducto terminal de la unidad mamaria y del estroma tanto intralobular como del extralobular formado por tejido conectivo y grasa.
- 3) Carcinoma ductal infiltrante (CDI): la muestra utilizada es de los casos recolectados para el estudio, presenta un grado histológico de 3 y una expresión positiva a Ki67 con un 80% de células que lo expresan.

En la de la Fig. 32 se presentan las muestras de tejido observadas a un objetivo de 60x, los incisos a), b) y c) muestras donde se puede apreciar un patrón moteado siendo los núcleos los que expresan Ki67 (fluorescencia roja), en ganglio

linfático (a) hay abundancia de linfocitos; los núcleos de éstos por su alto índice proliferativo sirven como testigo para Ki67, en el caso del fibroadenoma (b) y del CDI (c) hay una diferencia de intensidades; es lo esperado ya que la muestra de CDI tiene un alto índice proliferativo (>20 mitosis por campo) y los fibroadenomas tienen un bajo índice proliferativo (0-4 mitosis por campo). En los incisos d) y e) se observan muestras donde se expresa eIF3f (fluorescencia verde) y en los incisos f) y g) muestras donde se expresa β -actina (fluorescencia azul).

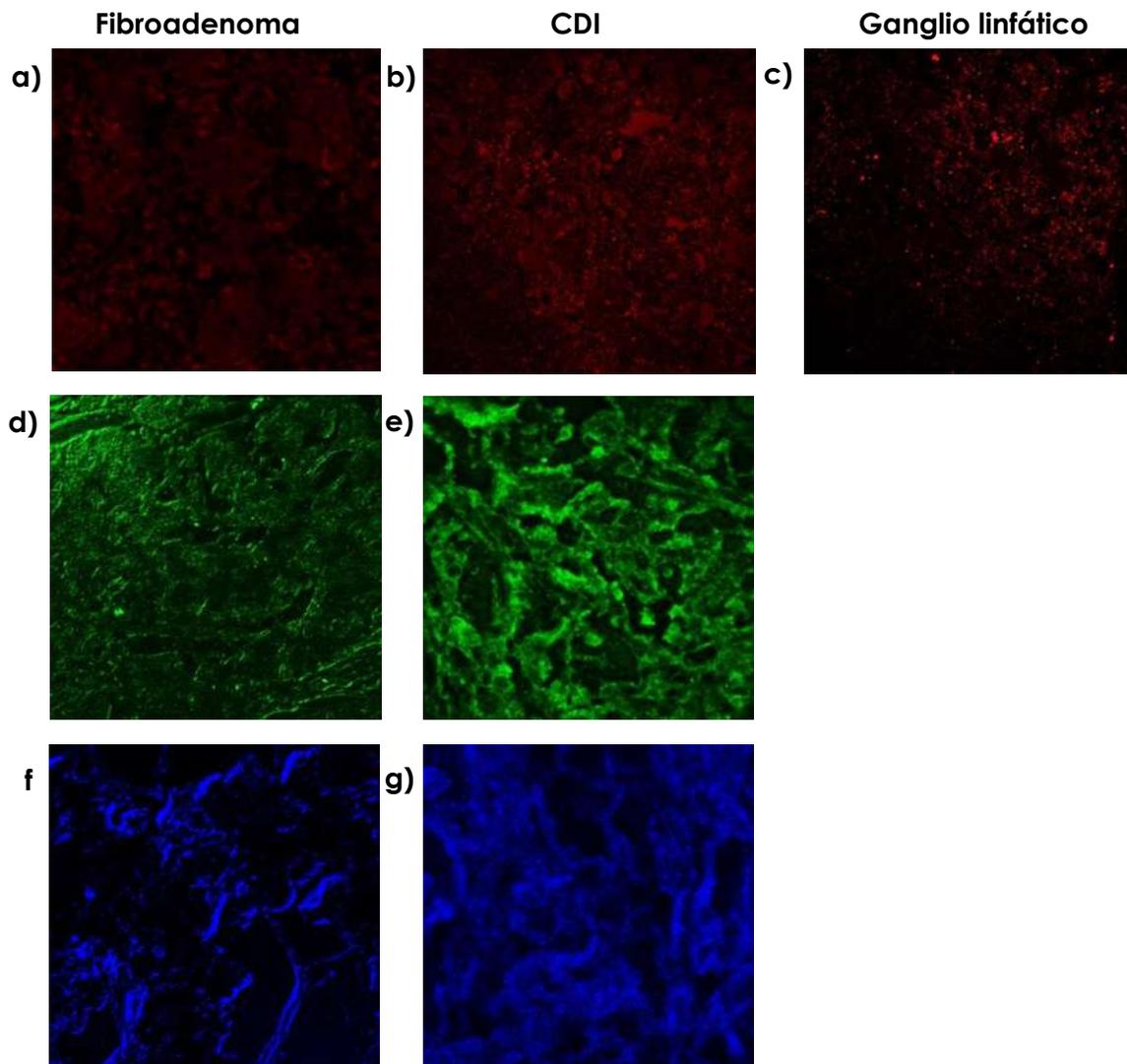


Figura 32. Inmunohistoquímica de tejidos con Ki67, eIF3f y β .actina. a), d) y f) Inmunohistoquímica de fibroadenoma con Ki67, eIF3f y β .actina respectivamente. b), e) y g) Inmunohistoquímica de CDI con Ki67, eIF3f y β .actina respectivamente. c) Inmunohistoquímica de ganglio linfático con Ki67.

b) Determinar y analizar la expresión de eIF3f y Ki67 en los cortes histológicos de cáncer de mama

Para las determinaciones de eIF3f y Ki67 se realizaron las inmunohistoquímicas de triple fluorescencia. A continuación, se ejemplifican algunos casos observando los 3 paneles individuales del marcaje de cada anticuerpo y la sobreposición de éstos (MERGE); son casos de diferente índice proliferativo tomando en cuenta el parámetro de índice mitótico analizado en la determinación del grado histológico por la tinción de H&E.

En la Fig.33 se observa predominancia citoplasmática de eIF3f así como de β -actina y Ki67 pareciera tener puntos de co-localización con eIF3f en las porciones centrales

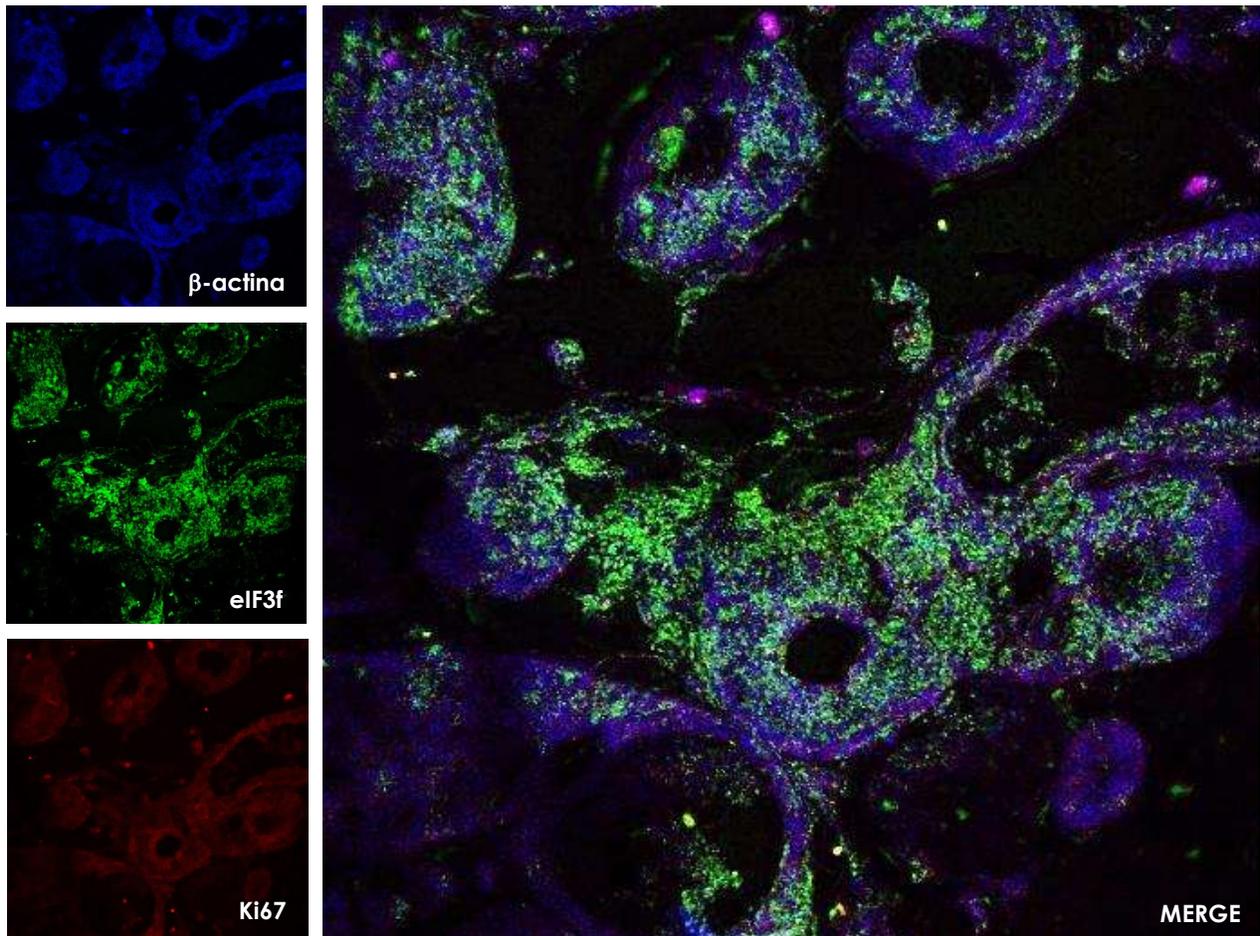


Figura 33. Inmunohistoquímicas de triple fluorescencia en muestras de cáncer de mama de un carcinoma de grado histológico 1.

En la Fig. 34 se observa predominancia citoplásmica de eIF3f, así como, de β -actina hacia las porciones periféricas y Ki67 tiene pobre co-localización con eIF3f en las porciones centrales.

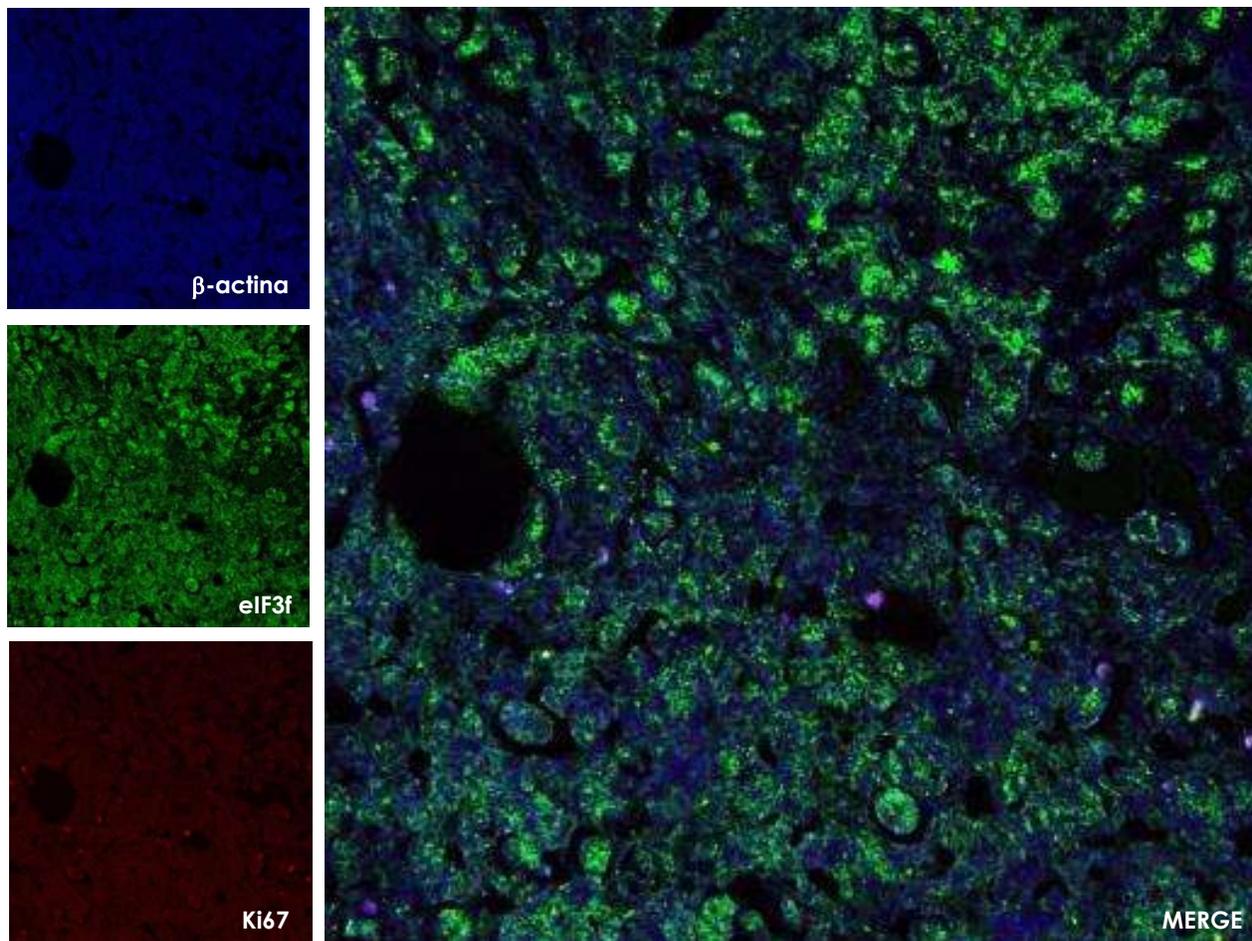


Figura 34. Inmunohistoquímicas de triple fluorescencia en muestras de cáncer de mama de un carcinoma de grado histológico 2.

