



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA
FACULTAD DE MEDICINA
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y ESTUDIOS DE
POSGRADO
MAESTRÍA EN CIENCIAS MÉDICAS E INVESTIGACIÓN

TESIS

**DETERMINACIÓN DE EXPRESIÓN DE RECEPTORES
ESTROGÉNICOS ALFA Y BETA EN BIOPSIAS DE PACIENTES
CON CÁNCER DE MAMA DUCTAL.**

PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS MÉDICAS E INVESTIGACIÓN

Presenta

RAFAEL GUTIÉRREZ BECERRA

DIRECTOR

Doctor Eduardo Gómez Conde

Puebla, Pue.

Agosto -2021

Gutiérrez Becerra R, 2021, Determinación de receptores estrogénicos alfa y beta en cáncer de mama ductal.



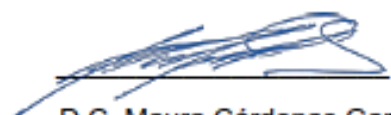
D.C Eduardo Gómez Conde



MAESTRÍA EN CIENCIAS MÉDICAS E INVESTIGACIÓN

Gutiérrez Becerra R, 2021, Determinación de receptores estrogénicos alfa y beta en cáncer de mama ductal.

Revisores



D.C. Maura Cárdenas García



D.C. Jorge Alejandro Cebada Ruiz



D.C. Juan Carlos Flores Alonso

Agradecimientos

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada con número 997645.

A la Maestría en Ciencias Médicas e Investigación de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, por permitirme ingresar a este posgrado.

A mis directores de tesis; el doctor Eduardo Gómez Conde y la doctora María Alicia Díaz y Orea[†], por su tiempo y esfuerzo en formarnos en este grado desde una perspectiva científica y humanista.

A los Hospitales, universidades y departamentos participantes: Hospital Universitario de Puebla-Coordinación de Investigación, Hospital General del Sur-Departamento de Anatomía Patológica, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla- Departamento de inmunología experimental e Inmunobiología

A los investigadores y colaboradores que apoyaron directa e indirectamente a la realización de este estudio. Con especial énfasis al Doctor Francisco Morales Rodríguez y Heriberto Narváez Rodríguez.

A los docentes de la maestría que nos apoyaron en nuestra trayectoria académica, aun en condiciones de contingencia. Con especial énfasis a la Dra. Irma del Carmen Zamora Ginez y a la Dra. Maura Cárdenas García.

A mis compañeros de generación de maestría y laboratorio, que apoyaron directa e indirectamente en mi estancia.

A mi familia y amigos, por su apoyo y acompañamiento en el transcurso de este proyecto.

Dedicatoria

A mi madre, a mi hermana y a mi novia, que me han apoyado en el logro de esta meta desde un principio e incondicionalmente.

A mi padre, por la formación y motivación de salir adelante.

A mi familia y amigos, que directa e indirectamente han compartido esta trayectoria.

A la Dra. María Alicia Díaz y Orea[†], gracias por sus enseñanzas y dedicación a la ciencia.

Al Dr. Eduardo Gómez Conde, por su amistad, estima y contribución en mi formación en el ámbito científico, médico, laboral y humanista.

Resumen

El cáncer de mama ductal es el tipo histológico más frecuente a nivel mundial, su diagnóstico histopatológico considera al receptor estrogénico alfa, receptor de progesterona, HER-2 y Ki67, clasificando 4 subtipos para su abordaje terapéutico y pronóstico. La determinación del receptor estrogénico alfa y beta en biopsias ofrece un panorama del perfil inmunohistoquímico, que puede convertirse en una diana terapéutica en todos los subtipos moleculares.

Estudio descriptivo, observacional, transversal, ambispectivo, ambilectivo, multicéntrico y heterodémico, realizado en biopsias de pacientes en 2018, en el Hospital General Sur, para el procesamiento de receptores estrogénicos alfa y beta, con base a los subtipos moleculares, grado histológico, marcador de proliferación celular ki67, edad y sexo.

