

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE MEDICINA



"BÚSQUEDA DE MARCADORES DE MALIGNIDAD EN LESIONES  
PAPÍLARES DE GLÁNDULA MAMARIA: GALECTINA-3, GL YPICAN-3 Y  
RACEMASA POR INMUNOHISTOQUÍMICA."

POR:

DRA. LUCÍA ALEMÁN MEZA

COMO REQUISITO PARA OBTENER EL

GRADO DE:

ESPECIALISTA EN ANATOMÍA PATOLÓGICA

ENERO 2017

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN HOSPITAL  
UNIVERSITARIO "DR. JOSÉ ELEUTERIO GONZÁLEZ"



SERVICIO DE ANATOMÍA PATOLÓGICA Y CITOLOGÍA  
TESIS COMO REQUISITO PARA DEL GRADO DE ESPECIALISTA EN  
ANATOMÍA PATOLÓGICA  
**"BÚSQUEDA DE MARCADORES DE MALIGNIDAD EN LESIONES  
PAPILARES DE GLÁNDULA MAMARIA: GALECTINA-3, GL YPICAN-3 Y  
RACEMASA POR INMUNOHISTOQUÍMICA."**

PRESENTADO POR:

DRA. LUCÍA ALEMÁN MEZA

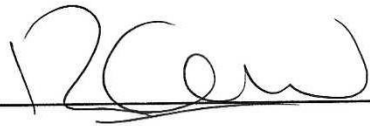
DIRECTOR DE TESIS

DRA. MED. RAQUEL GARZA GUAJARDO

CO-DIRECTOR DE TESIS

DR. MED JUAN PABLO FLORES GUTIÉRREZ

Aprobación de la tesis:



**Dra. Med. Raquel Garza Guajardo**

**Director de tesis**



**Dr. Med. Juan Pablo Flores Gutiérrez**

**Co-director de tesis**



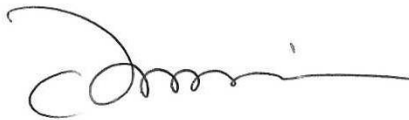
**Dra. Natalia Vilches Cisneros**

**Coordinador de enseñanza**



**Dra. Med. Oralia Barboza Quintana**

**Jefe del servicio de anatomía patológica y Citopatología**



**Dr. Med. Felipe Arturo Morales Martínez**

**Subdirector de estudios de posgrado**

•

"BÚSQUEDA DE MARCADORES DE MALIGNIDAD EN LESIONES  
PAPILARES DE GLÁNDULA MAMARIA: GALECTINA-3, GL YPICAN-3  
Y RACEMASA POR INMUNOHISTOQUÍMICA."

Presentado por

Dra. Lucía Alemán Meza

Este trabajo se realizó en el servicio de Anatomía Patológica y  
Citopatología del hospital universitario "Dr. José Eleuterio González" bajo  
la dirección de la Dra. Med. Raquel Garza Guajardo y la codirección del  
Dr. Med. Juan Pablo Flores Gutiérrez.



---

**Dr. Med. Oralía Barboza Quintana**

Jefe del servicio de Anatomía Patológica y Citopatología

## **Agradecimientos:**

A la Dra. Raquel Garza Guajardo, directora de esta tesis, por ser un gran ejemplo como excelente persona y maestra y por brindarme su tiempo y comprensión para ayudarme a crecer profesionalmente.

A la Dra. Oralia Barbaza, por su confianza y la oportunidad de ingresar a esta institución, por su apoyo incondicional a lo largo de la residencia.

Al Dr. Juan Pablo Flores por ser un gran maestro y guía durante la residencia y por sus consejos invaluable.

A los maestros del servicio de Anatomía Patológica del Hospital Universitario, por sus enseñanzas y consejos, que todos son un gran orgullo y gran ejemplo a seguir:

Dra. Med. Oralia Barbaza Quintana

Dra. Med. Raquel Garza Guajardo Dr.

Med. Juan Pablo Flores Gutiérrez

Dr. Álvaro Barbosa Quintana

Dr. Med. Marco Antonio Ponce Camacho

Dr. Med. Luis Ángel Ceceñas Falcón

Dra. Natalia Vilches Cisneros

Dra. Gabriela Sofía Gómez Macías

A mis padres por guiar mi formación como ser humano, por su amor y fortaleza para convertirme en lo que soy ahora.

A mis compañeros residentes por compartir esta etapa y ser parte de este camino que recorrimos juntos, Adriana, Rodolfo, Hersilia, Eduardo, Bárbara, Elizabeth, Eiralí, Arturo, Mauricio, Melissa y Daniel.

## ÍNDICE

Capítulo I	
1. RESUMEN	7
Capítulo II	
2. MARCO TEÓRICO	10
Capítulo III	
3. JUSTIFICACIÓN	21
Capítulo IV	
4. HIPÓTESIS	23
Capítulo V	
5. OBJETIVOS	25
Capítulo VI	
6. MATERIAL Y MÉTODOS	27
Capítulo VII	
7. RESULTADOS	31
Capítulo VIII	
8. DISCUSIÓN	36
Capítulo IX	
9. CONCLUSIÓN	38
Capítulo X	
10. BIBLIOGRAFIA	40

## **CAPITULO I. RESUMEN**

## **CAPÍTULO 1**

### **RESUMEN**

**Tesista: Dra. Lucía Alemán Meza Fecha de Graduación: Febrero, 2016**

**Asesor de Tesis: Dra. Med. Raquel Garza Guajardo**

**Co-asesor de Tesis: Dr. Med. Juan Pablo Flores Gutiérrez**

**Universidad Autónoma de Nuevo León  
Facultad de Medicina**

**Título del Estudio: BÚSQUEDA DE MARCADORES DE MALIGNIDAD EN LESIONES PAPILARES DE GLÁNDULA MAMARIA: GALECTINA- 3, GLYPICAN-3 Y RACEMASA POR INMUNOHISTOQUÍMICA.**