En la Fig. 35 se observa predominancia citoplásmica de eIF3f, así como de β -actina hacia las porciones periféricas aunque hay mayor intensidad de Ki67 y puntos de co-localización muy intensos en las porciones centrales.

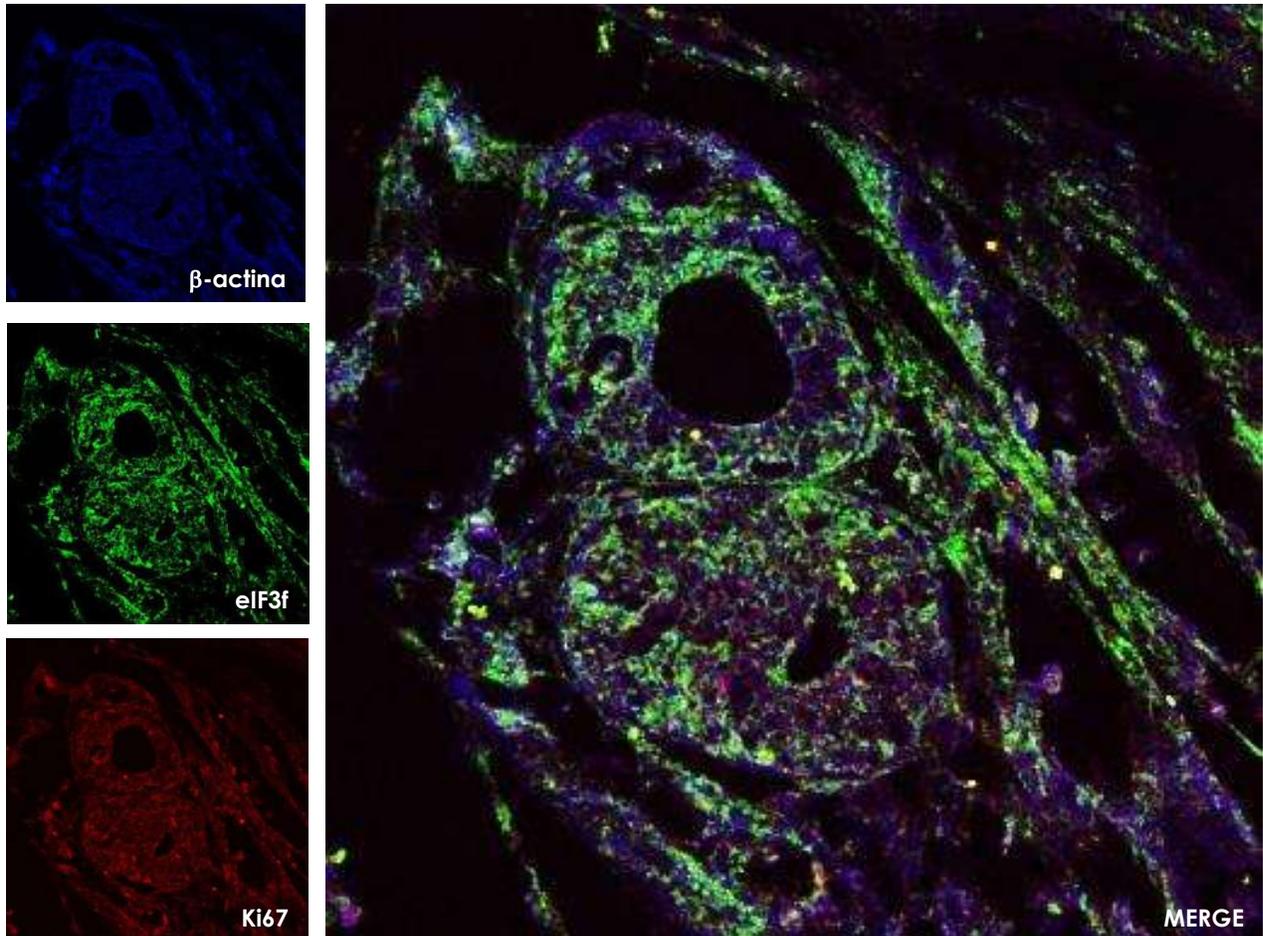


Figura 35. Inmunohistoquímicas de triple fluorescencia en muestras de cáncer de mama de un carcinoma de grado histológico 3.

Por último, en la Fig. 36 es una inmunohistoquímica de los estudios piloto de una muestra de CDI donde se incubaron los anticuerpos de Ki67 conjugado con PerCP Cy 5.5, β -actina conjugado con Alexa Fluor 488 y sólo el fluorocromo Cy3 sin la incubación previa del anticuerpo primario de eIF3f para visualizar el marcaje en ausencia de éste. Observando la predominancia de β -actina y algunos puntos de co-localización con Ki67.

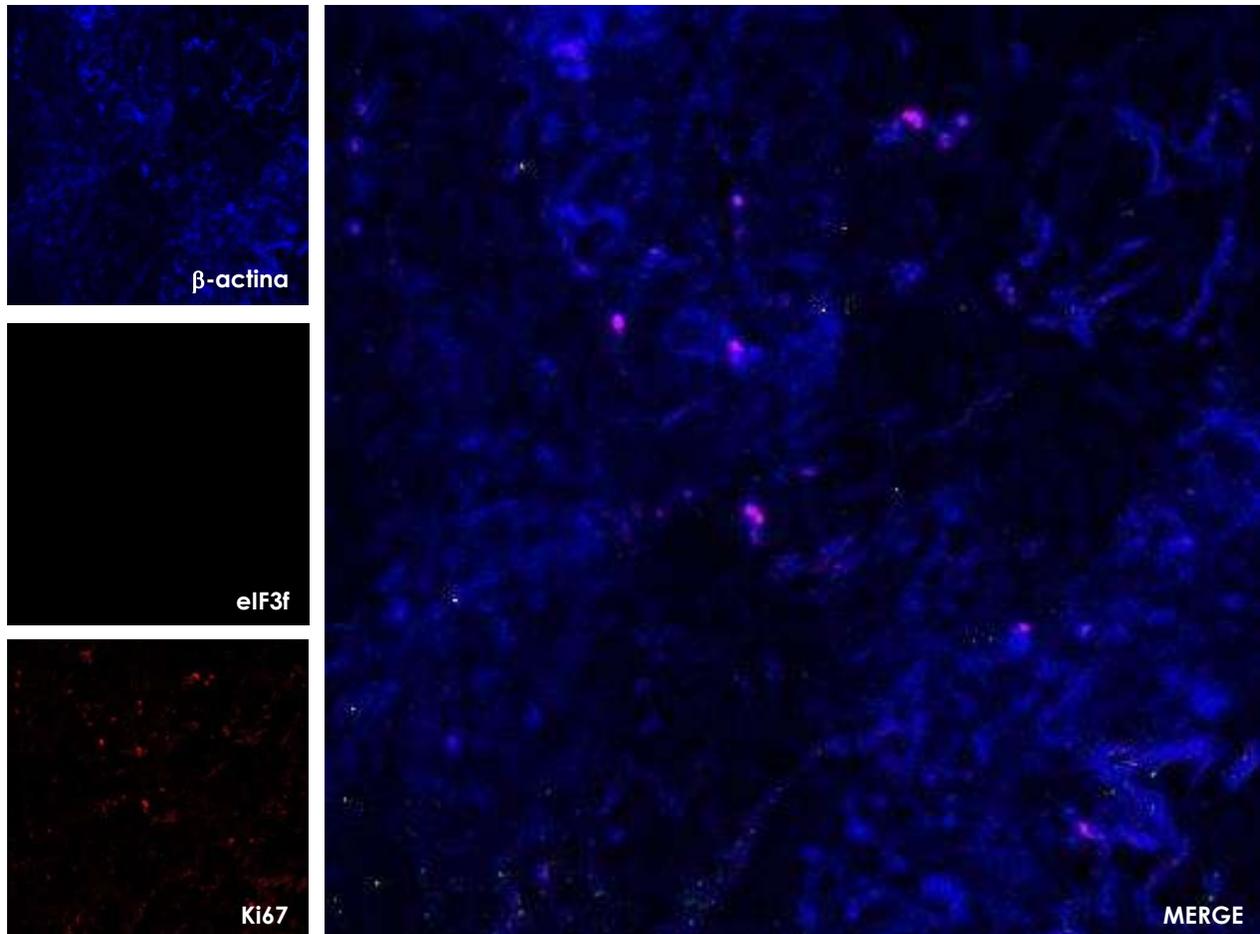


Figura 36. Inmunohistoquímicas de triple fluorescencia en muestras de cáncer de mama de un carcinoma sin anticuerpo primario de eIF3f.

A partir del procesamiento de las imágenes e histogramas adquiridos mediante el software del microscopio, mencionado en el apartado 7.13, se calcularon las medias de los 3 ROI de cada anticuerpo: la intensidad total promedio de β -actina fue 41.784 ± 20.293 ; con una intensidad mínima de 8.081 e

intensidad máxima de 107.585, la intensidad total promedio de eIF3f fue 63.582 ± 49.826 ; con una intensidad mínima de 2.081 e intensidad máxima de 224.653, la intensidad total promedio de Ki67 fue 47.328 ± 26.038 ; con una intensidad mínima de 7.914 e intensidad máxima de 111.657.

Se normalizaron los valores de las intensidades medias de eIF3f y Ki67 entre las intensidades medias de β -actina. El promedio total del valor normalizado de eIF3f fue 1.994 ± 2.148 ; valor mínimo de 0.022 y valor máximo de 10.573, el promedio total del valor normalizado Ki67 fue 1.201 ± 0.530 ; valor mínimo de 0.122 y valor máximo de 2.671.

También se calculó un índice de la expresión de eIF3f respecto a la expresión de Ki67 para saber si una expresión conjunta aporta más información a la descripción del crecimiento neoplásico o al posible pronóstico, <1 ó >1 que significa menor o mayor expresión de eIF3f respecto de Ki67. El promedio total de este índice es 1.508 ± 1.148 ; valor mínimo de 0.044 y valor máximo de 5.185.

Una de las diferencias al momento de evaluar principalmente eIF3f y Ki67 es que la mayoría de los estudios se han realizado con inmunohistoquímica tradicional, en el presente estudio es pionero al implementar anticuerpos fluorescentes para analizar a estos dos marcadores de proliferación celular.

Objetivo 3. Correlacionar la expresión de eIF3f y Ki67

Para hacer las correlaciones primero se realizó la prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov obteniendo un valor de $p < 0.05$, indicativo de una distribución no normal. Dada la distribución no normal, se calculó el coeficiente de correlación de Spearman de las variables de eIF3f normalizado y Ki67 normalizado, el valor del coeficiente es de 0.670 indicativo de una correlación moderadamente fuerte y positiva con significancia de $p=0.01$.

Destacando que no hay estudios donde hayan realizado una correlación o asociación entre eIF3f y Ki67 en cáncer de mama ni en otras neoplasias.

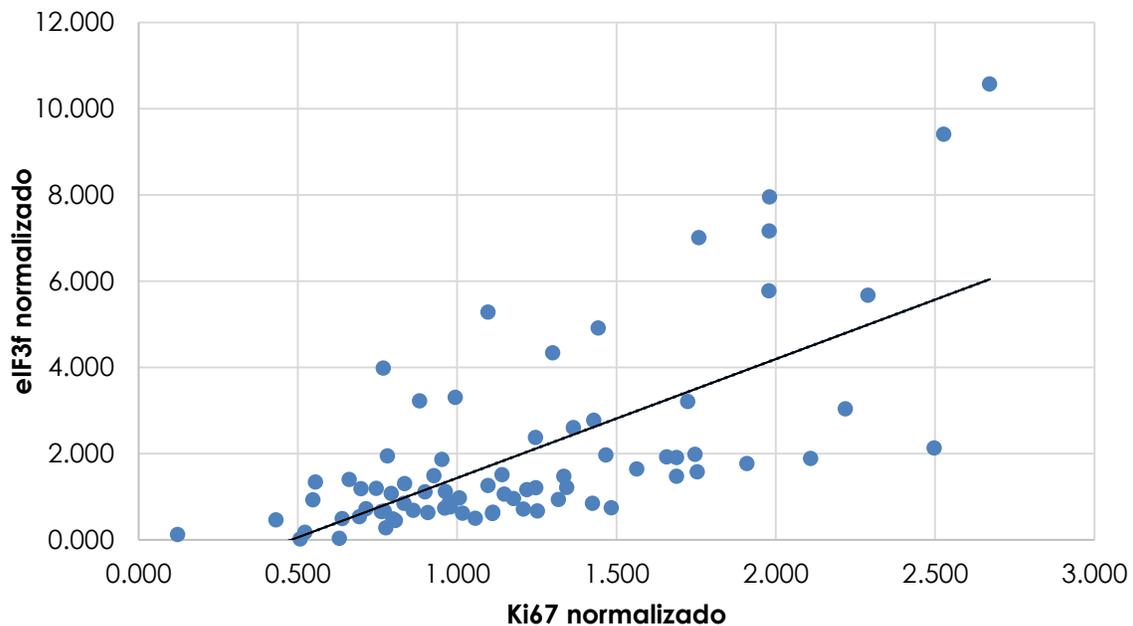


Figura 37. Coeficiente de correlación de Spearman entre eIF3f y Ki67 normalizados.

También se realizó una correlación con el valor de la intensidad de Ki67 normalizado y el porcentaje de células de Ki67 reportado en el expediente por la técnica de inmunohistoquímica convencional, donde no hubo una correlación estadísticamente significativa ($p=0.805$).