Se procesaron 84 biopsias de pacientes de sexo femenino, media de edad de 51.98 años, Luminal A 32.14%, Luminal B 32.14%, HER-2 21.42% y triple negativo 14.28%, una expresión del receptor alfa en subtipos luminales, una expresión del receptor beta heterogénea, Ki67+ con mayor expresión en Luminal B, HER-2 y triple negativo, grado histológico pobremente diferenciado en HER-2 y triple negativo, y Ki67 positivo en grado moderado-pobremente diferenciado.

Los subtipos moleculares obtenidos, sexo y edad concuerdan con los reportes de la bibliografía, se expresa el receptor estrogénico beta en todos los subtipos moleculares, la expresión de Ki67 fue mayor en los subtipos luminal B, HER-2 y triple negativo, el grado histológico fue heterogéneo con tendencia a la pobre diferenciación en los subtipos Her-2 y triple negativo, los subtipos con moderada y pobre diferenciación tienen mayor expresión de Ki67.

Índice

Capítulo 1	1
1. Antecedentes generales	1
Cáncer de mama	1
Cáncer de mama ductal.....	1
Epidemiología	2
Factores de riesgo	3
Importancia estrogénica como factor de riesgo	4
Prevención.....	5
Diagnóstico	6
Clasificación clínica	7
Determinación histopatológica como factor pronóstico.....	8
Técnicas de inmunohistoquímica para determinación de receptores	9
2. Antecedentes específicos.....	11
Receptor estrogénico alfa y beta	11
Funciones del receptor estrogénico beta como diana de investigación	19
Determinación del receptor estrogénico beta	19
Efecto antiproliferativo	20
Efecto proliferativo	20
Capítulo 2	23
3. Planteamiento del problema.....	23
4. Hipótesis.....	24
5. Objetivos	25
5.1 Objetivo general.....	25
5.2 Objetivos específicos	25
6. Metodología.....	26
6.1 Diseño del estudio	26
6.2 Ubicación espacio-tiempo	26
6.3 Marco muestral	26
6.3.1 Universo de trabajo.....	26

6.3.2. Tipo de muestreo	26
6.3.3. Población de estudio.....	27
6.3.4 Tamaño de la muestra.....	27
6.4 Criterios de selección.....	27
6.4.1. Criterios de inclusión.....	27
6.4.2. Criterios de exclusión.....	27
6.4.3. Criterios de eliminación.....	28
6.5 Definición de las variables y escala de medición	28
6.5.1 Variables del estudio.....	28
6.5.2 Variables demográficas	28
6.6 Técnica y procedimiento	28
6.6.1 Estrategia de trabajo.....	28
6.6.2. Técnica de inmunohistoquímica	29
6.6.3. Diagrama de flujo.....	33
6.7 Análisis estadístico	34
7. Resultados.....	35
7.1 Procesamiento de biopsias.....	35
7.2 Determinación de la expresión receptores y subtipo molecular	36
7.3 Sexo.....	44
7.4 Edad	44
7.5 Subtipos moleculares y receptor estrogénico alfa	44
7.6 Subtipos moleculares y receptor estrogénico beta	45
7.7 Subtipos moleculares y marcador de proliferación celular Ki67.....	46
7.8 Subtipos moleculares y grado histológico.....	47
7.9 Grado histológico y marcador de proliferación celular Ki67	48
8. Discusión.....	49
9. Conclusión.....	57
Capítulo 3	58
10. Sesgos y limitaciones.....	58
11. Fortalezas.....	59
12.Perspectivas.....	60

Gutiérrez Becerra R, 2021, Determinación de receptores estrogénicos alfa y beta en cáncer de mama ductal.