**Número de páginas:**

**Área de Estudio: Anatomía Patológica**

**Propósito y Método de Estudio:** Las lesiones papilares de glándula mamaria conforman un espectro de lesiones epiteliales de tipo benignas, carcinoma in situ y malignas, que representan un reto diagnóstico. Para ello se utiliza inmunohistoquímica para categorizar las lesiones, la cual consiste en la valoración de la presencia de células mioepiteliales en la lesión, no existe aún un marcador comprobado que categorice el comportamiento biológico de las células epiteliales como benignas o malignas. Este es el propósito del estudio, evaluar el estatus de expresión de marcadores de inmunohistoquímica en las lesiones papilares de glándula mamaria (Galectina-3, Glipican-3 y Racemasa), los cuales fueron escogidos ya que se ha comprobado su utilidad en otros



órganos. En el presente estudio se evaluaron dichos marcadores en 36 especímenes de lesiones papilares de glándula mamaria.

**Contribuciones y Conclusiones:** Galectina-3 no mostró reactividad en ninguna de las lesiones papilares, y Glypican-3 fue útil detectando lesiones malignas, sin embargo su sensibilidad y especificidad son muy bajas, así como su valor predictivo positivo y negativo, por lo tanto no fueron de utilidad en discernir lesiones benignas o malignas de tipo papilar de glándula mamaria.

Racemasa demostró positividad en dos casos de lesiones papilares benignas, y fue negativo en las lesiones benignas, lo cual le otorga una alta especificidad ( 100% ), sin embargo el valor predictivo negativo es bajo (50%), por lo cual no es útil como marcador de este tipo de lesiones.

**FIRMA DEL DIRECTOR DE TESIS:**

## **CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO**

## CAPÍTULO II

### INTRODUCCIÓN

#### **2.1 Clasificación de las lesiones papilares de glándula mamaria.<sup>1</sup>**

##### **Clasificación OMS 2012**

- Papiloma intraductal
  - Papiloma intraductal con hiperplasia atípica
  - Papiloma intraductal con carcinoma ductal in situ
  - Papiloma intraductal con carcinoma lobulillar in situ •

Carcinoma papilar intraquístico

- Carcinoma papilar intraquístico invasor •

Carcinoma papilar sólido

- In situ
- Invasor

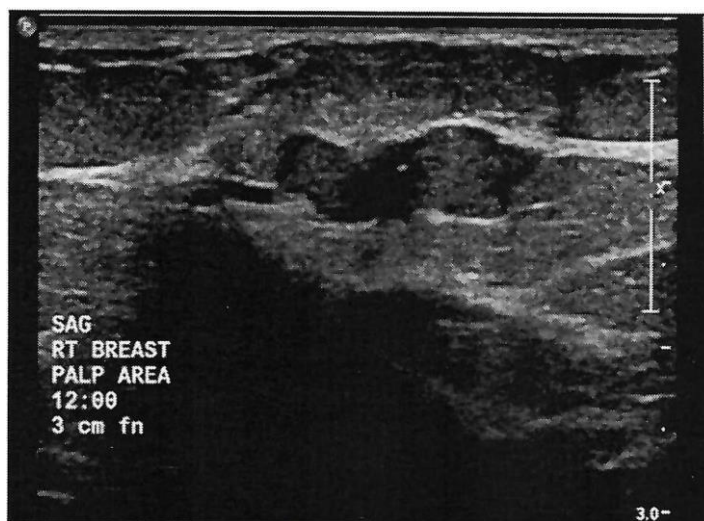
#### **2.2 Lesiones papilares de glándula mamaria.**

Las lesiones papilares de la glándula mamaria comprenden un grupo heterogéneo de lesiones epiteliales, benignas y malignas que representan un reto diagnóstico. La incidencia del papiloma es 8 a 10% de las lesiones de glándula mamaria benignas, y la incidencia de lesiones papilares en general es de 2%. La entidad más frecuente encontrada es entonces el papiloma intraductal benigno y el resto de las lesiones papilares que se encuentran dentro de la clasificación de lesiones papilares constituyen su diagnóstico diferencial, las cuales son: papiloma atípico, papiloma con carcinoma ductal in situ, carcinoma ductal in situ papilar, carcinoma papilar intraquístico, carcinoma sólido-papilar y el carcinoma papilar invasor.,

Existen múltiples reportes del uso de marcadores de células mioepiteliales para clasificar las distintas lesiones papilares. Una lesión papilar se clasifica como papiloma si existe una capa uniforme de células mioepiteliales en el componente proliferante intraluminal de la lesión. Así como la ausencia de dichas células es sugestiva de un carcinoma papilar. En algunos papilomas se encuentran características de "papiloma atípico", en las cuales ocurre una hiperplasia ductal epitelial atípica y en esta área habrá ausencia de células epiteliales. Los papilomas atípicos así como el carcinoma papilar in situ, pierden la expresión de citoqueratinas de alto peso molecular (34;3E 12 y CKS/6). El área que representa mayor confusión es la distinción entre un tumor papilar bien circunscrito y un carcinoma invasor. El primero ha recibido distintos nombres en la literatura. El término Carcinoma papilar intraquístico, se usa para describir una lesión quística con proliferación papilar maligna. El uso de marcadores de inmunohistoquímica para valorar la invasión ha demostrado resultados variables. El problema radica en el hecho de que los carcinomas intraquísticos y sólido-papilares tienen la morfología de una lesión in situ, pero la mayoría de ellos carecen de la presencia de células mioepiteliales en la periferia. Se ha estudiado el colágeno IV, como componente integral de la lámina basal que envuelve a las lesiones normales y proliferativas, su expresión es fuerte en la periferia del carcinoma papilar intraquístico pero en general leve y discontinua en un carcinoma invasor, lo que demostró la naturaleza del tumor, su comportamiento clínico y su pronóstico parecido al carcinoma ductal in situ. Sin embargo, un estudio reciente no encontró de ayuda dicha tinción. Por lo cual es extremadamente importante analizar el producto de resección de la lesión, lo cual es indispensable para realizar la evaluación histológica de la presencia o no de invasión. Es por esto la necesidad de la búsqueda de un anticuerpo que mediante inmunohistoquímica, pueda mostrar malignidad o benignidad.