En la Fig. 38 se puede apreciar que en porcentajes relativamente bajos de 5 a 40% de células que expresan Ki67 algunas intensidades fluorescentes son elevadas, de igual manera, en porcentajes de células altos de 60 a 90% algunas intensidades fluorescentes son bajas. Planteando la alta sensibilidad de la técnica

de inmunohistoquímica por fluorescencia y lo subjetiva que es la inmunohistoquímica convencional al momento de reportar el porcentaje de células que expresan Ki67.

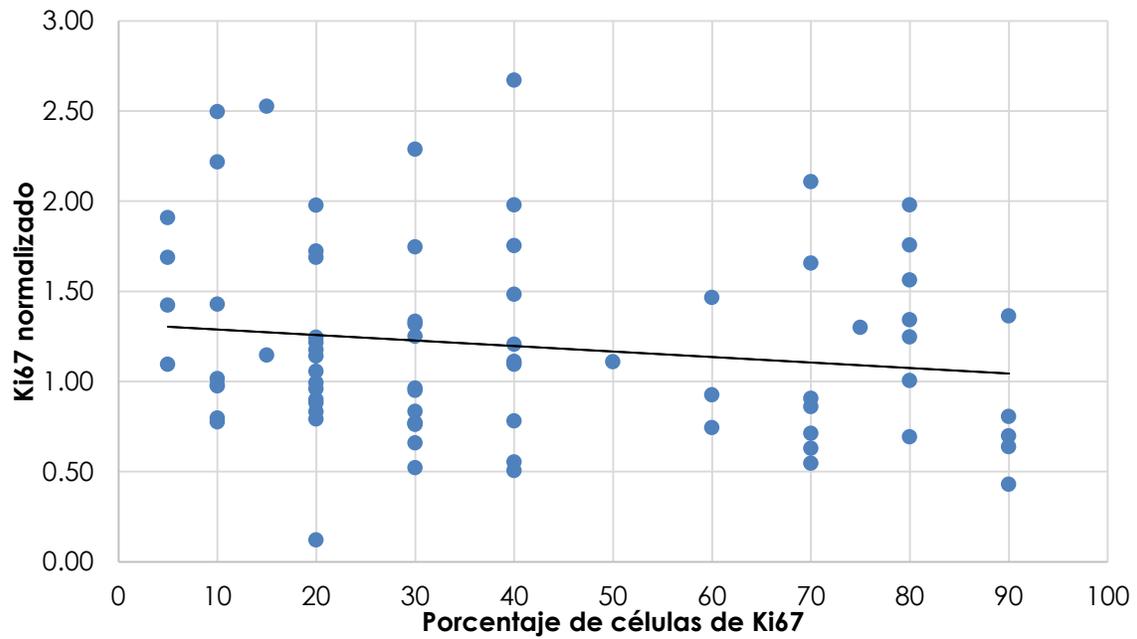


Figura 38. Coeficiente de correlación de Spearman entre el porcentaje de células de Ki67 en IHQ tradicional con la intensidad de fluorescencia de Ki67 normalizados.

Objetivo 4. Asociar la expresión de eIF3f y Ki67 en relación al estadio clínico, grado y tipo histológico, e inmunofenotipo.

a) Estimación de las posibles diferencias en la distribución entre grupos de los parámetros clínico-patológicos

Comparando la intensidad de eIF3f y Ki67 normalizados y del índice de eIF3f/Ki67 se estimaron las diferencias en la mediana de población de cada grupo de los parámetros clínico-patológicos. Encontrando las siguientes diferencias estadísticamente significativas, indicadas en cada gráfica con: * ($p < 0.05$)

En la Fig. 39, en la intensidad de expresión de Ki67 (a) a pesar de no tener diferencias estadísticamente significativas tiene una tendencia de aumento gradual entre los estadios clínicos, lo cual se relaciona con los antecedentes de Ki67 y recientemente, Kanyilmaz *et al.* (2019) lo asociaron a un estadio T más alto y un estadio N más alto; la intensidad de expresión de eIF3f (b) varía entre los estadios y se encontró una diferencia significativa entre el ECI - ECII B ($p=0.027$). También se observa una tendencia de aumento al igual que Ki67. En cuanto al índice eIF3f/Ki67 (c), el comportamiento es similar al observado en la intensidad de eIF3f, encontrando diferencias significativas entre dos grupos ECI - ECII A ($p=0.040$) y ECI - ECIII A ($p=0.020$).

Por las diferencias encontradas se hizo una estratificación de los estadios clínicos de acuerdo a la descripción de la estadificación TNM: los EC0 y ECI son estadios tempranos; la neoplasia está restringida a la mama sin diseminación a ganglios linfáticos ni otras partes del cuerpo, los estadios II (A, B), III (A, B, C) y IV son estadios avanzados; hay crecimiento tumoral con una afectación a ganglios linfáticos o una diseminación a otras partes del cuerpo. Encontrando diferencias estadísticamente significativas en la intensidad de expresión de eIF3f (b) ($p=0.035$) y del índice de eIF3f/Ki67 (c) ($p=0.024$) expresándose aún más en estadios avanzados (Fig.40). Lo cual se asemeja a lo reportado por Cheng *et al.* (2014) y Guanghua Li *et al.* (2014) que encontraron una asociación de la expresión de eIF3f con estadios tumorales más avanzados en neoplasias como cáncer gástrico.

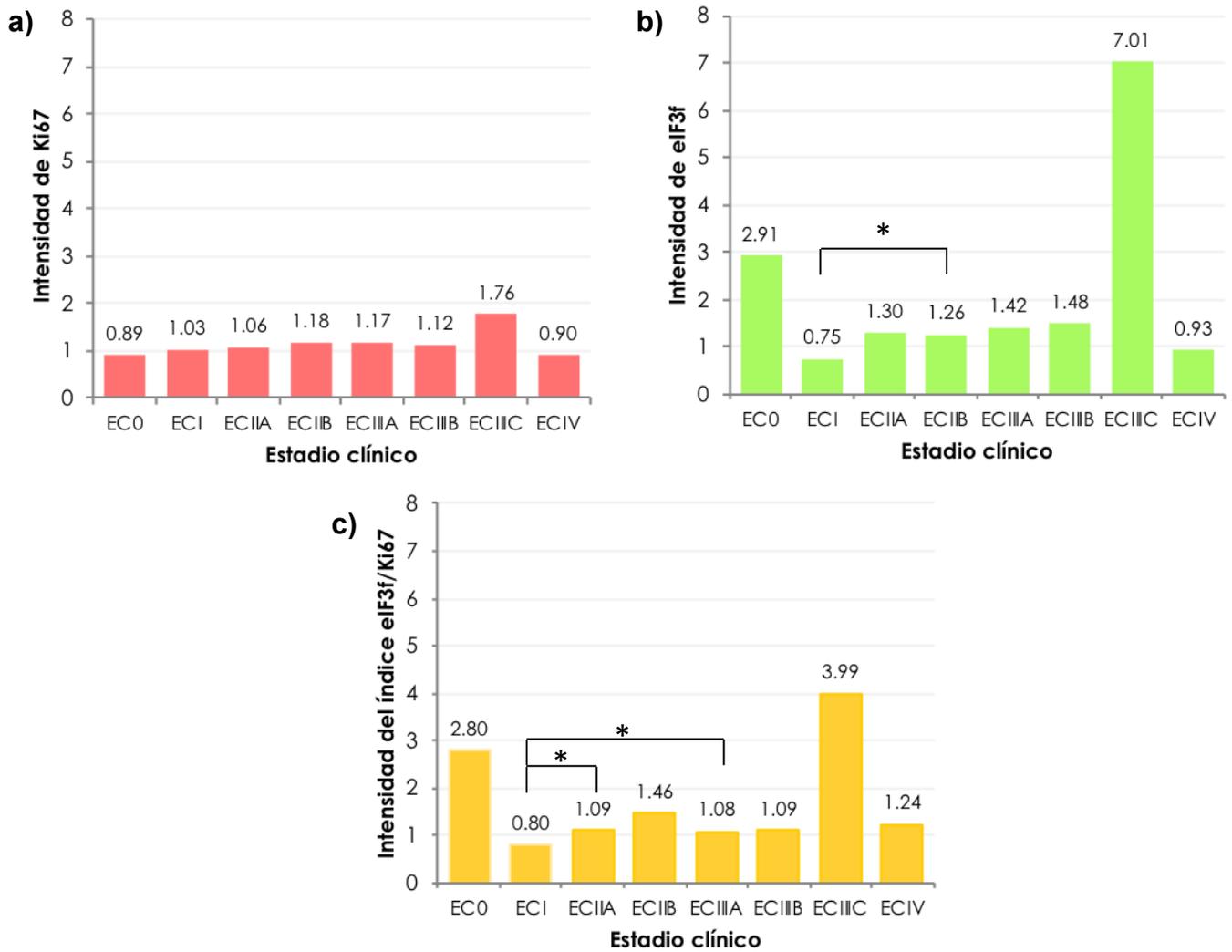


Figura 39. Distribución de la intensidad de Ki67 (a), eIF3f (b) e índice eIF3f/Ki67 (c) en relación al estadio clínico

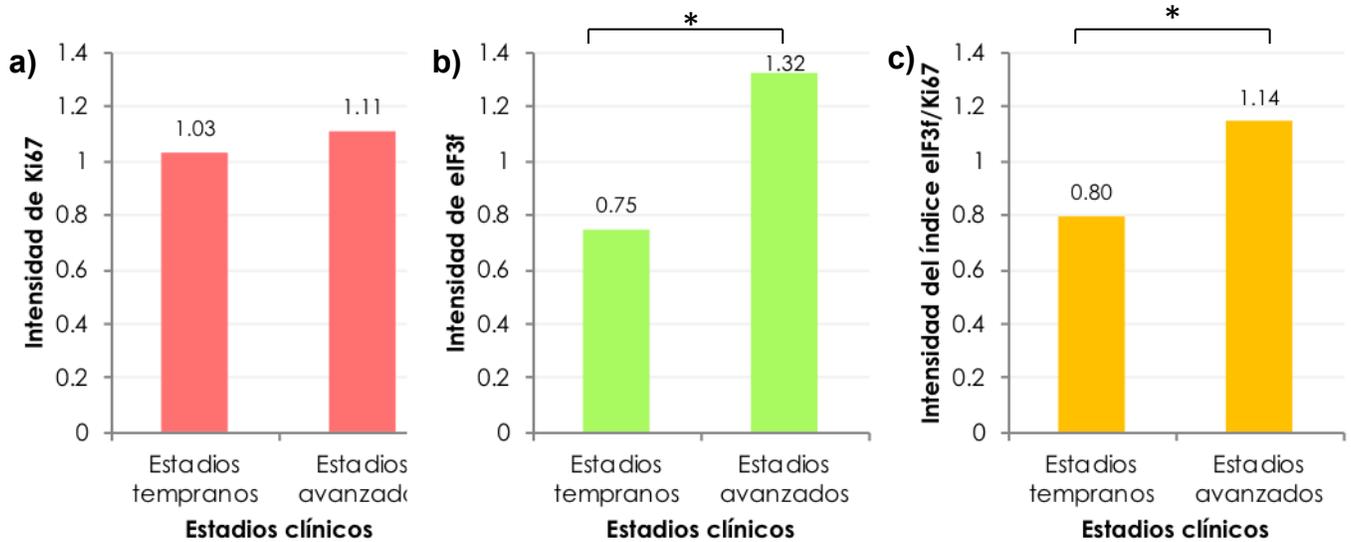


Figura 40. Distribución de la intensidad de Ki67 (a), eIF3f (b) e índice eIF3f/Ki67 (c) en relación a la estratificación del estadio clínico

En la Fig. 41, la intensidad de expresión de Ki67(a) no tiene diferencias estadísticamente significativas ni tampoco una tendencia entre inmunofenotipos; en la intensidad de eIF3f (b) y en la intensidad del índice eIF3f/Ki67 (c) hay una diferencia estadísticamente significativa entre el Luminal B/Her2(+) -Triple negativo ($p=0.044$ y $p=0.038$, respectivamente), además se observa una tendencia en aumento entre los inmunofenotipos de tipo Luminal considerados de mejor pronóstico, empezando por Luminales A seguido Luminales B y los considerados como de peor pronóstico Her2 (+) y triple negativo hay más expresión en Her 2 (+)