13. Beneficios a la sociedad.....	61
14. Bibliografía	62
15. Anexos	75
15.1 Anexo 1. Escala de clasificación TNM de acuerdo al Comité Conjunto Estadounidense sobre el Cáncer.....	75
15.2 Anexo 2. Grupos por estadio clínico con base en la clasificación TNM de acuerdo al Comité Conjunto Estadounidense sobre el Cáncer.....	76
15.3 Anexo 3. Cuadro de determinación de receptores estrogénicos alfa y beta.	77
15.4 Anexo 4. Aspectos éticos.....	79
15.4.1 Anexo 4.1 Constancia de registro de protocolo BUAP.....	80
15.4.2 Anexo 4.2 Constancia de registro de protocolo HUP	81
15.5 Anexo 5 Variables del estudio	82
15.5.1 Anexo 6 Variables demográficas	83
15.6 Anexo 7 Logística y recursos humanos.	84
15.7 Anexo 8 Justificación	85
15.8 Anexo 9 Carta de aceptación de impresión de tesis.....	87

Índice de cuadros/ tablas

Cuadro 1. Cuadro de determinación de receptores estrogénicos alfa y beta.	77
---	----

Índice de imágenes/figuras

Figura 1. Micrografía electrónica de tejido hiperplásico adenomatoso con marcaje de receptor estrogénico beta	12
Figura 2. Estructura terciaria del receptor estrogénico beta	13
Figura 3. Esquema estructural del receptor estrogénico alfa y beta con base a las porciones funcionales: 6 regiones-3 dominios.	15
Figura 4. Vías de acción del receptor estrogénico	16
Figura 5. Esquema de los receptores estrogénicos alfa y beta, homología e interacción por vía genómica y no genómica	17
Figura 6. Biopsias de pacientes enviadas para diagnóstico de cáncer de mama, archivo de patología 2018 Hospital General del Sur.	35
Figura 7. Biopsias de pacientes con cáncer de mama ductal en el año 2018, archivo de patología del Hospital General del Sur, se muestran pacientes incluidas y excluidas del estudio.	36
Figura 8. Control de biopsia de paciente 1224, con diagnóstico cáncer de mama ductal HER2+, tinción con hematoxilina-eosina.	37
Figura 9. Biopsia de paciente 1224- Diagnóstico cáncer de mama ductal HER2+: Tinción con inmunoperoxidasa para determinación de HER2+.	38
Figura 10. Biopsia de paciente 1224- Diagnóstico cáncer de mama ductal HER2+, tinción con inmunoperoxidasa para determinación de Ki67+.	39

Gutiérrez Becerra R, 2021, Determinación de receptores estrogénicos alfa y beta en cáncer de mama ductal.

Figura 11. Biopsia de paciente 1227- Diagnóstico cáncer de mama ductal Luminal B, tinción con inmunoperoxidasa para determinación de receptor de progesterona	40
Figura 12. Biopsia de paciente 1227- Diagnóstico cáncer de mama ductal Luminal B: Tinción con inmunoperoxidasa para determinación de receptor estrogénico alfa	41
Figura 13. Biopsia de paciente 4934- Diagnóstico cáncer de mama ductal Luminal A: Tinción con inmunoperoxidasa para determinación de receptor estrogénico beta.	42
Figura 14. Biopsia de paciente 5743- Diagnóstico cáncer de mama ductal Luminal B, Tinción con inmunoperoxidasa para determinación de receptor estrogénico beta.	43
Figura 15. Subtipos moleculares y receptor estrogénico alfa.	44
Figura 16. Subtipos moleculares y receptor estrogénico beta.	45
Figura 17. Subtipos moleculares y ki67	46
Figura 18. Subtipos moleculares y grado de diferenciación celular	47
Figura 19. Grado de diferenciación celular y Ki67	48

Abreviaturas

°C	Grados centígrados
µl	Microlitro
AKT	Proteínas quinasa tipo B
ADN	Ácido desoxirribonucleico
Antib	Anticuerpo
AP1	Proteína activadora 1
ARNm	Ácido ribonucleico mensajero
BCRA1 Y 2	Genes supresores de tumores tipo mamario 1y 2.
BI-RADS	Sistema de informes y datos de imágenes mamarias
BSA	Solución de albúmina de suero bovino
BUAP	Benemérita Universidad Autónoma del Estado de Puebla.
CD36	Glicoproteína plaquetaria 4
CDK2	Quinasa dependiente de ciclina 2
CYP1B1	Citocromo P450
DAB	Diaminobendicina
E2-ER	Complejo estrógeno receptor
ER	Receptor estrogénico
ERE	Estrógenos
ERα	Receptor estrogénico alfa
ESR1	Gen de receptor estrogénico 1
ESR2	Gen de receptor estrogénico 2
FDA	Administración de medicamentos y alimentos
G0	Fase del ciclo celular quiescente
G1	Fase del ciclo celular crecimiento 1
G2	Fase del ciclo celular de crecimiento 2
HCC1860	Línea celular de carcinoma ductal invasivo juvenil
HER2	Receptor de factor de crecimiento epidérmico tipo 2
Hippo-YAP-TAZ	Vía de señalización Salvador-Verrugas-Hipopótamo
HK1	Hexocinasa 1
HSP90	Proteína de shock térmico de 90 kilodantons