### 2.3 Papiloma intraductal.

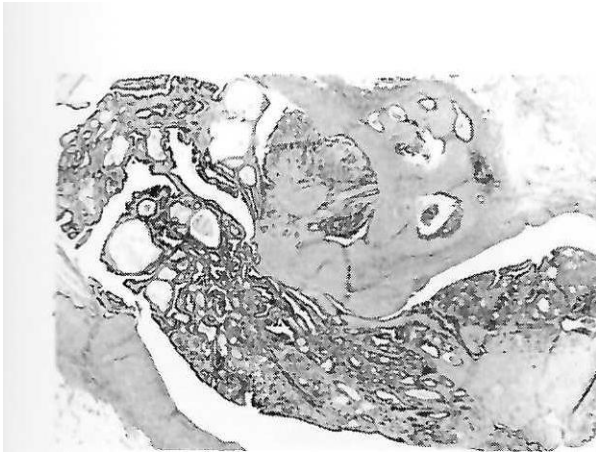
Los papilomas se definen como lesiones benignas que surgen del epitelio de los ductos mamarios con una arquitectura papilar. Se dividen en dos tipos basados en la localización, centrales y periféricos, que tienen distinta presentación clínica, de imagen y tratamiento. Los centrales surgen de los ductos lactíferos principales en la región subareolar. Pueden ser solitarios o múltiples y típicamente surgen en mujeres postmenopáusicas. Hasta el 90% se presentan con descarga serosa o serosanguinolenta unilateral a través del pezón. Estas lesiones generalmente miden menos de 1 cm y se visualizan mejor mediante ultrasonografía, donde aparecen como una masa intraductal en un ducto dilatado, como una masa sólida o como una lesión quística compleja. Los papilomas periféricos tienen una mayor tendencia a ser múltiples, algunas veces se presentan como masas palpables y con calcificaciones en los estudios de imagen (Ilustración 1).



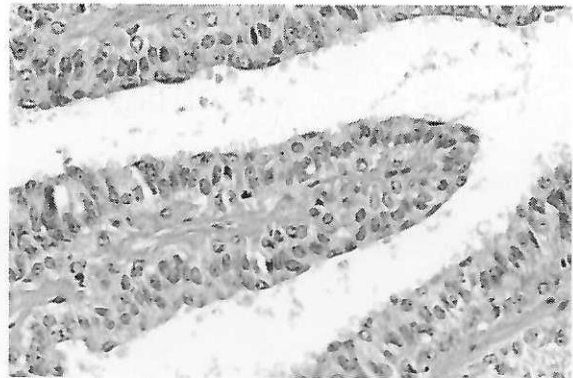
*Ilustración 1: Ultrasonografía de un papiloma central que demuestra una masa intraductal con un ducto dilatado asociado.*

Microscópicamente los papilomas intraductales benignos están compuestos de tallos fibrovasculares bien definidos que se originan de la pared del ducto, revestidos por un arreglo ordenado de células mioepiteliales y células epiteliales ductales. El epitelio puede ser simple

de células cuboideas o columnares con núcleo basal, los papilomas pueden exhibir cualquier forma de cambio proliferativo o metaplasias vistas en glándula mamaria como hiperplasia ductal, hiperplasia ductal florida, cambios de células columnares y/o metaplasia apócrina. Las células mioepiteliales pueden ser inconspicuas en la tinción de Hematoxilina y Eosina, o pueden parecer alargadas con citoplasma escaso o mostrar cambios de células claras. Los tallos fibrovasculares pueden mostrar capilares dilatados o contener hemosiderófagos o lipófagos. Aunque puede haber figuras mitóticas, son infrecuentes. No presentan pleomorfismo ni hiper cromasia nuclear. (Ilustraciones 2 y 3)