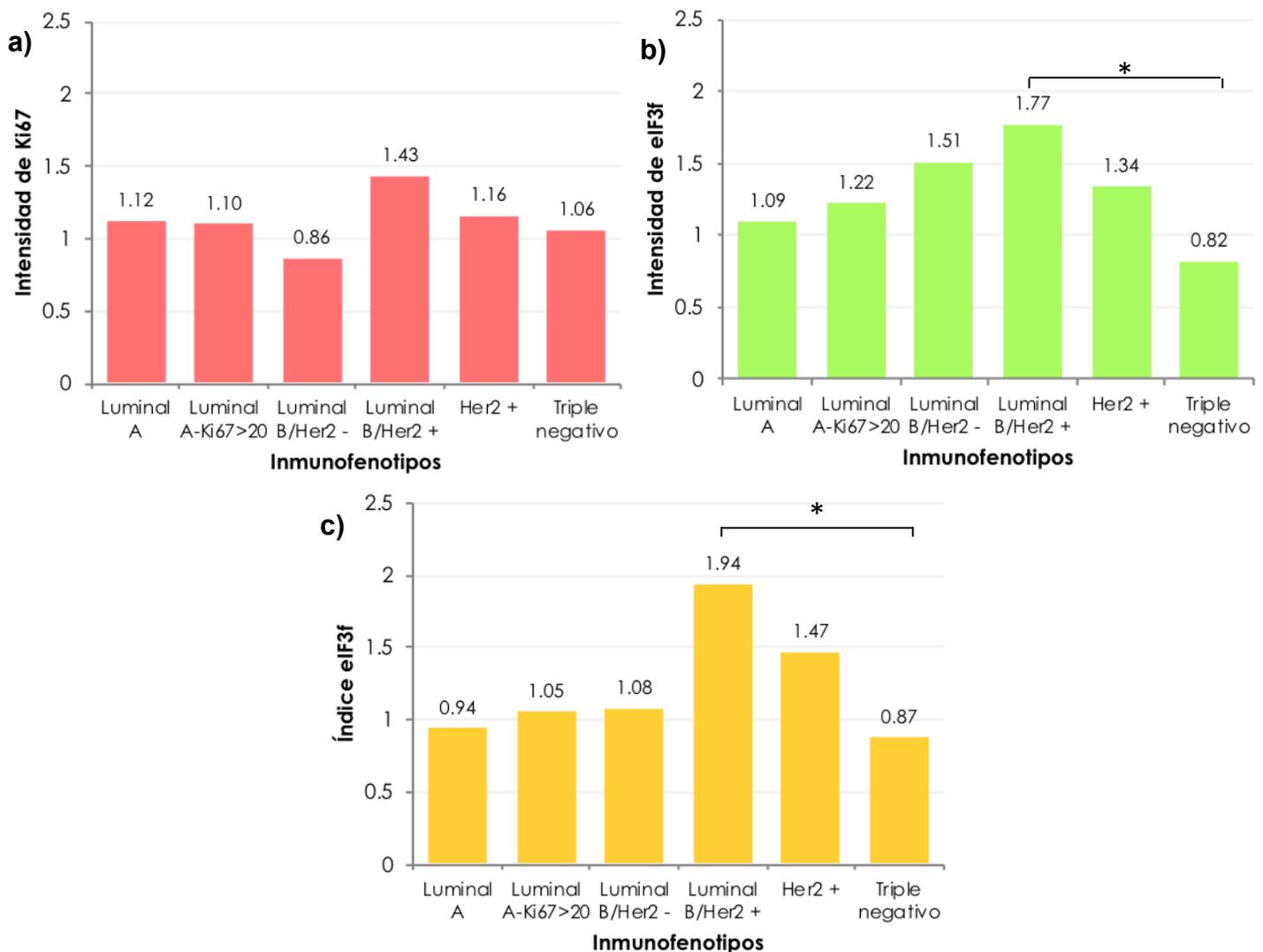


Figura 41. Distribución de la intensidad de Ki67 (a), eIF3f (b) e índice eIF3f/Ki67 (c) en relación al inmunofenotipo

También se hizo una estratificación de los inmunofenotipos de acuerdo al pronóstico: mejor pronóstico [Luminal A, Luminal A-Ki67>20, Luminal B/Her2 (-), Luminal B/Her2 (+)] y peor pronóstico [Her2 (+), triple negativo] (Fig. 42). No hubo una diferencia significativa en ninguna de las 3 intensidades pero en la intensidad de eIF3f (b) se observa que hay más expresión en inmunofenotipos de peor pronóstico (Fig. 42).

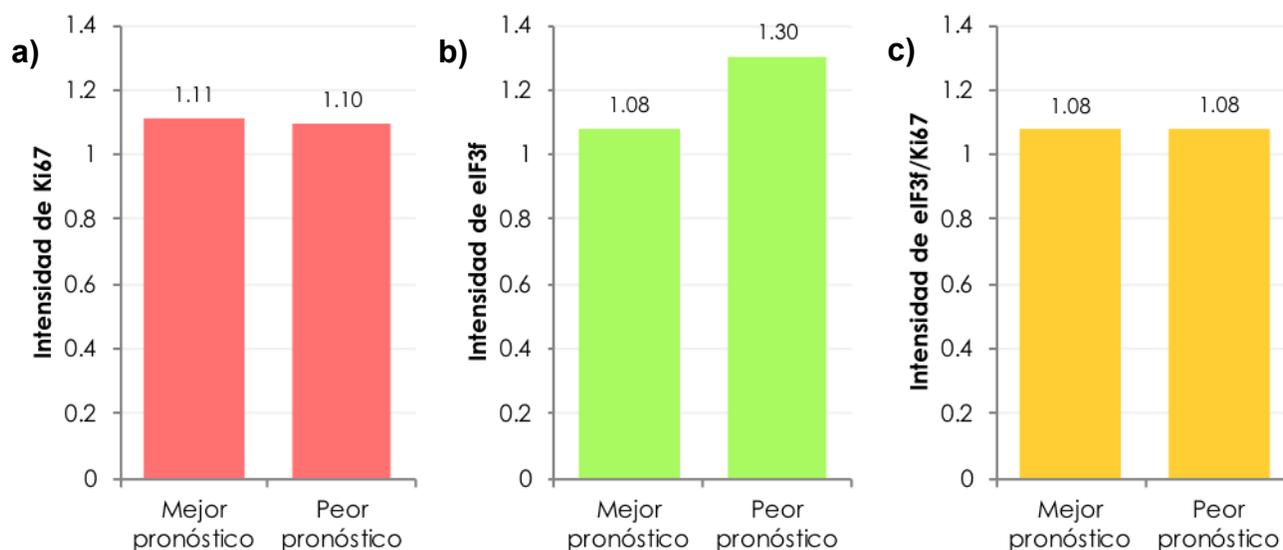


Figura 42. Distribución de la intensidad de Ki67 (a), eIF3f (b) e índice eIF3f/Ki67 (c) en relación al pronóstico

Dado lo observado entre los inmunofenotipos, se analizó la expresión en relación a la expresión molecular de los RE, RP y Her2, encontrando sólo diferencias estadísticamente significativas en relación a la expresión de Her2 (Fig. 43) en la intensidad de Ki67 ($p=0.024$) se observa que la intensidad de expresión de Ki67 es mayor cuando Her2 es positivo. Wiesner et al. (2009) encontraron correlación entre el índice de proliferación de Ki67 y la expresión Her 2 y Nishimura *et al.* (2010) reportaron que un índice de Ki67 >20% se asociaba con la expresión de Her2 positiva, datos que se asemejan nuestros resultados.

La intensidad de eIF3f también fue estadísticamente significativa ($p=0.012$) siendo mayor la intensidad de expresión de eIF3f cuando Her2 es positivo,

resultado que se asemeja a Cheng *et al.* (2015) quienes reportaron que tejidos de cáncer gástrico con una alta sobreexpresión de eIF3f, especialmente en la intensidad de tinción 3+, también presentaban un alto nivel de inmunotinción de Her2 y estas expresiones estaban estrechamente relacionadas con el estadio clínico y la metástasis o recurrencia de cáncer gástrico.

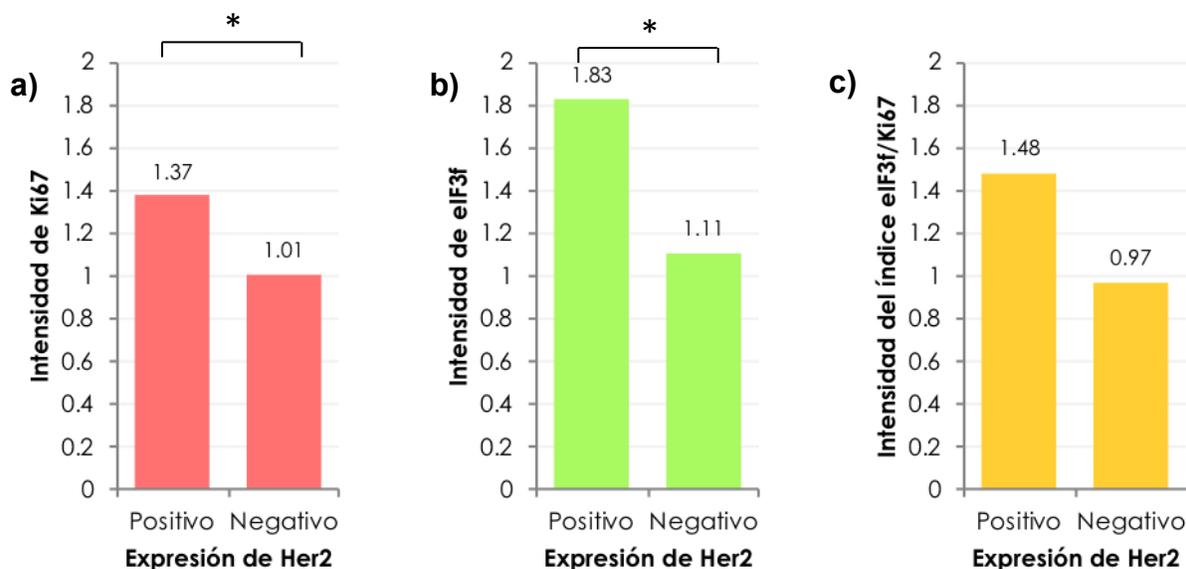


Figura 43. Distribución de la intensidad de Ki67 (a), eIF3f (b) e índice eIF3f/Ki67 (c) en relación a la expresión molecular de Her2

b) Asociación de la expresión conjunta de eIF3f y Ki67

Con las tendencias y distribuciones estadísticamente significativas observadas en la intensidad de eIF3f y Ki67 e índice de eIF3f/Ki67, se analizaron las posibles asociaciones (χ^2) del índice de eIF3f/Ki67 con los parámetros clínico-patológicos.

Se analizó si había alguna asociación con los parámetros TNM que se toman en cuenta para la clasificación del estadio clínico, encontrando asociación estadísticamente significativa en relación al tamaño del tumor ($p=0.003$), estratificando en un tamaño del tumor < a 2 cm y un tamaño de tumor > a 2 cm. De acuerdo a la expresión de eIF3f respecto a la de Ki67, el 47.8% tiene una menor expresión de eIF3f/Ki67; 20.3% en tumores < 2 cm y 27.5% en tumores > 2

cm y el 52.2% corresponde a una mayor expresión de eIF3f/Ki67, de éste porcentaje se observa una gran diferencia, 5.8% en tumores < 2cm y 46.4% en un tumor >2 cm. Predominando la mayor expresión de eIF3f/Ki67 en tumores > 2 cm (Fig. 44).

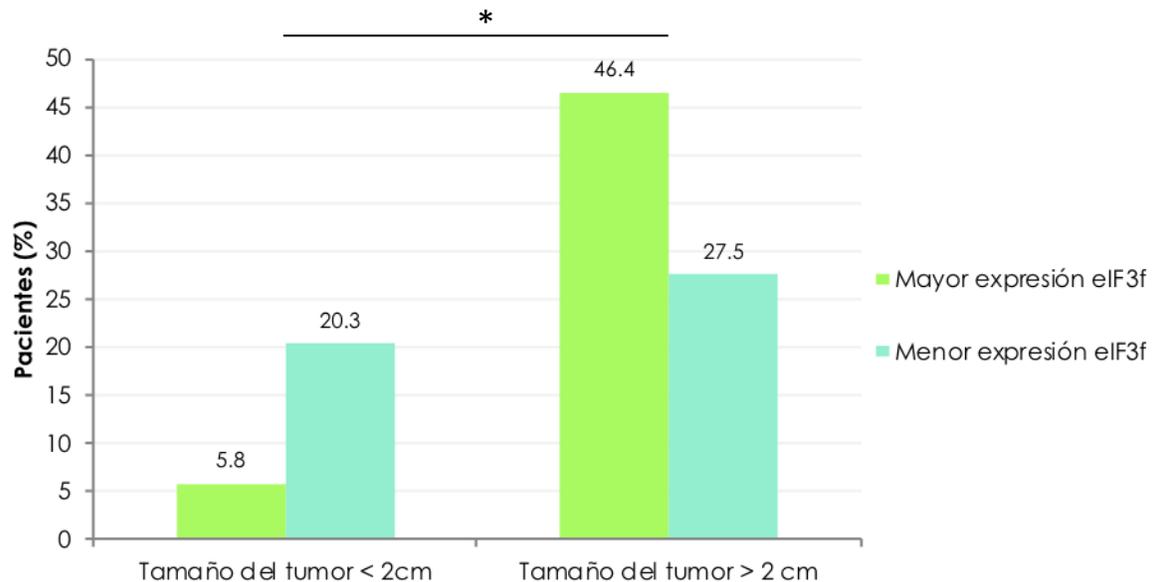


Figura 44. Asociación del índice eIF3f/ki67 en relación al tamaño tumoral

Ahora bien, la asociación en relación a los estadios clínicos (Fig. 45) fue estadísticamente significativa entre los estadios clínicos: ECI – ECIIA ($p=0.016$), ECI – ECIIIB ($p=0.017$), ECI – ECIIIA ($p=0.046$), ECI – ECIIIB ($p=0.015$). Observando que en el ECI predomina la menor expresión de eIF3f/Ki67 y en ECII (A, B), III (A, B, C) y IV predomina la mayor expresión de eIF3f/Ki67.

Se hizo la misma estratificación del estadio clínico que en la Fig. 40, en estadios tempranos (EC0, ECI) y estadios tardíos (ECII, ECIII, ECIV) encontrando asociaciones estadísticamente significativas ($p=0.008$). En tumores tempranos predomina la menor expresión de eIF3f/Ki67 y en tumores avanzados predomina la mayor expresión de eIF3f/Ki67 (Fig. 46).