Gutiérrez Becerra R, 2021, Determinación de receptores estrogénicos alfa y beta en cáncer de mama ductal.

HUP	Hospital Universitario de Puebla
IGF-2	Factor de crecimiento insulínico tipo 2
IgG	Inmunoglobulina tipo G
IgM	Inmunoglobulina tipo M
KDa	Mil dalton
Ki67	Proteína de proliferación celular Ki67
LRP5	Proteína de baja densidad 5
MAPK	Proteína quinasas activadas por mitógenos
MC10	Anticuerpo monoclonal de receptor estrogénico Beta 10
MCA1974	Receptor de estrógeno humano anti-ratón Beta 1
MCF-7	Línea celular de adenocarcinoma ductal caucásico humano
MDA-MB-435	Línea celular de adenocarcinoma de mama caucásico humano adulto
mTOR	Diana de rapamicina en células de mamífero
NOL9	Proteína nucleadora 9
NOM	Norma oficial mexicana
P21	Proteína quinasa dependiente de ciclina 1 de 21 kDa
P27	Proteína inhibidora de quinasa dependiente de ciclina de 27 kDa
P450	Enzima con citocromo P450
P53	Proteína supresora de tumores de 53 kDa
PBS	Tampón fosfato salino
pH	Potencial de hidrógeno
PI3K	Fosfoinositol 3-quinasa
PPG5/10	Anticuerpo monoclonal beta 1 derivado de péptido sintético C
PTEN	Enzima fosfatidilinositol-3,4,5-trisfosfato 3-fosfatasa
Ras	Proteína monomérica GTPasa
RE β	Receptor estrogénico beta
S	Fase del ciclo celular de síntesis
SP1	Proteína de especificidad 1
TNM	Tumor, nódulo y ganglio.
Tris-HCL	Trisaminometano
VEGF	Factor de crecimiento endotelial vascular

Capítulo 1

1. Antecedentes generales

Cáncer de mama

El cáncer de mama es una enfermedad crónico-degenerativa, multifactorial, heterogénea y en algunos casos hormono-dependiente, que se caracteriza por la proliferación descontrolada de células del tejido estromal o parenquimatoso de la mama (1,2).

Las estirpes histológicas que conforman a la glándula mamaria normal proceden de tejido mesénquimal que forma de 16 a 24 brotes embrionarios que conforman el tejido parenquimatoso de la mama (ductos y lobulillos), en condiciones normales en respuesta estrogénica el tejido parenquimatoso y estromal se hipertrofia hasta la fase premenstrual, y a menos que ocurra el embarazo el descenso normal de estrógeno y progesterona en la fase post-menstrual hace que el tejido mamario regrese a su estado basal (3,4).

La carcinogénesis del tejido mamario además de estar ligada al sexo femenino, se considera como una enfermedad ligada a la edad, la senescencia replicativa ligada a la edad la hace una enfermedad de aparición multicausal, progresiva y diagnóstico difícil (5,6).

Al ser una enfermedad crónico-degenerativa con alto impacto en el sector salud, se requiere que su investigación sea coordinada por instituciones de salud y órganos gubernamentales a fin de permitir su detección temprana para un abordaje integral que disminuya su mortalidad (7).

Cáncer de mama ductal

De acuerdo a la estirpe histológica afectada, encontraremos diferentes tipos de neoplasias que pueden afectar al tejido mamario: células del tejido estromal (sarcomas, fibromas, lipomas etc.), células de tejido parenquimatoso (células ductales o lobulillares)(8–10).