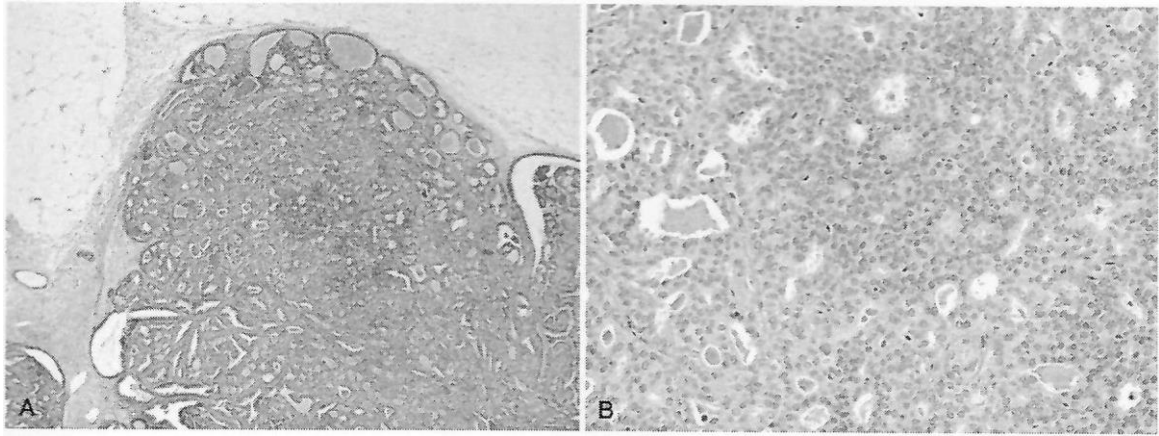


*Ilustración 2: Imagen microscópica en panorámica de un papiloma intraductal.*



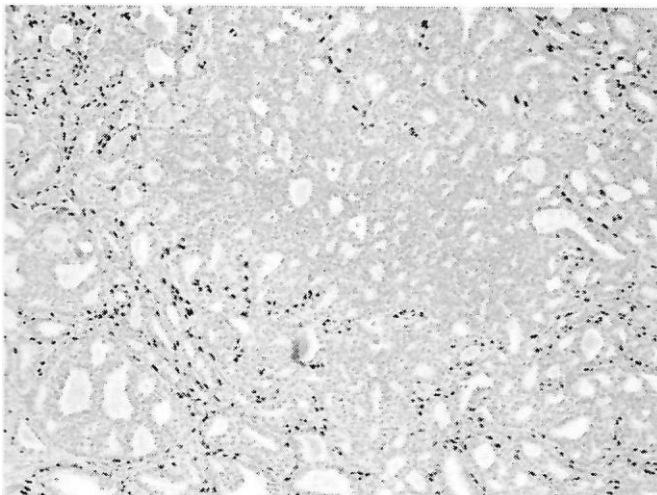
*Ilustración 3: Papiloma intraductal benigno con un tallo fibrovascular delgado, revestido por una capa de células mioepiteliales y otra de epitelio ductal.*

El término papiloma atípico sinónimo de papiloma intraductal con atipia, se refiere a un papiloma intraductal con cantidad variable de hiperplasia ductal atípica. A diferencia de la hiperplasia ductal usual o florida, la atipia en los papilomas se puede identificar por una proliferación monótona de células epiteliales que forman sábanas, arquitectura cribiforme o proyecciones papilares atípicas (Ilustración 4 ).



*Ilustración 4: A y B, Papiloma intraductal atípico que demuestra un área con células monotonas, con citología de bajo grado y arquitectura cribíforme con atípia.*

La inmunohistoquímica es de ayuda para resaltar los focos atípicos dentro de los papilomas, La citoqueratina 5/6 se encontrará ausente o atenuada en áreas de hiperplasia ductal atípica, en contraste con la hiperplasia ductal usual, en la cual las citoqueratinas de alto peso molecular demuestran un patrón de inmuno-reactividad en mosaico típica. La inmunohistoquímica para receptores de estrógeno muestra un patrón en reversa, con una tinción fuerte e intensa en los focos atípicos y con tinción ausente, débil o parcheada en áreas de hiperplasia ductal usual. (Ilustración 5)



*Ilustración 5: Tinción de inmunohistoquímica para p63 que muestra una falta de células mioepiteliales en el área de atípia.*

En cuanto al pronóstico, se ha reportado que el riesgo de carcinoma es más alto en los papilomas con atipia versus sin atipia, por lo cual la importancia de reportarlo.

#### 2.4 Carcinoma papilar intraquístico o encapsulado

El carcinoma papilar intraquístico se considera una variante del carcinoma ductal in situ. Representa aproximadamente del 0.5 al 2 % de todos los cánceres de mama y típicamente ocurre en mujeres postmenopáusicas. Estos tumores son típicamente bien circunscritos y demuestran características citológicas afines al carcinoma ductal in situ. Sin embargo estos tumores carecen de células mioepiteliales en la periferia, por lo cual algunos autores sostienen que son invasivos con un patrón de crecimiento expansivo y potencial metastásico. Sin embargo, también tienen membrana basal continua en la periferia por lo cual otros autores sostienen su biología como in situ.

Los carcinomas papilares intraquísticos suelen ser localizados en la región subareolar. Microscópicamente tienen una arquitectura papilar delicada revestida únicamente por células epiteliales columnares con núcleo hiper cromático y figuras de mitosis infrecuentes. (Ilustración 6).

La inmunohistoquímica demuestra la falta de células mioepiteliales en la lesión central y en la periferia de la masa tumoral, así como son uniformemente positivas para la expresión de receptores de estrógeno.,

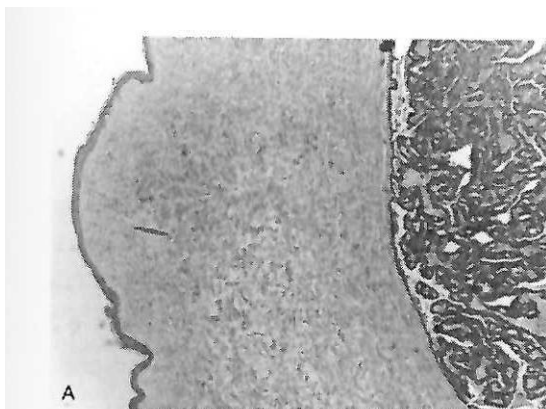
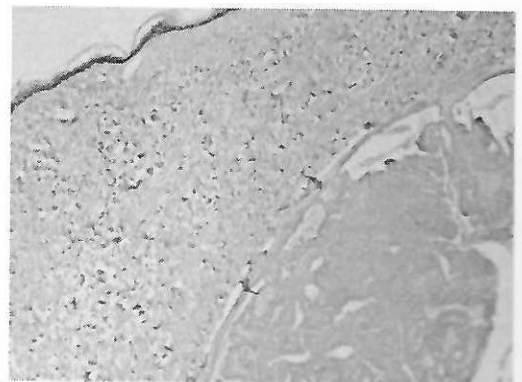


Ilustración 6: Carcinoma papilar intraquístico



2.5 Ilustración 7: Los marcadores de células mioepiteliales como p63, están ausentes en el tumor y en la periferia del carcinoma papilar intraquístico.



## **2.4 Carcinoma papilar invasor**

El carcinoma papilar invasor es una entidad muy poco frecuente, menos del 1 % de las series, macroscópicamente es muy variable la presentación, siendo la mayoría bien demarcados y miden entre 1 y 3 cm.