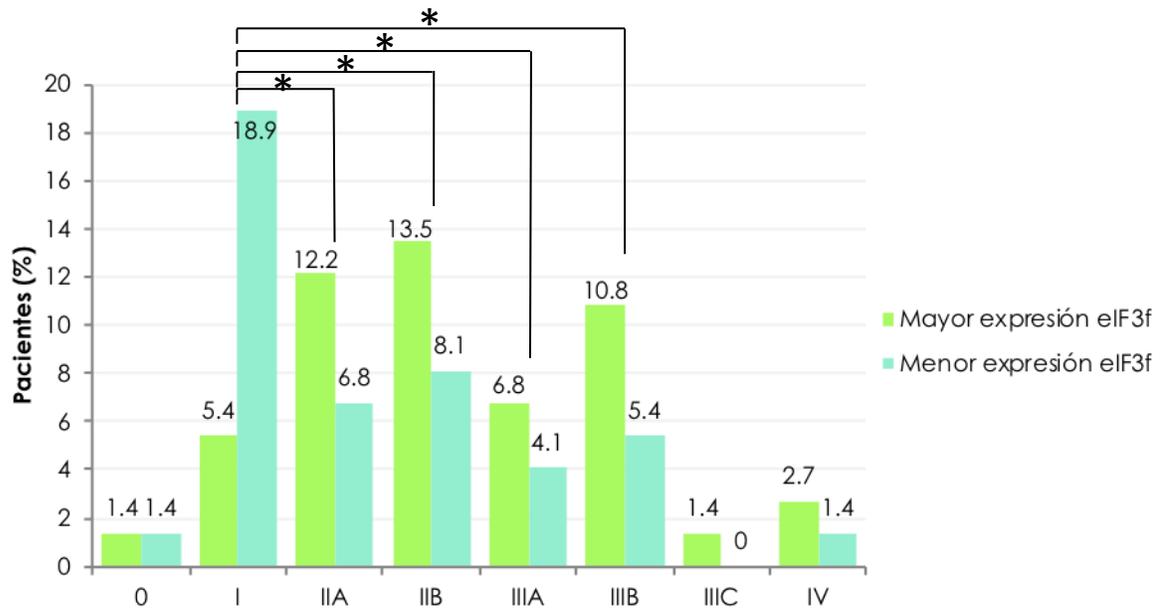


Figura 45. Asociación del índice eIF3f/Ki67 en relación al estadio clínico

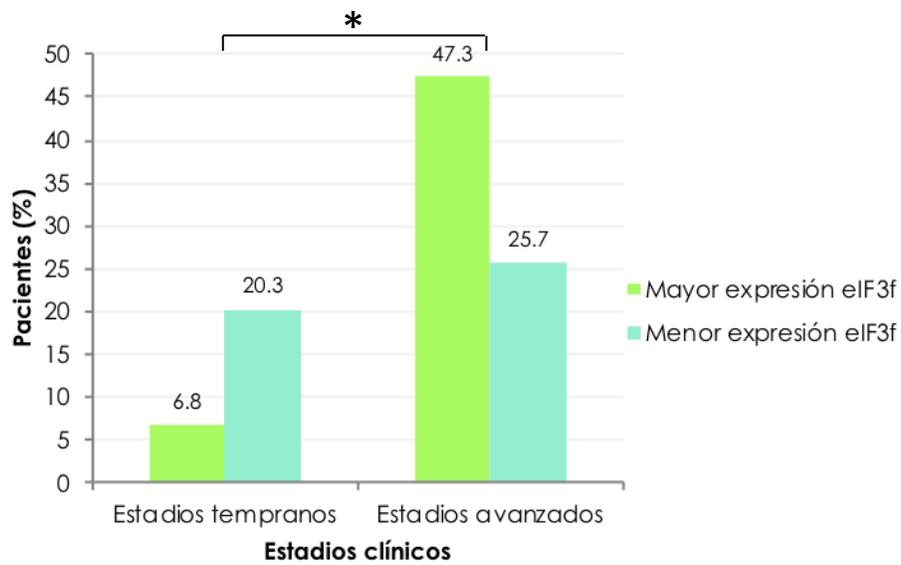


Figura 46. Asociación del índice eIF3f/Ki67 en relación a la estratificación del estadio clínico

Con los resultados obtenidos y haciendo referencia a lo que en el 2013, Sanchez *et al.* evaluaron respecto a la función que desempeñaba eIF3f en el mantenimiento del tamaño del músculo esquelético. Reportan que la sobreexpresión de eIF3f da como resultado hipertrofia a través de la modulación de la síntesis de proteínas mediada por la vía mTORC1. De manera análoga, se

podría considerar que un tumor de mama de gran tamaño y en etapa avanzada disminuye su velocidad de proliferación en aras de hipertrofiar sus células, lo que las haría más viables para su invasividad y extensión metastásica.

Otra posibilidad, sería que algunos de los rasgos característicos del cáncer en general es la autosuficiencia en señales de crecimiento, insensibilidad a las señales inhibidores del crecimiento, alteración del metabolismo celular, potencial ilimitado de replicación (Kumar *et al.*, 2015). Para ayudar al crecimiento celular se desencadena varias vías de activación para la síntesis de macromoléculas principalmente de síntesis de proteínas donde está involucrado eIF3f, así como, la replicación del ADN donde eIF3f tiene un pico de expresión en fase S. Por lo que en los estadios clínicos avanzados, el encontrar una intensidad mayor de expresión de eIF3f se deba a la constante síntesis de proteínas y el que la intensidad de Ki67 sea menor en estos casos se deba a que las células no están ciclando activamente. En otras palabras, se podría hablar de una proliferación celular lenta desde la fase G1 a la fase S y hasta que la célula tenga las condiciones del entorno adecuadas proceda a la fase de Mitosis y es por ello que casos donde apenas se palpaba el tumor al poco tiempo su crecimiento haya aumentado de manera abismal. En caso contrario donde hay menor expresión de eIF3f sobre Ki67, lo que se observa en los estadios tempranos, recordando que la expresión de Ki67 aumenta de forma gradual desde la fase G1 hasta la fase M y empieza su degradación en fase G0-G1, el que haya continuas mitosis y la acumulación de Ki67 a lo largo del ciclo celular, es decir, que hay numerosas mitosis y nos hablaría de una proliferación celular constante y rápida.

En la Fig. 47 se muestra la asociación del índice de eIF3f/Ki67 en relación a los inmunofenotipos, se encontró una asociación estadísticamente significativa entre los inmunofenotipos Her2 (+) – Triple negativo ($p=0.045$), considerados de peor pronóstico. En Her 2 (+) se observa que predomina la mayor expresión de eIF3f/Ki67, caso contrario con el triple negativo, donde predomina la menor expresión de eIF3f/Ki67.

No hay una asociación estadísticamente significativa con los inmunofenotipos de tipo Luminal. Sin embargo, se observa que en el Luminal A

predomina la menor expresión de eIF3f/Ki67 y en Luminal A-Ki67>20, Luminal B/Her2 (-/+) predomina la mayor expresión de eIF3f/Ki67.

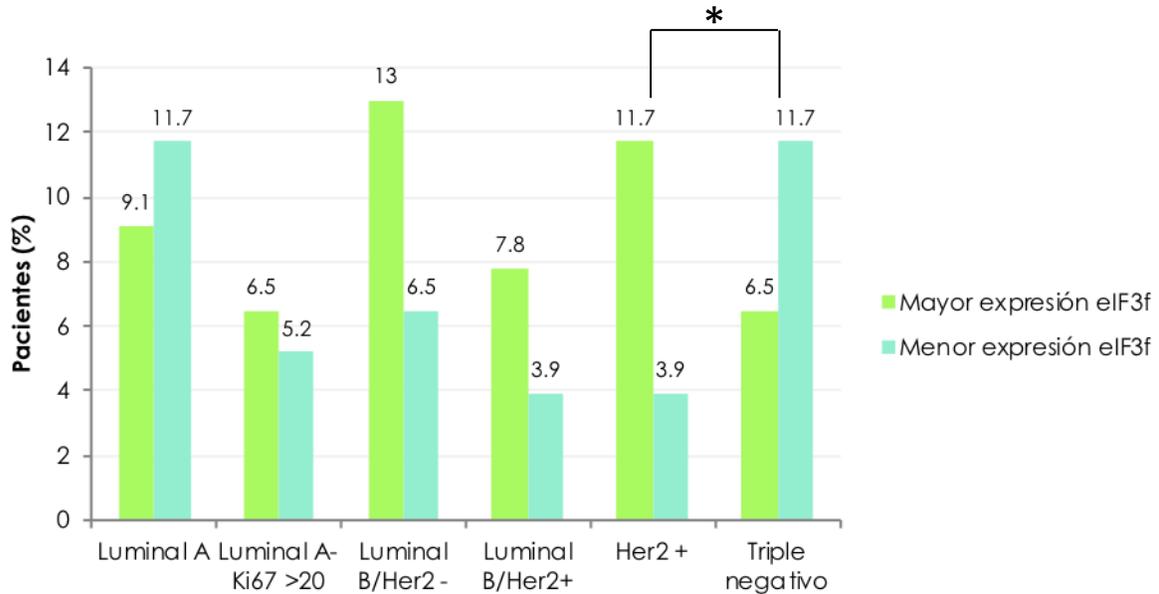


Figura 47. Asociación del índice eIF3f/Ki67 en relación al inmunofenotipo

En el presente estudio se encontró una relación (proporcional) de intensidad de expresión de eIF3f y Her 2 (+), ambos interactúan en la vía PI3K-Akt, mostrado a continuación (Fig. 48):

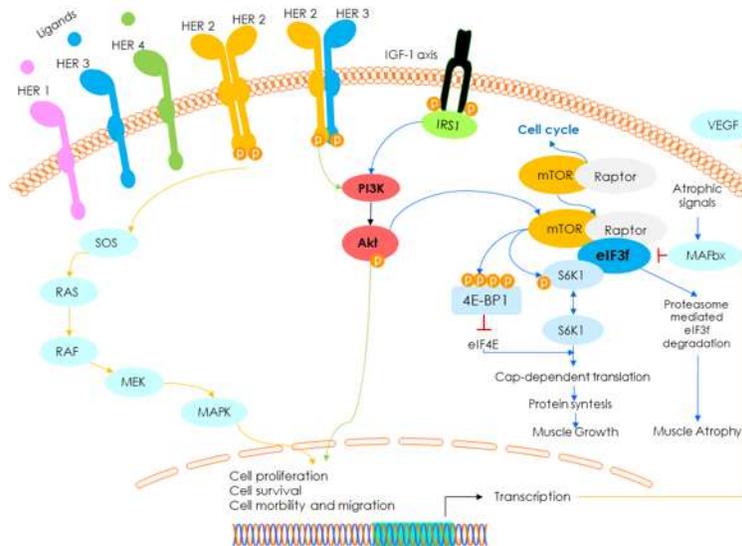


Figura 48. Vía de señalización de activación de la activación de Her y síntesis proteica (Esquema adaptado: Pohlmann *et al.*, 2009; Sanchez *et al.*, 2013)

c) Estimación de las diferencias en la distribución y las asociaciones entre la intensidad de eIF3f, Ki67 e índice eIF3f/Ki67 con los factores de riesgo.

Se encontró una significancia en la intensidad de expresión de Ki67 entre los grupos de sobrepeso - obesidad G1 ($p=0.024$). Hay estudios que han relacionado a Ki67 con el IMC; Borgquist *et al.* (2009) asociaron un alto IMC con un índice de Ki67 bajo y Nattenmüller *et al.* (2018) asociaron un IMC más alto con un mayor riesgo de tumores menos agresivos en mujeres posmenopáusicas no usuarias de terapia hormonal (Fig.49).

También hubo significancia en la intensidad de expresión de eIF3f entre los grupos de sobrepeso - obesidad G1 ($p=0.028$) y sobrepeso – obesidad G2 ($p=0.029$). Hay un estudio que realizó Bolaños Cornejo (2011) donde propuso un modelo de la participación de eIF3f en el metabolismo de lípidos; evaluó los cambios de concentración del colesterol y como resultado reporta que en células humanas tumorales A549 y HepG2, durante la desregulación de la expresión de eIF3f, hay una mayor acumulación del colesterol durante la sobreexpresión de eIF3f (Fig. 49).

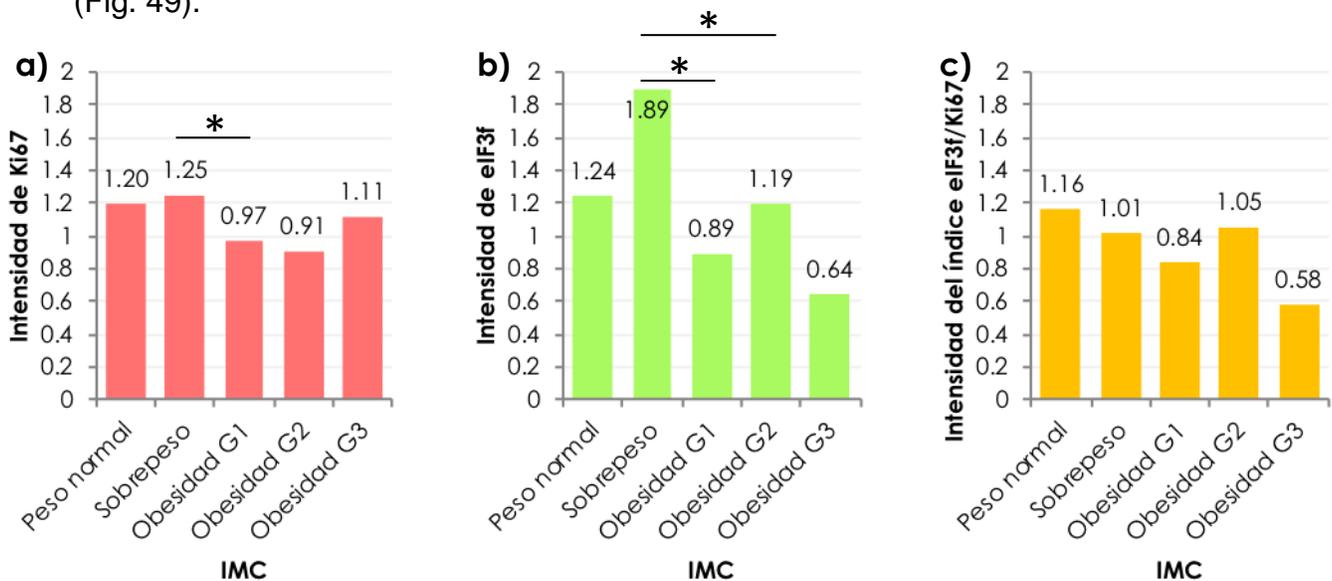


Figura 49. Distribución de la intensidad de Ki67 (a), eIF3f (b) e índice eIF3f/Ki67 (c) en relación al IMC

También se encontraron diferencias significativas en las intensidades de Ki67 y eIF3f en relación a la exposición a estrógenos exógenos ya sea el uso de

hormonas o terapia hormonal ($p=0.015$, $p=0.022$), por la distribución observada en eIF3f, es menor en aquellas que tuvieron una exposición a estrógenos exógenos (Fig. 50). Cuesta *et al.* (2019) realizaron un estudio con células MCF7, donde demostraron que el receptor de estrógenos α unido a estrógenos regula la traducción del ARNm. Reportan que esta regulación ocurre por dos mecanismos: el primero al mantener niveles adecuados de la subunidad eIF3f y segundo, activando la vía mTORC1 para facilitar el ensamblaje del complejo de preiniciación 48S a través de la interacción de eIF3 y eIF4G. Sugiriendo que cualquier estrategia terapéutica que tenga como objetivo inducir la expresión de eIF3f puede ser eficaz para el tratamiento de cánceres de mama con RE positivos, en particular aquellos con niveles bajos de eIF3f.