Gutiérrez Becerra R, 2021, Determinación de receptores estrogénicos alfa y beta en cáncer de mama ductal.

Dentro de las estirpes histológicas el cáncer de mama, el tipo ductal representa cerca del 80 % de los tumores infiltrantes, por su capacidad invasiva puede invadir tejido local sano, ganglios linfáticos regionales e incluso en estadios avanzados generar metástasis en órganos diferentes de la mama (11,12).

El consenso mexicano sobre diagnóstico y tratamiento del cáncer mamario considera la determinación inmunohistoquímica para la clasificación y elección terapéutica de esta enfermedad, considerando en la determinación inmunohistoquímica clásica; receptor estrogénico alfa, receptor de progesterona y receptor de factor de crecimiento epidérmico tipo 2 (HER2) y al marcador de proliferación celular ki67(1).

Epidemiología

El cáncer de mama ductal es una enfermedad de interés mundial por su elevada incidencia y prevalencia situándose como la primera causa de muerte por cáncer en sexo femenino afectando a mujeres en edades menores a los 45 años, con una prevalencia en la edad de 45 a 65 años (13,14).

Cada año se diagnostican cerca de 2.1 millones de casos nuevos de los cuales, 627 mil fallecen representando el 15% de todas las muertes por cáncer en mujeres, convirtiéndola en el primer tipo de cáncer ginecoobstétrico con mayor incidencia y mortalidad a nivel nacional, superando desde el año 2006 al cáncer cervicouterino (8,15–17).

El último reporte internacional de la agencia de investigación de cáncer sitúa a esta patología en primer lugar junto con cáncer de pulmón con un 11.6% con 2,088,876 casos para el 2018, teniendo una mortalidad para el mismo año del 6.6% que equivale a 626,679 casos (17).

A nivel nacional el reporte Globocan 2018, de una población de 130,759,070 habitantes, el cáncer de mama se sitúa como primera causa de cáncer obteniendo un 14.3% con 27,283 casos, seguida de cáncer de próstata con 13.1%, al realizar la distinción por sexo el cáncer de mama en mujeres se sitúa con un 26% con 27,283 casos nuevos por año (18).

Gutiérrez Becerra R, 2021, Determinación de receptores estrogénicos alfa y beta en cáncer de mama ductal.

Para el último reporte 2020, Globocan sitúa a cáncer de mama como primera causa de cáncer con 15.3% en ambos sexos, 28.2% solo en sexo femenino con 29929 casos, obteniendo una incidencia de 40.5% y una mortalidad de 10.6% (19).

En el estado de Puebla de acuerdo al último boletín del sistema nacional de vigilancia epidemiológica noviembre 2018, existe un acumulado de 183 casos en 2017 y 283 casos en 2018 (20).

Factores de riesgo

Al ser una enfermedad multifactorial y heterogénea posee diferentes factores que pueden desencadenar su activación; dentro de los factores geográficos se relacionan procesos de industrialización con contaminación de aguas fluviales, suelo y aire (21).

Dentro de los factores intrínsecos y extrínsecos relacionados se encuentra: sexo femenino, edad, antecedentes familiares de cáncer, menarquia temprana, menopausia tardía, mutaciones genéticas, densidad mamaria, exposición iatrogénica a radiación, uso de terapia hormonal, consumo de drogas, sedentarismo y obesidad (1,22).

Por su incidencia se sabe que es un tipo de neoplasia que dentro de su fisiopatología influyen factores hormono-dependientes, siendo el mayor factor de riesgo pertenecer al sexo femenino, presentando una incidencia cercana solo al 1% en hombres (23).

La raza es considerada como un factor de riesgo ya que la incidencia de cáncer de mama muestra variaciones que van de los 27 casos por 100 mil habitantes en pacientes de raza africana y del este de Asia, a 92 casos por 100 mil habitantes en pacientes de la región de Norte América, esperando un aumento de la incidencia general para 2050 de 3.2 millones de casos (5).