Histológicamente la característica principal es la presencia de estructuras papilares con tallos fibrovasculares. Muchos carcinomas papilares están rodeados por zonas de fibrosis, inflamación crónica y hemorragia reciente. La invasión franca es reconocida por la presencia de células neoplásicas de apariencia infiltrante más allá de la zona de estroma reactivo y se extiende hacia el parénquima mamario y la grasa. Las áreas de invasión generalmente no muestran las características papilares y se presentan más como carcinoma ductal de tipo usual. Las características citológicas son variadas, siendo más común observar pleomorfismo nuclear y mitosis. El carcinoma papilar carece de células mioepiteliales en su periferia, al igual que el carcinoma papilar intraquístico, por lo cual no es útil la inmunohistoquímica para diferenciar estas dos entidades. No existe un marcador disponible que pueda diferenciar in situ de un carcinoma invasor papilar y hasta que tal marcador se descubra, se recomienda describir los carcinomas papilares como carcinoma ductal in situ con patrón papilar o como carcinoma papilar intraquístico.

Los carcinomas papilares in situ o encapsulados, tienen riesgo de recurrencia local tanto como otros tipos de carcinoma intraductal, se ha reportado que una recurrencia local a 8 años de carcinoma ductal in situ varía de 2 a 31 % y la tasa de metástasis a distancia de 1 a 4%. Sin embargo la escisión local completa es importante y se puede realizar una biopsia de ganglio linfático para evaluar involucro axilar en dichos casos.,

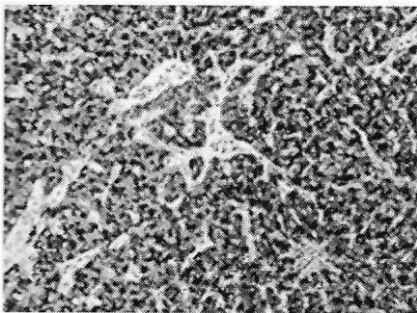
## **MARCADORES DE INMUNOHISTOQUÍMICA ÚTILES PARA LA DIFERENCIACIÓN DE LESIONES BENIGNAS/MALIGNAS COMPROBADOS EN OTROS ÓRGANOS.**

### **2.5.1 Glypican-3.**

Glypican-3 es un miembro de la familia de proteoglicanos de heparan sulfato, es una proteína oncofetal que se expresa en el embrión y se involucra en la morfogénesis y el crecimiento durante el desarrollo. Su expresión se silencia en tejidos adultos.

Estudios in vitro han demostrado que el Glypican-3 induce apoptosis en ciertas líneas celulares que indica que puede funcionar como inhibidor de la proliferación celular y supresor tumoral.

Desde el 2003, se ha identificado como un marcador tumoral de utilidad para el diagnóstico de hepatocarcinoma, hepatoblastoma, melanoma, tumores de células germinales testiculares ( coriocarcinoma y senos endodérmicos) y el tumor de Wilms. En pacientes con hepatocarcinoma, el glypican-3 fue encontrado en el tejido del tumor, y no en el hígado cirrótico ni en el hígado con lesiones focales como nódulos displásicos ni con adenoma hepático.,

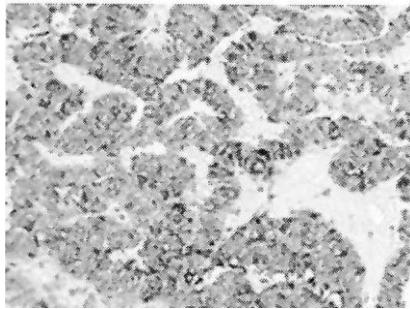


*Ilustración 8: Inmunohistoquímica de Glypican-3 positiva de forma citop/asmática en el Carcinoma hepatoce/ular.*

### **2.5.2 Galectina-3.**

La galectina-3 es una lectina de unión de 31 kD beta-galactosidasa, que se ha asociado a la unión con la laminina, glicoproteína de membrana

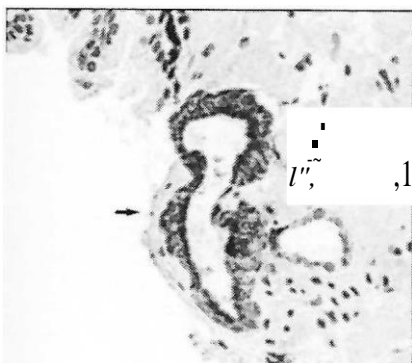
basal. Anti-galectin-3, se ha demostrado que es un anticuerpo de valor para diferenciar entre neoplasias tiroideas malignas y benignas tanto en secciones histológicas como en material obtenido por biopsia por aspiración con aguja fina. También se ha encontrado de ayuda en identificar el linfoma anaplásico de células grandes



*Ilustración 9: Tinción citoplásmica de Galectina-3 en un carcinoma papilar de tiroideas. ¿*

### **2.5.3 Racemasa.**

Alfa-Metil-Acil-CoA o Racemasa, también conocida como P504S, es una enzima que se involucra en la biosíntesis y beta-oxidación de ácidos grasos de cadenas ramificadas. Resulta útil para el diagnóstico de neoplasia intraepitelial prostática y del adenocarcinoma de próstata, donde muestra una tinción citoplasmática granular. AMACR está presente a niveles bajos o indetectables en las células glandulares prostáticas normales y en la hiperplasia prostática benigna. 7



*Ilustración 10: Glándula prostática maligna positiva para AMACR de forma citoplasmática*

## **CAPÍTULO III. JUSTIFICACIÓN**

## **CAPÍTULO III**

### **JUSTIFICACIÓN**

- El amplio espectro de lesiones papilares de la glándula mamaria representa en ocasiones un difícil diagnóstico diferencial, principalmente en lesiones in situ contra lesiones invasoras, por lo tanto es de suma importancia conocer la expresión que presentan los anticuerpos galectina-3, glipican-3 y racemasa pues dichos resultados podrían ser utilizados para definir este grupo de lesiones así como posteriormente el desarrollo de protocolos que establezcan su utilidad en el pronóstico de pacientes y su posible selección para el uso de terapia blanco molecular.
- Estudios que han utilizado este tipo de anticuerpos en otros órganos y neoplasias, han demostrado utilidad para la distinción entre neoplasias malignas y benignas.