Hubo una distribución significativa en la intensidad de expresión del índice de eIF3f/Ki67 en relación al estado de periodo hormonal ($p=0.021$) y también una asociación estadísticamente significativa ($p=0.054^*$, prueba exacta de Fisher unilateral $p=0.044$); en mujeres menstruantes predomina la expresión mayor de eIF3f/Ki67 y en mujeres menopáusicas predomina la menor expresión de eIF3f/Ki67 (Fig. 51). Los niveles de estrógeno disminuyen en un estado menopáusico, contrario a un estado menstruante donde los niveles hormonales son elevados, lo cual explicaría dicha asociación. Se ha reportado que la expresión de eIF3f está estrechamente controlada por RE α a nivel transcripcional y traduccional (Cuesta *et al.*, 2019).

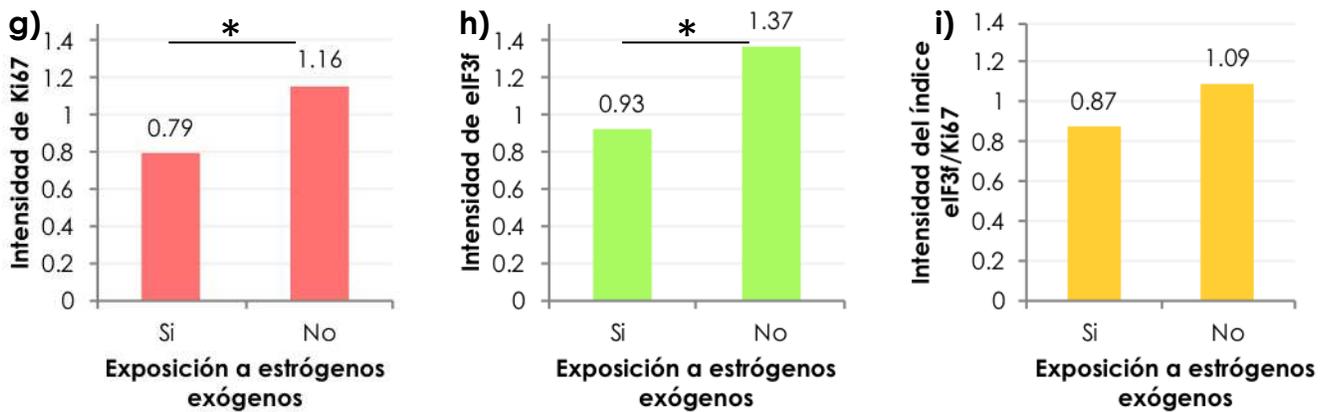


Figura 50. Distribución de la intensidad de Ki67 (a), eIF3f (b) e índice eIF3f/Ki67 (c) en relación a la exposición de estrógenos exógenos

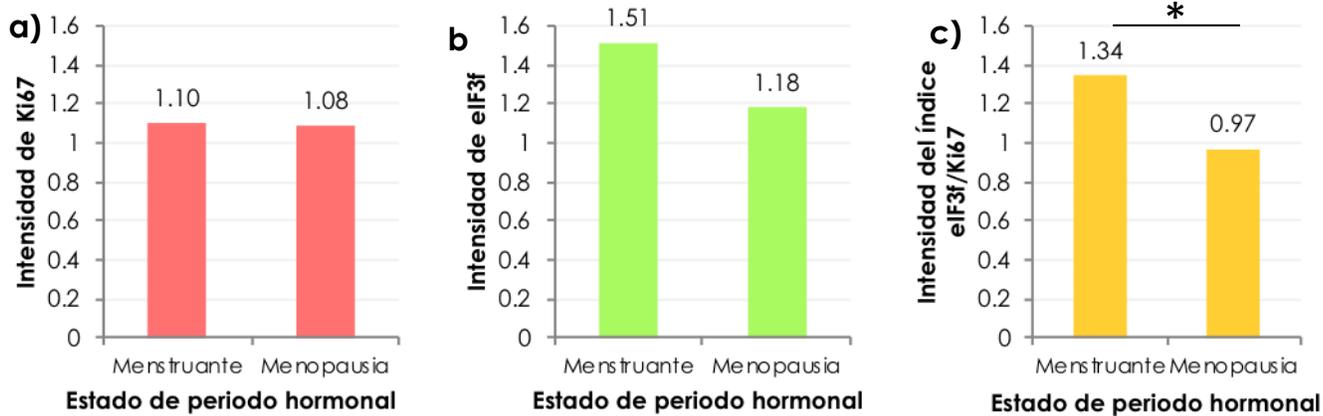


Figura 51. Distribución de la intensidad de Ki67 (a), eIF3f (b) e índice eIF3f/Ki67 (c) en relación al estado de periodo hormonal

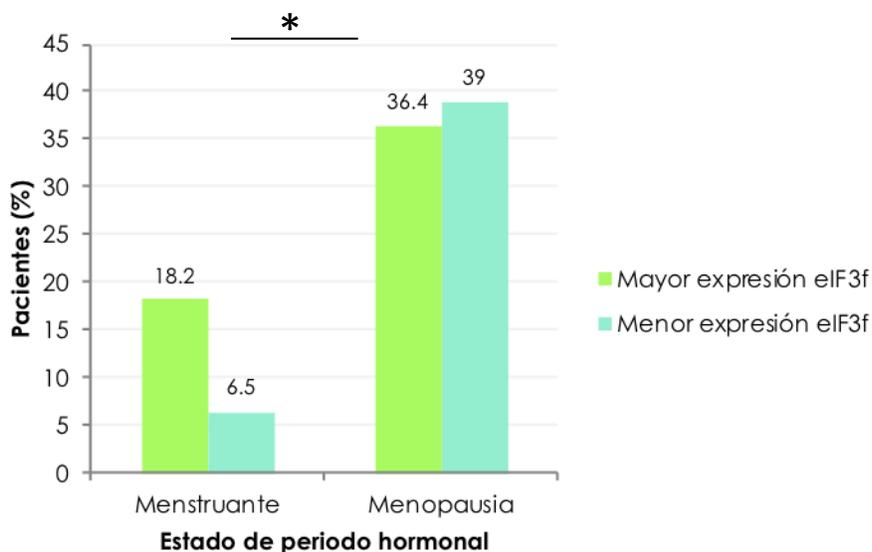


Figura 52. Asociación del índice eIF3f/Ki67 en relación al estado del periodo hormonal

En el objetivo 3 y 4 se planteó hacer la estimación de diferencias en la distribución y posibles asociaciones de la intensidad de eIF3f, Ki67 y el índice de eIF3f/Ki67 entre el grado y tipo histológico, las cuales en ninguno de los dos fueron estadísticamente significativas.

9. CONCLUSIÓN

- ▶ De manera independiente eIF3f y Ki67 tienen tendencias y asociaciones con parámetros clínico-patológicos en cáncer de mama incluyendo factores de riesgo.
- ▶ eIF3f y Ki67 tienen una correlación de concentración estadísticamente significativa.
- ▶ La expresión conjunta eIF3f/Ki67 tiene asociación con el tamaño tumoral, estadios clínicos. Asimismo, nos permite diferenciar entre estadios clínicos tempranos y avanzados.
- ▶ La expresión individual de eIF3f mostró una distribución estadísticamente significativa a la expresión del receptor Her 2, y la medición en conjunto eIF3f/Ki67 >1 mostró una asociación al inmunofenotipo Her 2 (+), considerado como un factor de peor pronóstico en cáncer de mama.
- ▶ Se comprueba la hipótesis: la evaluación conjunta de la expresión de eIF3f y Ki67 sí agrega valor pronóstico a la caracterización del crecimiento neoplásico de cáncer mamario.

10. PERSPECTIVAS

Este estudio podría repetirse contemplando un mayor número de casos a los 77 que incluyo en este estudio considerado piloto. También sería conveniente incluir pacientes de un periodo de al menos 5 años de evolución para evaluar la posible asociación en la supervivencia y/o recurrencia. Considerando que en un futuro se contemple a eIF3f como un marcador adicional a Ki67, se sugiere que además de utilizar la técnica de inmunofluorescencia se realice con la técnica de inmunohistoquímica convencional contabilizando el porcentaje de células que expresen ambos marcadores por separado. La razón de lo anterior es que la inmunofluorescencia requiere mayor inversión y equipo especializado como el microscopio confocal que en instituciones del sector público y laboratorios de histopatología difícilmente podrían equiparse. Adicionalmente, sería útil un marcador que identifique las células que se encuentran en replicación o mitosis, donde una opción podría ser DAPI.

11. BIBLIOGRAFÍA

- Alberto S., Del C., Javier L. y Villegas G. (2012). Cáncer de mama asociado a mutaciones genéticas de los BRCA 1 y 2. (2), 185–199.
- Aravind L. y Ponting C. P. (1998). Homologues of 26S proteasome subunits are regulators of transcription and translation. *Protein Science*, 7(5), 1250–1254. <https://doi.org/10.1002/pro.5560070521>
- ASCO, A. S. of C. O. (2018). Cáncer de mama: Tipos de tratamiento. Retrieved from <https://www.cancer.net/es/tipos-de-cáncer/cáncer-de-mama/tipos-de-tratamiento>
- Borgquist S., Jirström K., Anagnostaki L., Manjer J. y Landberg G. (2009). Anthropometric factors in relation to different tumor biological subgroups of postmenopausal breast cancer. *International Journal of Cancer*, 124(2), 402–411. <https://doi.org/10.1002/ijc.23850>
- Cardoso F., Kyriakides S., Ohno S., Penault Llorca F., Poortmans P., Rubio I. T., Zackrisson S, S. E. (2019). Early breast cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis , treatment and follow-up †. *Annals of Oncology.*, 30, 1194–1220. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdz173>
- Cheng Y., Jia C., Li G., L. H. (2014). Expression of eukaryotic initiation factor 3f is associated with prognosis in gastric carcinomas. *Oncology Research and Treatment*, 37(4), 198–202. <https://doi.org/10.1159/000360779>
- Cheng Y., Zhou J. y Li H. (2015). Clinicopathologic Implications of Eukaryotic Initiation Factor 3f and Her-2/neu Expression in Gastric Cancer. *Clinical and Translational Science*, 8(4), 320–325. <https://doi.org/10.1111/cts.12263>
- Csibi A., Cornille K., Leibovitch M. P., Poupon A., Tintignac L. A., Sanchez A. M. J. y Leibovitch S. A. (2010). The translation regulatory subunit eiF3f controls the kinase-dependent mTOR signaling required for muscle differentiation and hypertrophy in mouse. *PLOS ONE*, 5(2). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0008994>
- Cuesta R., Berman A. Y., Alayev A. y Holz M. K. (2019). Estrogen receptor promotes protein synthesis by fine-tuning the expression of the eukaryotic

- translation initiation factor 3 subunit f (eIF3f). *Journal of Biological Chemistry*, 294(7), 2267–2278. <https://doi.org/10.1074/jbc.RA118.004383>
- De Azambuja E., Cardoso F., De Castro G. Jr., Colozza M., Mano M. S., Durbecq V., Sotiriou C., Larsimont D., Piccart Gebhart M. J., P. M. (2007). Ki-67 as prognostic marker in early breast cancer: A meta-analysis of published studies involving 12 155 patients. *British Journal of Cancer*, 96(10), 1504–1513. <https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6603756>
- Doldan A., Chandramouli A., Shanas R., Bhattacharyya A., Leong S. P., Nelson M. A., S. J. (2008a). Loss of the Eukaryotic Initiation Factor 3f in Melanoma. *Molecular Carcinogenesis*, 47(10), 806–813. <https://doi.org/10.1002/mc.20436>
- Doldan A., Chandramouli A., Shanas R., Bhattacharyya A., Leong S. P., Nelson M. A., S. J. (2008b). Loss of the Eukaryotic Initiation Factor 3f in Pancreatic Cancer. *Molecular Carcinogenesis*, 47(3), 235–244. <https://doi.org/10.1002/mc.20379>
- Enrique P., Argüelles M. I., Marisol G. y González P. (2016). Factores genéticos en la carcinogénesis mamaria. *Genetic factors for breast carcinogenesis*. 299–316.
- Esteves P., Dard L., Brillac A., Hubert C., Sarlak S., Rousseau B., Rossignol R. (2019). Nuclear control of lung cancer cells migration , invasion and bioenergetics by eukaryotic translation initiation factor 3F. *Oncogene*. <https://doi.org/10.1038/s41388-019-1009-x>
- Reyal F., Hajage D., Savignoni A., Guillaume J., Andrew M., Kirova Y., Fourquet A., Pierga J., Cottu P., Dieras V., Fourchette V., Laki F., Alran S., Asselain B., Salomon A., Zafrani, B. (2013). Long-Term Prognostic Performance of Ki67 Rate in Early Stage , pT1-pT2 , pN0 , *Invasive Breast Carcinoma*. 8(3), 1–10. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0055901>
- Cóppola F. D., Nader J. y Aguirre R. (2005). *Revista Médica Uruguay* 2005; 21: 15-22 REVISIONES Metabolismo de los estrógenos endógenos y cáncer de mama. 21, 15–22. Retrieved from <http://www.scielo.edu.uy/pdf/rmu/v21n1/v21n1a03.pdf>
- Gaudet M. M., Gapstur S. M., Sun J., Diver W.R., Hannan L.M., T. M. (2013).