Importancia estrogénica como factor de riesgo

Se piensa que niveles elevados de estrógenos a lo largo de la vida son un factor de riesgo importante, estos niveles pueden deberse a una menarquia temprana, menopausia tardía, o anticoncepción prolongada, los subtipos moleculares luminales (receptor estrógeno alfa-progesterona positivo) tienen mayor incidencia dentro de las estirpes moleculares del cáncer con una prevalencia de un 70% de todos los casos (12,24). Múltiples estudios de corte clínico avalan el riesgo de padecer cáncer de mama con niveles estrogénicos elevados a lo largo de la vida, así como su relación con tratamiento de sustitución con terapia hormonal a base de estrógenos (25,26).

La carcinogénesis mediada por estrógeno se ha asociado a los metabolitos intracelulares en el cual la enzima P450, en especial la CYP1B1 (con alta expresión en ovario, útero y mama) tiene una función hidrolítica que implica la producción de radicales libres (4-hidroxi-estradiol, 17-oestradiol) que se relaciona con el daño a nivel de ADN (ácido desoxirribonucleico), estos metabolitos aunados a múltiples mutaciones de reparación de ADN expresada en genes supresores tumorales tales como BCRA1, BCRA2, P53, P21, P27, pueden estar relacionada a cáncer de mama en pacientes con alta exposición estrogénica (22,27–29).

La función intracelular estrogénica considera la interacción nuclear con efectos genómicos en el ADN (función del receptor estrogénico alfa), en 1996, se detecta una isoforma del receptor estrogénico alfa denominado beta (RE-b), el cual se encuentra aún en estudio, pero podría explicar la fisiopatología de subtipos moleculares resistentes a terapia hormonal y aparentemente carentes de receptores estrogénicos alfa como el subtipo HER2 y triple negativo (10).

Al ser una enfermedad multifactorial y heterogénea que afecta a diversas estirpes histológicas, dentro de las cuales existen diferentes subtipos moleculares con una expresión variada de receptores celulares, no existe hasta el momento una vía común que explique la carcinogénesis mamaria en general, sin embargo, algunas de las vías dilucidadas para los tumores con carencia de receptores

Gutiérrez Becerra R, 2021, Determinación de receptores estrogénicos alfa y beta en cáncer de mama ductal.

estrogénicos son; para triple negativo la vía PI3K/Akt/mTOR y la vía Wnt- β -catenina (30,31). Y para el subtipo HER2, la vía Ras/MAPK. (32).

El consenso nacional sobre el diagnóstico inmunohistoquímico determina la expresión del receptor estrogénico alfa, como base de la clasificación de los subtipos moleculares de cáncer luminal A y B, en este contexto, el receptor estrogénico alfa tiene efectos proliferativos que pueden ser inhibidos a través de tratamiento hormonal anti-estrogénico (15).

Prevención

Pese a las diversas estrategias que ha implementado secretaria de salud a nivel nacional mediante campañas de diagnóstico oportuno, mastografías, pláticas poblacionales, capacitación continua, guías de diagnóstico-seguimiento oportuno para cáncer de mama en los tres niveles de atención, vigilancia de la norma oficial Mexicana NOM-041-SSA2-2011, esta patología sigue detectándose en estadios localmente avanzados a nivel nacional, siendo el diagnóstico en etapas clínicas IIIB-IIIC el más frecuente (33,34).

Debido a su diagnóstico tardío, esta patología se convierte en una enfermedad de interés para salud pública nacional debido a la alta mortalidad y morbilidad así como repercusión económica para el sector salud, se estima que el precio de atención anual va de 74 mil a 110 mil pesos, el cual puede llegar hasta 199 mil pesos en estadios avanzados IV (35).

Poder disminuir la incidencia de esta enfermedad requiere realizar diagnóstico oportuno desde el hogar, la sensibilización y capacitación a las mujeres para la autoexploración mensual de las glándulas mamarias requiere ser un hábito común de concientización, múltiples manifestaciones clínicas pueden orientar al diagnóstico como lo son; cambios en la forma o textura de la glándula mamaria, areola o pezón, piel escamosa o hinchada, engrosamiento de la piel o masas palpables, secreciones del pezón, presencia de inflamación de ganglios linfáticos regionales (7,16,36).

Gutiérrez Becerra R, 2021, Determinación de receptores estrogénicos alfa y beta en cáncer de mama ductal.