### **ANTECEDENTES Y ORIGINALIDAD**

- En una búsqueda intencionada en Pubmed se encontraron 152 artículos acerca de la inmunohistoquímica en lesiones papilares de glándula mamaria, de los cuales ninguno describe la aplicación en estas lesiones de los anticuerpos galectina-3, glypican-3 o racemasa.

## **CAPÍTULO IV. HIPOTESIS**

## **CAPÍTULO IV**

### **HIPÓTESIS**

La expresión de marcadores de inmunohistoquímica como galectina-3, glipican-3 y racemasa, en tumores de tipo papilar de glándula mamaria es útil para la categorización y diagnóstico de lesiones papilares como malignas o benignas.

#### **5.1 Hipótesis nula.**

La expresión de marcadores de inmunohistoquímica como galectina-3, glipican-3 y racemasa, en tumores de tipo papilar de glándula mamaria no es útil para la categorización y diagnóstico de lesiones papilares como malignas o benignas.

## **CAPÍTULO V. OBJETIVOS**



## **CAPÍTULO V**

### **OBJETIVOS**

Determinar el estatus de la expresión mediante inmunohistoquímica de los anticuerpos Galectina-3, Glypican-3 y Racemasa en las lesiones papilares de glándula mamaria.

#### **6.1 Objetivos específicos.**

- Determinar la positividad o negatividad de los anticuerpos y su patrón de expresión en las diferentes lesiones papilares de glándula mamaria.

## **CAPÍTULO VI. MATERIAL Y MÉTODOS**

## **CAPÍTULO VI**

### **MATERIALES Y MÉTODOS**

Se revisó el archivo electrónico del Servicio de Anatomía Patológica y Citopatología del Hospital Universitario "Dr. José Eleuterio González" de la Universidad Autónoma de Nuevo León en búsqueda de los casos que cumplan con los criterios de inclusión, comprendidos del 1 de enero de 2000 al 1 de agosto de 2016.

#### **7.1 Criterios de inclusión.**

- Diagnóstico histológico previo de lesión de tipo papilar en glándula mamaria
- Tejido obtenido mediante biopsia trucut o resección completa.
- Disponibilidad de los bloques de parafina en el archivo.
- Adecuada conservación del tejido ( que sea viable para realizar estudios de inmunohistoquímica).

#### **7.2 Criterios de exclusión.**

- Ausencia de bloques de parafina.
- Inadecuada conservación del tejido.
- Material insuficiente para realizar tinciones de Inmunohistoquímica.

#### **7.3 Recolección de datos.**

De cada paciente incluida en el estudio, se hizo una búsqueda mediante el sistema Tesi (Pathox) o base de datos electrónica del Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Universitario de la UANL, con los criterios de búsqueda que son:

1. Casos de pacientes con diagnóstico de cualquier tipo de lesión de tipo papilar en glándula mamaria en un periodo de 3 años 2013- 2016, a las cuales se les aplicaron los criterios de inclusión y exclusión antes mencionados. Y con el sistema NovoPath para los años de 2000 a 2013 (ya que este sistema de datos fue usado durante este intervalo de tiempo en el servicio)
2. Obtención del número de biopsia de cada caso y el reporte histopatológico.

#### **7 .4 Selección del material.**

1. Se cotejan los casos obtenidos mediante la búsqueda electrónica con las laminillas teñidas con la técnica de hematoxilina y eosina para ser evaluados.
2. Se recabaron del almacén del servicio de anatomía patológica de hospital universitario de la UANL los bloques de parafina de los casos obtenidos, donde se seleccionan los fragmentos de tejido de mejor calidad, con tejido tumoral viable y representativo y que no muestre artefactos o necrosis.
3. Se realizaron microarreglos del tejido, realizando punch a los bloques de parafina en el tejido deseado, así como punch a distintos tejidos con la finalidad de cumplir como control para las técnicas de inmunohistoquímica, posteriormente se distribuyeron en un nuevo bloque del parafina del cual se obtuvieron cortes para laminillas a teñidas con tinción de Hematoxilina y Eosina, así como la aplicación de marcadores de inmunohistoquímica en cada uno de los bloques de microarreglos obtenidos (Galectina-3, Glipican-3 y Racemasa).
4. Las pacientes se subdividieron en dos grupos de estudio
  - a. Pacientes con papiloma ductal (lesión benigna)
  - b. Resto de las pacientes con lesiones papilares (In situ y malignas)

## 7.5 Inmunohistoquímica.

Previo a la realización del estudio, las diluciones fueron optimizadas para Galectina-3, Glipican-3 y Racemasa, usado a 1 :200 (Marca Biocare Medical), y para P53 a 1:100 (Marca Biocare Medical).

Para cada bloque de tejido embebido en parafina se realizaron secciones de 4 micras, se tiñeron con la técnica Complejo Estreptoavidina-Biotina incluyendo los pasos de desparafinización, incubación del anticuerpo, recuperación antigénica, digestión enzimática y finalmente la visualización usando el método de DAB (Diamino-benzidina) el cual es adicionado y actúa como un sustrato para la peroxidasa; esta reacción crea una coloración café. La peroxidasa endógena en el tejido es bloqueada previamente a la aplicación de los anticuerpos para prevenir una tinción inespecífica.