- Active smoking and breast cancer risk: Original cohort data and meta-analysis. *Journal of the National Cancer Institute*, 105(8), 515–525. <https://doi.org/10.1093/jnci/djt023>
- Gerdes J., Schwab U., Lemke H., S. H. (1983). Production of a mouse monoclonal antibody reactive with a human nuclear antigen associated with cell proliferation. *International Journal of Cáncer*, 31(1), 13–20. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/ijc.2910310104>
- GLOBOCAN. (2019). Cáncer today. Retrieved from <http://gco.iarc.fr/today/online-analysis-map?projection=globe>
- Goldhirsch A., Winer E. P., Coates A. S., Gelber R. D., Gebhart P. M., Thürlimann B, S. H. P. (2013). Personalizing the treatment of women with early breast cancer: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast. *Annals of Oncology.*, 24(9), 2206–2223. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdt303>
- Guanghua L., Wang N., Sun C., B. L. (2014). Decreased expression of eukaryotic initiation factor 3f is an adverse prognostic factor for stage I-III gastric cancer. *World Journal Surgical Oncology*, 28(12), 72. <https://doi.org/10.1186/1477-7819-12-72>
- Kanyılmaz G., Yavuz B. B., Aktan M., Karaağaç M., Uyar M. y S. F. (2019). Prognostic Importance of Ki-67 in Breast Cancer and Its Relationship with Other Prognostic Factors. *European Journal of Breast Health*, 15(4), 256–261. <https://doi.org/10.5152/ejbh.2019.4778>
- Hershey J. W. B. (2014). The role of eIF3 and its individual subunits in cancer. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)*, 1849(7), 792–800. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.bbagr.2014.10.005>
- Higareda Mendoza A. E. y Pardo Galván, M. A. (2010). Expression of human eukaryotic initiation factor 3f oscillates with cell cycle in A549 cells and is essential for cell viability. *Cell Division*, 5, 1–13. <https://doi.org/10.1186/1747-1028-5-10>
- Holt J.T., Thompson M.E., Szabo C., Robinson Benion C., Arteaga C. L., King M.C., J. R. (1996). Growth retardation and tumour inhibition by BRCA1. *Nature*

- Genetics*, 12(3), 298–302. <https://doi.org/10.1038/ng0396-298>
- Ibrahim T., Farolfi A., Scarpi E., Mercatali L., Medri L., Ricci M., Nanni O., Serra L., A. D. (2013). Hormonal Receptor, Human Epidermal Growth Factor Receptor-2, and Ki67 Discordance between Primary Breast Cancer and Paired Metastases: Clinical Impact. *Oncology*, 84, 150–157. <https://doi.org/https://doi.org/10.1159/000345795>
- INEGI. (2018). Características de las defunciones registradas en México durante 2017. Comunicado de prensa Núm. 525/18. Retrieved from <https://www.inegi.org.mx/contenidos/saladeprensa/boletines/2018/EstSociodem/DEFUNCIONES2017.pdf>
- Instituto Mexicano de Seguro Social. (2017). Guía de Práctica Clínica GPC, Tratamiento del Cáncer de Mama en Segundo y Tercer Nivel de Atención. Retrieved from <http://www.cenetec.salud.gob.mx/contenidos/gpc/catalogoMaestroGPC.html>
- Inwald E. C., Klinkhammer Schalke M., Hofstädter F., Zeman F., Koller M., Gerstenhauer M, O. O. (2013). Ki-67 is a prognostic parameter in breast cancer patients: Results of a large population-based cohort of a cancer registry. *Breast Cancer Research and Treatment*, 139(2), 539–552. <https://doi.org/10.1007/s10549-013-2560-8>
- Jensen R. A., Thompson M.E., Jetton T.L., Szabo C. I., Van Der Meer R., Helou B., Tronick S. R., Page D. L., King M. C., H. J. (1996). BRCA1 is secreted and exhibits properties of a granin. *Nature Genetics*, 12, 303–308. <https://doi.org/10.1038/ng0396-303>
- Kamińska M., Ciszewski T., Łopacka Szatan K., Miotła P., S. E. (2015). Breast cancer risk factors. *Przegląd Menopauzalny*, 14(3), 196–202. <https://doi.org/10.5114/pm.2015.54346>
- Kill I. R. (1996). Localisation of the Ki-67 antigen within the nucleolus Evidence for a fibrillar-deficient region of the dense fibrillar component. 1263, 1253–1263.
- Kim S., Rimm D., Carter D., Khan A., P. N. y Franco M. A., Bale A., H. B. (2003). BRCA status, molecular markers, and clinical variables in early conservatively managed breast cancer. *The Breast Journal*, 9(3), 167–174.

[https://doi.org/10.1016/s0002-9378\(98\)70476-4](https://doi.org/10.1016/s0002-9378(98)70476-4)

- Knaul F. M., Nigenda G., Lozano R., Arreola Ornelas H., Langer A., F. J. (2008). Breast cancer in Mexico: a pressing priority. *Reproductive Health Matters*, 16(32), 113–123. [https://doi.org/10.1016/S0968-8080\(08\)32414-8](https://doi.org/10.1016/S0968-8080(08)32414-8)
- Kumar Vinay, Abbas Abul A. J. (2015). Patología estructural y funcional. In C. Robbins (Ed.), *Patología estructural y funcional* (9a. Edición). Barcelona, España: ELSEVIER.
- Lambe M., Hsieh C. C., Chan H. W., Ekblom A., Trichopoulos D., A. H. (1996). Parity, age at first and last birth, and risk of breast cancer: a population-based study in Sweden. *Breast Cancer Research and Treatment*, 38(3), 305–311. <https://doi.org/10.1007/BF01806150>
- Malhotra G. K., Zhao X., Band H., B. V. (2010). Histological , molecular and functional subtypes of breast cancers. *Cancer Biology and Therapy*, 10(10), 955–960. <https://doi.org/10.4161/cbt.10.10.13879>
- Marchione R., Leibovitch S. A., L. J. (2013). The translational factor eIF3f: The ambivalent eIF3 subunit. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 70(19), 3603–3616. <https://doi.org/10.1007/s00018-013-1263-y>
- Martín Jiménez, G. S. J. (2009). *Cáncer de mama* (2 edición). ARAN.
- Meier Abt F. y Bentires Alj M. (2014). How pregnancy at early age protects against breast cancer. *Trends in Molecular Medicine*, 20(3), 143–153. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2013.11.002>
- Miller I., Min M., Yang C., Tian C., Gookin, S. y Spence, S. L. (2018). Versus Quiescence. 24(5), 1105–1112. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2018.06.110.Ki67>
- Honma N., Horii R., Iwase T., Saji S., Younes M., Ito Y., F. A. (2015). Ki67 evaluation at the hottest spot predicts clinical outcome of patients with hormone receptor-positive/HER2-negative breast cancer treated with adjuvant tamoxifen monotherapy. *Breast Cancer*, 22(1), 71–78. <https://doi.org/10.1007/s12282-013-0455-5>
- Narod S. A., O. K. (2005). Prevention and management of hereditary breast cancer. *Clinical Oncology*, 23, 1656–1663.

<https://doi.org/10.1200/JCO.2005.10.035>

Nattenmüller C. J., Kriegsmann M., Sookthai D., Fortner R. T., Steffen A., Walter B., Kühn T. (2018). Obesity as risk factor for subtypes of breast cancer: Results from a prospective cohort study. *BMC Cancer*, 18(1), 1–8. <https://doi.org/10.1186/s12885-018-4548-6>

Navarro Ibarra M. J., Caire Juvera G., Ortega Vélez M. I., Bolaños Villar A. V. y Saucedo Tamayo M. del S. (2015). Influencia de los factores reproductivos, la lactancia materna y la obesidad sobre el riesgo de cáncer de mama en mujeres mexicanas. *Nutricion Hospitalaria*, 32(1), 291–298. <https://doi.org/10.3305/nh.2015.32.1.9049>

Nishimura R., Osako T., Nishiyama Y., Tashima R., Nakano M., Fujisue M., Toyozumi Y., A. N. (2014). Prognostic significance of Ki-67 index value at the primary breast tumor in recurrent breast cancer. *Molecular and Clinical Oncology*, 2(6), 1062–1068. <https://doi.org/10.3892/mco.2014.400>

Nishimura R., Osako T., Okumura Y., Hayashi M., Toyozumi Y., A. N. (2010). Ki-67 as a prognostic marker according to breast cancer subtype and a predictor of recurrence time in primary breast cancer. 1(5), 747–754. <https://doi.org/10.3892/etm.2010.133>

Penault Llorca F., R. R. N. (2017). Ki67 assessment in breast cancer: an update. *Pathology*, 49(2), 166–171. <https://doi.org/10.1016/j.pathol.2016.11.006>

Petrelli F., Viale G., Cabiddu M., B. S. (2015). Prognostic value of different cut-off levels of Ki-67 in breast cancer: a systematic review and meta-analysis of 64,196 patients. *Breast Cancer Research and Treatment.*, 153(3)(3), 477–491. <https://doi.org/10.1007/s10549-015-3559-0>

Pohlmann P. R., Mayer I. A. y Mernaugh R. (2009). Resistance to trastuzumab in breast cancer. *Clinical Cancer Research*, 15(24), 7479–7491. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-09-0636>

Querol Audi J., Sun C., Vogan J. M., Smith D., Gu Y., Cate J. y Nogales, E. (2013). Architecture of human translation initiation factor 3. *Structure*. 21(6), 920–928. <https://doi.org/http://doi.org/10.1016/j.str.2013.04.002>.

Rhind N., y Russell P. (2012). Signaling pathways that regulate cell division. *Cold*

- Spring Harbor Perspectives in Biology, 4(10), 1–15.
<https://doi.org/10.1101/cshperspect.a005942>
- Rios Briones N. I. y Rodríguez Saldivar. (2019). *Imagenología (4ta.)*. El manual moderno.
- Rubin S. C., Blackwood M. A., Bandera C., Behbakht K., Benjamin I., Rebbeck T. R., B. J. (1998). BRCA1, BRCA2, and hereditary nonpolyposis colorectal cancer gene mutations in an unselected ovarian cancer population: relationship to family history and implications for genetic testing. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 178(4), 670–677.
- Sanchez A. M. J., Csibi A., Raibon A., Docquier A., Lagirand Cantaloube J., Leibovitch M. P., Bernardi H. (2013). eIF3f: A central regulator of the antagonism atrophy/hypertrophy in skeletal muscle. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, 45(10), 2158–2162.
<https://doi.org/10.1016/j.biocel.2013.06.001>
- Sánchez R. C., Valenzuela V. Y., Pérez Sepúlveda A., Villarroel P. A., Medina A. L., Camus A. M. y Acevedo C. F. (2018). Cáncer de mama avanzado receptor de estrógeno positivo: Manejo sistémico actual. *Revista Chilena de Cirugía*, 70(5), 464–473. <https://doi.org/10.4067/s0718-40262018000500463>
- Scholzen G. (2000). The Ki-67 protein: from the known and the unknown. *Journal Cell Physiology*, Mar;182(3). [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-4652\(200003\)182:3<311::AID-JCP1>3.0.CO;2-9](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-4652(200003)182:3<311::AID-JCP1>3.0.CO;2-9)
- Secretaría de Salud. (n.d.). GPC. Prevención, tamizaje y referencia oportuna de casos sospechosos de Cáncer de Mama en el primer nivel de atención. 1–22. Retrieved from http://www.cenetec.salud.gob.mx/descargas/gpc/CatalogoMaestro/001_GPC_CadeMama/SS_001_08_GRR.pdf
- Secretaría de Salud. (2011). NORMA Oficial Mexicana NOM-041-SSA2-2011. Diario Oficial de La Federación, 1. Retrieved from http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5285372&fecha=22/01/2013
- Secretaría de Salud. (2013). Programa de acción específico prevención y control del Cáncer de la mujer 2013-2018. 1–98. Retrieved from

http://cneqsr.salud.gob.mx/contenidos/descargas/cama/PrevencionyControldelCancerdeMujer_2013_2018.pdf

- Severiche C. (2015). Clasificación en subtipos intrínsecos de los carcinomas de mama analizados en un centro de patología de Medellín en el año 2011. (1), 35–46.
- Shi J., Hershey J. W., N. M. (2006). Decreased expression of eukaryotic initiation factor 3f deregulates translation and apoptosis in tumor cells. *Oncogene*, 25(35), 4923–4936. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1209495>
- Sinn H. P., K. H. (2013). Breast Care of Breast Tumors , 4th Edition , Focusing. *Breast Care (Basel)*, 8(2), 149–154. <https://doi.org/10.1159/000350774>
- Society A. C. (2019). Cáncer de mama. Retrieved from <https://www.cancer.org/es/cancer/cancer-de-seno.html>
- Spyratos F., Ferrero Poüs M., Trassard M., Hacène K., Phillips E., Tubiana Hulin M., L. D. V. (2002). Correlation between MIB-1 and other proliferation markers: Clinical implications of the MIB-1 cutoff value. *Cancer*, 94(8), 2151–2159. <https://doi.org/10.1002/cncr.10458>
- Starborg M., Gell K., Brundell E., Höög, C. (1996). The murine Ki-67 cell proliferation antigen accumulates in the nucleolar and heterochromatic regions of interphase cells and at the periphery of the mitotic chromosomes in a process essential for cell cycle progression. 153, 143–153.
- Struewing J. P., Hartge P., Wacholder S., Baker S. M., Berlin M., Mc Adams M., Timmerman M. M., Brody L. C., T. M. (1997). The risk of cancer associated with specific mutations of BRCA1 and BRCA2 among Ashkenazi Jews. *The New England Journal of Medicine*, 336(20), 1401–1408. <https://doi.org/10.1056/NEJM199705153362001>
- Wen F., Zhou R., Shen A., Choi A., Uribe D., S. J. (2012). The tumor suppressive role of eIF3f and its function in translation inhibition and rRNA degradation. *PLOS ONE*, 7(3). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0034194>
- WHO. (2019). Cáncer de mama: prevención y control. Retrieved from <https://www.who.int/topics/cancer/breastcancer/es/index1.html>
- Wiesner F. G., Magener A., Fasching P. A., Wesse J., Bani M. R., Rauh C., Lux M.