Aunado a las manifestaciones clínicas que puede notar la paciente, la exploración clínica detallada por personal de la salud y el uso de estudios de gabinete y estudios de laboratorio, solo la determinación por histopatología permite llegar a la confirmación diagnóstica mediante toma de biopsia y procesamiento inmunohistoquímico (37).

Diagnóstico

Una buena exploración clínica y estudios complementarios encaminan al diagnóstico oportuno en estadios tempranos, el diagnóstico diferencial por imagen de cáncer de mama, se realiza en primera instancia mediante el sistema de datos de reporte BI-RADS (por sus siglas en inglés Breast Imaging Reporting and Data System), que da un estimado de la probabilidad relativa de un diagnóstico normal, benigno o maligno de la mastografía realizada (38).

Las pacientes que por estudios de imagen o abordaje clínico tengan alta sospecha de cáncer de mama, requerirán confirmación histopatológica a través de la toma de biopsia, existiendo técnicas de inmunohistoquímica que por la expresión de receptores hormonales de estrógeno alfa, progesterona y receptor 2 de factor de crecimiento epidérmico humano (HER2) (positivos+/negativos-), clasifican en 4 subtipos moleculares a cáncer de mama; luminal A (RE+, RP+ y HER2-) luminal B (RE+, RP+ y HER+), HER2 (RE-,RP- y HER+) y triple negativo (RE-,RP- y HER-2), dicha clasificación ha tomado importancia en la mayoría de hospitales de tercer nivel ya que permite poder individualizar el pronóstico y tratamiento de cada subtipo molecular (1).

La determinación clásica de receptores mediante técnica de inmunohistoquímica con observación mediante microscopía simple, permite identificar a los receptores de progesterona, estrógeno alfa y ki67 como receptores nucleares (2).

Para el caso del receptor HER-2 miembro de los receptores tirosin-cinasa, su identificación por inmunohistoquímica con observación mediante microscopía simple, permite identificarle a nivel de membrana celular, sus efectos proliferativos

Gutiérrez Becerra R, 2021, Determinación de receptores estrogénicos alfa y beta en cáncer de mama ductal.

se relacionan a las vías RAS, PI3K/AKT, janus cinasa y fosfolipasa C, la importancia de su determinación para la clasificación de subtipos moleculares estriba en la respuesta a tratamiento (12 a 68%) mediante el uso de un anticuerpo monoclonal específico aprobado por la FDA llamado trastuzumab (39).

Además de la determinación de receptores clásicos, el reporte histopatológico debe mencionar el grado histológico de las muestras con base a la clasificación de Scarff-Bloom-Richardson reportando tres grados de diferenciación: grado I bien diferenciado, grado II moderadamente diferenciado, grado III mal diferenciado (15,40).

La escala de clasificación de Scarff-Bloom-Richardson permite conocer en términos generales el grado de pleomorfismo celular de la muestra mediante la determinación de; índice mitótico (número de mitosis por campo 0-10), pleomorfismo nuclear (variabilidad de tamaño y forma del núcleo en comparación con tejido normal) y diferenciación glandular (porcentaje de formación de estructuras tubulares 10-75%) (41).

A nivel internacional la estadificación por grados con base en la escala de Scarff-Bloom-Richardson ha sido recomendada por la organización mundial de la salud, considerándose para la elección terapéutica como indicador de ausencia de tratamiento adyuvante en pacientes con grado bien y moderadamente diferenciado, al estar relacionado el pleomorfismo celular con el estatus de proliferación celular, la incorporación de nuevos marcadores biomoleculares como ki67 (marcador de proliferación celular) permite conocer mejor el perfil de agresividad de las muestras (42).

Clasificación clínica

De acuerdo a el Comité Conjunto Estadounidense sobre el Cáncer (por sus siglas en inglés AJCC) en su última publicación sobre el tamaño tumoral, número de ganglios linfáticos y metástasis (por sus siglas en inglés TNM), establece los criterios de estadificación que se consideran internacionalmente aceptados (ver anexo 1) (43).

Gutiérrez Becerra R, 2021, Determinación de receptores estrogénicos alfa y beta en cáncer de mama ductal.