**Tabla 3**

### ANTICUERPOS UTILIZADOS EN EL ESTUDIO

<i><b>Marcador</b></i>	<i><b>Patrón de expresión</b></i>	<i><b>Dilución</b></i>	<i><b>Marca</b></i>
<b>Galectina-3</b>	Citoplasmático/Nuclear	1:200	Biocare Medical
<b>Glypican-3</b>	Citoplasmático/Nuclear	1:100	Biocare Medical
<b>Racemasa</b>	Citoplasmática	1:100	Dako

### Plan de análisis estadístico.

La estadística descriptiva se reportó en medidas de tendencia central y de dispersión. Para diferencia de proporciones, se utilizó prueba Chi cuadrado de Pearson o prueba exacta de Fisher. Un valor de  $p < 0.05$  fue considerado estadísticamente significativo. El análisis estadístico se realizó mediante el software R v 3.3.1.

## **CAPÍTULO VII. RESULTADOS**

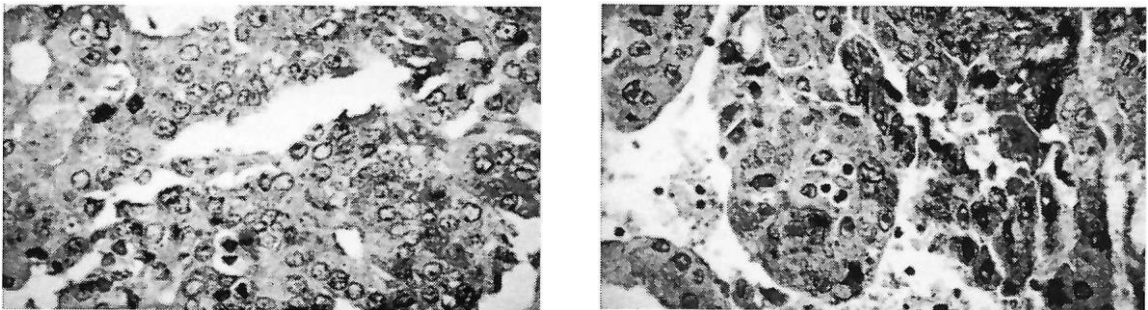
## CAPÍTULO VII

### RESULTADOS

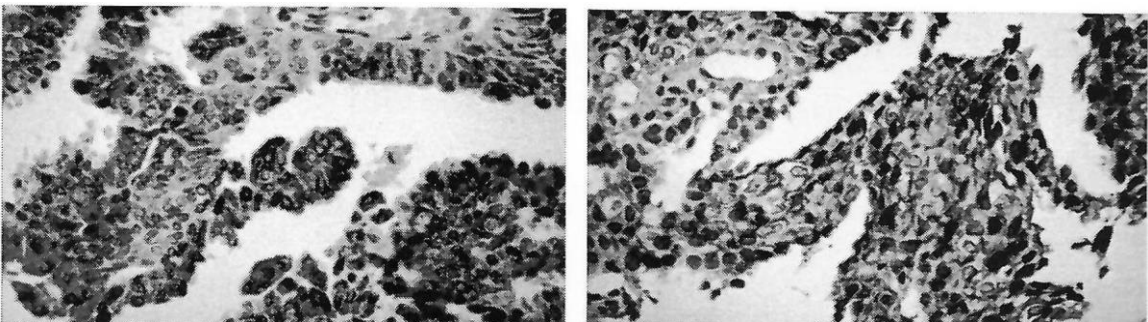
#### Evaluación de los resultados.

Cada laminilla de inmunohistoquímica se evaluó para la presencia o ausencia de expresión para Galectina-3, Glipican-3 y Racemasa

- Se definió como significativo para inmunorreactivo o positivo con Racemasa: La expresión citoplasmática del anticuerpo (Ilustración 11)
- Se definió como significativo para inmunorreactivo o positivo con Galectina-3: La expresión citoplasmática y nuclear del anticuerpo
- Se definió como significativo para inmunorreactivo o positivo con Glipican-3 (Ilustración 12): La expresión citoplasmática y membranosa el anticuerpo



*Ilustración 11: Microfotografía A) 10X y B) 20X donde se observa la positividad citoplasmática para Racemasa en un carcinoma papilar intraquístico y en un carcinoma papilar.*



*Ilustración 12: Microfotografías a 10X donde se observa positividad citoplasmática y membranosa para Glypican-3 para un papiloma intraductal y para un carcinoma papilar intraquístico.*

La estadística descriptiva se reportó en medidas de tendencia central y de dispersión. Para diferencia de proporciones, se utilizó prueba Chi cuadrado de Pearson o prueba exacta de Fisher. Un valor de  $p < 0.05$  fue considerado estadísticamente significativo. El análisis estadístico se realizó mediante el software R v 3.3.1.

### 8.1 Variedad histológica de las lesiones papilares.

Se revisaron los archivos del departamento de anatomía patológica del hospital Universitario "José Eleuterio González" comprendidos del 1 de enero de 2000 al 31 de diciembre de 2011, seleccionando 36 casos que cumplieron con los criterios de inclusión, que en cuanto a la variedad histológica de las lesiones papilares, la mayoría correspondió al papiloma intraductal, las proporciones son las siguientes:

Núm de casos	Tipo de Lesión
16 (44%)	Papiloma Intraductal
12 (33%)	Carcinoma papilar intraquístico
8 (22%)	Carcinoma papilar invasor

### 8.2 Análisis estadístico

Para el análisis estadístico se realizó una prueba comparativa (Chi cuadrada  $X^2$ ), comparando los resultados de cada marcador para cada categoría. (valor de  $p < 0.05$ )

36 especímenes fueron examinados, de los cuales 16 (44.44%, IC 95% 27.2-60.8) fueron lesiones benignas (papiloma) y 20 (55.55%, IC 95% 38.74-72.36) fueron lesiones malignas (carcinoma, carcinoma papilar intraquístico).