P. (2009). Ki-67 as a prognostic molecular marker in routine clinical use in breast cancer patients. *Breast*, 18(2), 135–141.
<https://doi.org/10.1016/j.breast.2009.02.009>

Zepeda Castilla E. J., Recinos Money E., Cuéllar Hubbe M., Robles Vidal C. D. y Maafs Molina E. (2008). Clasificación molecular del cáncer de mama. *Cirugía y Cirujanos*, 76(1), 87–93.

12. ANEXOS

12.1. Carta de aprobación del Hospital General "Dr. Miguel Silva"


Gobierno del Estado
de Michoacán de Ocampo

Dependencia SECRETARIA DE SALUD DE MICHOACÁN
Sub-dependencia HOSPITAL GENERAL "DR. MIGUEL SILVA"
Oficina COMITÉS DE ETICA EN INVESTIGACIÓN E INVESTIGACION
No. de oficio 5009/174/19
Expediente
Asunto:

AUTORIZACIÓN PROTOCOLO DE INVESTIGACIÓN

"2019, AÑO DEL CAUDILLO DEL SUR, EMILIANO ZAPATA"

Morelia, Michoacán, 29 de octubre del 2019.

**C. QFB. LESLY YARELI DURÁN DÍAZ
INVESTIGADORA PRINCIPAL
PRESENTE.**

Por este conducto le informamos, que el Comité de Ética en Investigación con número de registro Conbioética-16-CEI-004-20161212 de fecha de expedición 12 de diciembre del 2016 el Comité de Investigación con número de Registro 17-CI-16053153 con fecha de expedición 11 de noviembre del 2017 del Hospital General "Dr. Miguel Silva", una vez revisadas las observaciones que se hicieron en sesión extraordinaria del 14 de octubre del presente a su protocolo de investigación número 490/01/19 titulado: "VALORACIÓN DE eIF3f Y Ki-67 COMO POSIBLES MARCADORES DE PROLIFERACIÓN CELULAR QUE AUNADO A LA ESTADIFICACIÓN COADYUVEN EN LA TERAPIA Y PRONÓSTICO DE CÁNCER DE MAMA". Ha sido **AUTORIZADO**.

No omitimos mencionarle que deberá presentar a estos comités los resultados del informe final de su proyecto de investigación de acuerdo a la norma oficial mexicana que establece los criterios para la ejecución de proyectos de investigación para la salud en seres humanos y a la Guía Nacional Para la Integración y funcionamiento de los comités de Ética en Investigación.

Sin más por el momento, le envié un cordial saludo.

ATENTAMENTE


DRA. MARIA TERESA SILVIA TINOCO ZAMUDIO
PRESIDENTA DEL COMITÉ DE ETICA EN INVESTIGACION
DEL HOSPITAL GENERAL "DR. MIGUEL SILVA"


DR. JOSÉ FRANCISCO LÓPEZ BELTRÁN
PRESIDENTE DEL COMITÉ DE
INVESTIGACIÓN DEL HOSPITAL
GENERAL "DR. MIGUEL SILVA"

C.c.p. Michoacán
**COMITE DE ÉTICA EN
INVESTIGACIÓN**
MTSZ-ELB
HOSPITAL GENERAL "DR. MIGUEL SILVA"
SECRETARIA DE SALUD DE MICHOACÁN

COMITE DE INVESTIGACIÓN
HOSPITAL GENERAL "DR. MIGUEL SILVA"
SECRETARIA DE SALUD DE MICHOACÁN

Michoacán #EstaEnTi

*El contenido del presente documento es responsabilidad directa del titular del área Administrativa

12.2. Carta de aprobación del Centro Estatal de Atención Oncológica (CEAO)

 Gobierno del Estado de Michoacán de Ocampo	Dependencia	SECRETARÍA DE SALUD
	Sub-dependencia	CENTRO ESTATAL DE ATENCIÓN ONCOLÓGICA
	Oficina	ENSEÑANZA Y CAPACITACIÓN
	No. de oficio	132/2019
	Expediente	
	Asunto:	ACEPTACIÓN

“2019, Año del Caudillo del Sur, Emiliano Zapata”

Morelia Michoacán, 21 de Noviembre de 2019

DR. EN C. ANA EDITH HIGAREDA MENDOZA
DIRECTOR Y ASESOR DE TESIS DE LA DIVISIÓN DE
ESTUDIOS DE POSGRADO DE LA FACULTAD DE
CIENCIAS MÉDICAS Y BIOLÓGICAS “DR. IGNACIO CHÁVEZ”
P R E S E N T E:

Por medio de la presente y en base a su oficio recibido el día 31 de octubre de 2019, donde solicita se le autorice que la alumna estudiante de la maestría en Ciencias de la Salud de la Facultad de Ciencias Médicas y Biológicas “Dr. Ignacio Chávez” de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo de nombre **QFB LESLY YARELI DURÁN DÍAZ** realice revisión de expedientes y de laminillas de los pacientes de cáncer de mama de esta Institución, al respecto se le informa que se le autoriza su petición, pidiéndole que cada mes nos de un reporte de sus resultados.

Cabe hacer mención que en esta Institución estará bajo la supervisión del DR. MIGUEL ALBERTO FLORES FAJER, encargado de Clínica de Mama de este centro hospitalario.

Sin otro particular, envío a usted un cordial saludo.


DR. VICTOR HUGO MERCADO GÓMEZ
DIRECTOR DEL C.E.A.O.

ATENJAMENTE

DR. FRANCISCO JAVIER JUNEZ BAEZ
JEFE DEPTO. DE ENSEÑANZA DEL C.E.A.O.

C. c. p. DR. Miguel Alberto Flores Fajer.- Enc. De Clínica de Mama del C.E.A.O.
DR. Juan Felipe Ortiz Andrade.- Oncólogo Médico del C.E.A.O.
Archivo
F.JJB/mvg** Elaboró: Mónica Villaseñor Gómez

"El contenido del presente documento es responsabilidad directa del titular del Área Administrativa que lo genera, en apego a sus atribuciones"

ESTADOS UNIDOS MEXICANOS

Al contestar este oficio, cítese los datos contenidos en el cuadro del ángulo superior derecho

12.3. Carta de aprobación del Comité de Ética en Investigación de la Facultad de Ciencias Médicas y Biológicas "Dr. Ignacio Chávez"



Facultad de Ciencias Médicas y Biológicas "Dr. Ignacio Chávez"

SECRETARÍA ACADÉMICA
No. de Oficio: 00528

A S U N T O: DICTAMEN

Morelia, Mich., a 26 de noviembre de 2019.

**C. Q.F.B. LESLY YARELI DURÁN DÍAZ
P R E S E N T E .**

Por este conducto me permito remitir a Usted, copia del **DICTAMEN DE APROBACIÓN** enviado a esta Secretaría Académica a mi cargo por parte del Comité de Ética en Investigación de esta Facultad en relación a la solicitud de autorización del Proyecto de Investigación titulado **"VALORACIÓN DE e1F3f Y KI-67 COMO POSIBLES MARCADORES DE PROLIFERACIÓN CELULAR QUE AUNADO A LA ESTADIFICACIÓN COADYUVEN EN LA TERAPIA Y PRONÓSTICO DE CÁNCER DE MAMA"** que presenta dentro del programa de posgrado de la Facultad con la finalidad de obtener el título de la Maestría en Ciencias de la Salud.

Sin más por el momento, aprovecho la ocasión para enviarle un cordial saludo.

A T E N T A M E N T E :

**M.C.L. MARIO MIGUEL ANGEL HERRERA CHAYRES
SECRETARIO ACADÉMICO**



FACULTAD DE CIENCIAS
MÉDICAS Y BIOLÓGICAS
"DR. IGNACIO CHÁVEZ"
SECRETARÍA
ACADÉMICA

C.e.p. Departamento de Archivo y Correspondencia de la Facultad.
C.e.p. Archivo de la Secretaría Académica.

MCL.MMA/IC/msgm*



Facultad de Ciencias Médicas y Biológicas
"Dr. Ignacio Chávez"

SECRETARÍA ACADÉMICA

A S U N T O: DICTAMEN

Morelia, Mich., 02 de Diciembre de 2019.

DRA. ANA EDITH HIGAREDA MENDOZA
ACADÉMICA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS Y BIOLÓGICAS
"DR. IGNACIO CHÁVEZ"
P R E S E N T E

Le notifico que el protocolo de investigación que Usted presentó ante esta Secretaría Académica a mi cargo, y cuyo título es *"Valoración de el F3f y Ki-67 como posibles marcadores de proliferación que aunado a la estadificación coadyuven en la terapia y pronóstico de cáncer de mama"* y que fue sometido a la evaluación del Comité de Investigación y Ética en Investigación de esta Dependencia Universitaria, quien (es) de acuerdo con las recomendaciones de sus integrantes y de los revisores consideraron que cumple con la calidad metodológica y los requerimientos de ética y de investigación vigentes, por lo que el protocolo fue **AUTORIZADO**, habiéndose asignado el número de registro de la dependencia siguiente:

COMITÉ DE INVESTIGACIÓN Y ÉTICA EN INVESTIGACIÓN	ÁREA	Nº DE REGISTRO
FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS Y BIOLÓGICAS "DR. IGNACIO CHÁVEZ"	POSGRADO	005 /P/5/2019

Se le solicita informar del grado de avance del mismo acorde al cronograma de actividades así como el título de la revista, volumen, año y páginas una vez que el mismo sea publicado. En caso de que el mismo contemple la graduación de un alumno indicar nombre del alumno, fecha y grado académico obtenido.

Atentamente:


DR. MARIO MIGUEL ÁNGEL HERRERA CHAYRES
SECRETARIO ACADÉMICO



c.c.p. Coordinador de la Investigación Científica. UMSNH
c.c.p. Archivo y Correspondencia de la Facultad.
c.c.p. Archivo de la Secretaría Académica.
c.c.p. Jefatura de Investigación Fac Cs Med y Biol. "Dr. Ignacio Chávez"
DR.AVO/sgg*

12.4. Formato de recopilación de datos del expediente clínico

Fecha

Día	Mes	Año	

I. Identificación de la unidad

Institución:

Entidad/delegación:

Municipio:

II. Identificación del paciente

No. de expediente: _____

Edad: _____ años Peso: _____ kg Estatura: _____ m IMC: _____ kg/m²

Sexo: Femenino___ Masculino___

III. Factores de riesgo

- a) Edad de presentación de la menarca: _____ años
- b) Nuligesta: _____
- c) Edad del primer embarazo: _____ años
- d) Edad de presentación de la menopausia: _____ años
- e) Uso de hormonas/Terapia de hormonal: _____
- f) En que familiares tiene antecedentes de cáncer mamario:
 - 1) Abuela_____ 2) Madre_____ 3) Hermana_____ 4) Hija_____
 - 5) Otro _____
- g) Consumo de sustancias nocivas
 - 1) Alcohol___ 2) Tabaco___ 3) Ambos_____

IV. Datos clínicos

- h) Detección:
 - 1) Auto exploración_____ 2) Examen clínico_____ 3) Mamografía_____
 - 4) Otra _____
- i) Localización:
 - 1) Mama derecha_____ 2) Mama Izquierda_____ 3) Ambas _____
- j) Estadificación TNM:
 - 1) T0___ T1___ T2___ T3___ T4___
 - 2) N0___ N1___ N2___ N3___
 - 3) M0___ M1___
- k) Categoría de la Escala BIRADS:
 - 0___ 1___ 2___ 3___ 4___ 5___ 6___
- l) Tipo histológico: Carcinoma *in situ*_____ Carcinoma invasivo_____
- Otros _____
- m) Grado histológico: 1___ 2___ 3___
- n) Expresión molecular:
 - RE___ RP___ HER2___ Ki67___
- o) Recibió algún tipo de tratamiento a) Neoadyuvancia b) Adyuvancia
 - Quirúrgico___ Quimioterapéutico___ Radioterapia___ Otros_____