#### 8.2.1 Glypican-3

La expresión de Glypican-3 en lesiones benignas fue de 56.25% y en lesiones malignas de 65%. La sensibilidad del Glypican-3 fue de 61.90% (IC 95% 42.68-87.32) y la especificidad fue de 43.75 (IC95%



17.32-70.18). La precisión del Glypican-3 para diferenciar lesiones benignas de malignas fue de 55.5%. Obteniendo un valor p de 0.99.

### **8.2.2 Racemasa**

La expresión de Racemasa en lesiones benignas fue de 0% y en lesiones malignas de 10%. La sensibilidad de la Racemasa fue de 100% (IC 95% 0,24-04) y la especificidad fue de 100%. La precisión de Racemasa para diferenciar lesiones benignas de malignas fue de 50%. Obteniendo un valor p de 0.49.

### **8. 2.3 Galectina-3**

La expresión de Galectina-3 en lesiones benignas fue de 0% y en lesiones malignas de 0%. La sensibilidad de la Galectina-3 fue de 0% y la especificidad fue de 100%. La precisión del Galectina-3 para diferenciar lesiones benignas de malignas fue de 44%. Obteniendo un valor p de 0.99.

#### **1. Comparación**

Glypican-3 fue superior para detectar lesiones malignas en comparación con Racemasa y Galectina-3 (65 vs 10% y 0%,  $p < 0.05$ ). La ausencia de expresión Galectina-3 fue similar para descartar malignidad comparado

con Glypican-3 (Especificidad 100% vs 56.25%,  $p=0.2301$ ) y Racemasa (100% vs 100%)

**Expresión de los anticuerpos de acuerdo al tipo de lesión papilar de glándula mamaria (benigna o maligna)**

## **CAPÍTULO VIII. DISCUSIÓN**

## CAPÍTULO VIII

### DISCUSIÓN

- Ninguno de los anticuerpos utilizados en este demostró una diferencia significativa en la distribución entre las lesiones benignas y malignas ni una precisión aceptable.
- Dos de los marcadores utilizados (Galectina-3 y Glypican-3) no fueron de utilidad para discernir estas lesiones como malignas o benignas.
  - Galectina-3 no mostró reactividad en ninguna lesión papilar (benigna o maligna).
  - Glypican-3 detecta lesiones malignas, sin embargo la sensibilidad y especificidad son muy bajas (prueba no valida) así como el VPP y VPN (prueba no segura).
- Racemasa fue el único marcador que mostró positividad en 2 casos de lesiones papilares malignas y no fue reactivo ninguna de las lesiones benignas ( especificidad 100% ). Sin embargo el VPN es bajo (50%) lo cual lo traduce en alta tasa de falsos negativos.

## **CAPÍTULO IX. CONCLUSIONES**

## CAPÍTULO IX

### CONCLUSIÓN

- Históricamente las lesiones papilares de glándula mamaria se han clasificado de acuerdo a la presencia de dos poblaciones celulares.
- No existe hasta ahora un marcador propio de malignidad en este tipo de lesiones.
- Los marcadores de I HQ empleados en este estudio son marcadores ya conocidos en otros órganos que ayudan a clasificar neoplasias malignas.
- En la literatura no existen estudios que hayan empleado estos marcadores para clasificar lesiones papilares de glándula mamaria.
- No se encontró una expresión adecuada para tener valor como marcadores para diferenciar lesiones papilares malignas vs. Benignas.
- Los anticuerpos utilizados en este estudio, previamente conocidos como marcadores de malignidad en otras neoplasias, no resultaron útiles en la clasificación de lesiones papilares de glándula mamaria.
  
- Se propone ampliar el número de casos para realizar nuevamente el análisis.

## CAPÍTULO X. BIBLIOGRAFÍA

## CAPÍTULO X

### BIBLIOGRAFÍA

1. Lakhani SR, Schnitt SJ, O'Malley F, van de Vijver MJ, Simpson PT, Palacios J. Lobular neoplasia. In: Lakhani SR, Ellis 10, Schnitt SJ, Tan PH, van de Vijver MJ, editors. World Health Organization Classification of Tumors: Pathology and Genetics of Tumors of the Breast and Female Genital Organs. IARC Press; Lyon, France: 2012. pp. 106-107
2. Muttarak M, Lerttumnongtum P, Chaiwun B, Peh WC. Spectrum of Papillary Lesions of the Breast: Clinical, Imaging, and Pathologic Correlation. *Am J Roentgenol.* 2008; 191 (3):700-707
3. Khoury T, Hu Q, Liu S, Wang J. Intracystic papillary carcinoma of breast: interrelationship with in situ and invasive carcinoma and a proposal of pathogenesis: array comparative genomic hybridization study of 14 cases. *Modern pathology: an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc.* 2014;27(2):194-203. doi:10.1038/modpathol.2013.136.
4. Pal SK, Lau SK, Kruper L, et al. Papillary Carcinoma of the Breast: An Overview. *Breast cancer research and treatment.* 2010;122(3):637-645. doi: 10.1007/s10549-010-0961-5.
5. Hann A, Gruner A, Chen Y, Gress TM, Buchholz M. Comprehensive Analysis of Cellular Galectin-3 Reveals No Consistent Oncogenic Function in Pancreatic Cancer Cells. Schrijver I, ed. *PLoS ONE.* 2011 ;6(6):e20859. doi: 10.1371/journal.pone.0020859.
6. Yu X, Li Y, Chen SW, Shi Y, Xu F. Differential expression of glypican-3 (GPC3) in lung squamous cell carcinoma and lung adenocarcinoma and its clinical significance. *Genet Mol Res.* 2015;14:10185-10192. doi: 10.4238/2015.August.28.2
7. Kumaresan K, Kakkar N, Verma A, Mandal AK, Singh SK, Joshi K. Diagnostic utility of alpha-methylacyl CoA racemase (P504S) & HMWCK in morphologically difficult prostate cancer. *Diagnostic Pathology.* 2010;5:83. doi:10.1186/1746-1596-5-83.