Grupos por estadio clínico

Con base en la clasificación TNM, la AJCC propone cuatro estadios para el cáncer de mama, considerando: “estadio 0; TIS, N0, M0, estadio I; T1, N0, M0, estadio IIA; T0-T2, N1-N0, M0, estadio IIB; T2-3, N0-1, M0, estadio IIIA; T0-T3, N1-N2, M0, estadio IIIB; T4, N0-2, M0, estadio IIIC; cualquier T, N3, M0, estadio IV; cualquier T, cualquier N, M1”(ver anexo 2) (43).

Determinación histopatológica como factor pronóstico

El análisis del reporte inmunohistoquímico como factor pronóstico considera; que los subtipos luminal A (receptor de estrógeno alfa y progesterona positivo, HER-2 negativo y Ki67 bajo) y luminal B (receptor de estrógeno alfa y progesterona positivo, HER-2 negativo/bajo y Ki67 alto) son de buen pronóstico al responder en su mayoría al tratamiento anti-estrogenico, el subtipo HER-2 (receptores estrogénicos negativos, HER-2 positivo, Ki67 alto) era considerado el de peor pronóstico (actualmente mal pronóstico), pero el desarrollo de un anticuerpo monoclonal específico trastuzumab ha mejorado la expectativa de sobrevida, para el caso triple negativo es considerado actualmente el de peor pronóstico encaminando la terapia del mismo al uso de esquemas de quimioterapia (11).

El reporte del grado histológico considerando el pleomorfismo celular en comparación con el tejido mamario sano, se considera como un factor pronóstico independiente, la clasificación de Scarff-Bloom-Richardson considera como indicadores importantes el tipo histológico y el grado nuclear, se determina que las pacientes con tumores de alto grado tienen una sobrevida del 30% en comparación a los de bajo grado con una sobrevida de hasta el 90% (36,44).

El marcador de proliferación celular Ki67 expresado en las fases G1, S y G2 del ciclo celular (a excepción de la fase de quiescencia G0), se considera el gold estándar para la determinación del estatus proliferativo mediante técnicas de inmunohistoquímica, incluso es considerado como un marcador de diferenciación de los subtipos moleculares luminal A (ki67<20%) y luminal B (ki67>20%), por lo que se considera como indicador de mal pronóstico (45).

Gutiérrez Becerra R, 2021, Determinación de receptores estrogénicos alfa y beta en cáncer de mama ductal.

Técnicas de inmunohistoquímica para determinación de receptores

Las técnicas de determinación inmunohistoquímica se han convertido en un método de rutina dentro del reporte histopatológico de las biopsias de pacientes con cáncer de mama, por la fisiología normal de la mayor parte del tejido endocrino en especial glándula mamaria, la determinación de receptores de tipo estrogénico se ha convertido en una práctica que orienta al médico clínico y quirúrgico en la toma de decisiones sobre este padecimiento (46).

Los receptores de tipo estrogénico que se determinan en el reporte histopatológico de cáncer de mama son el receptor estrogénico alfa y el receptor de progesterona, su evaluación tiene implicaciones pronósticas benéficas debido a su relación con una mejor respuesta a tratamiento médico, utilizándose también para conocer el tipo y origen de recurrencia metastásica, otro receptor que se han incluido para la confirmación diagnóstica entre carcinoma ductal y lobulillar es E-cadherina, observándose E-cadherina en membrana citoplasmática de carcinomas de tipo ductal (2).

Los receptores de tipo estrogénico se han detectado en una amplia variedad de tejidos; médula ósea, cerebro, hígado, colon, glándula salival, mama y ovario, es conocido que la función de los receptores estrogénicos juega un papel importante en la fisiología normal reproductiva, cobrando importancia en los procesos neoplásicos por su función como receptores de tipo nuclear que median efectos genómicos y no genómicos para la síntesis de proteínas y proliferación celular (47).

Además del receptor estrogénico alfa y el receptor de progesterona, se ha identificado un receptor estrogénico independiente denominado receptor estrogénico beta, sin embargo, este no se determina por rutina utilizándose hasta el momento solo con fines de investigación (48).

El procesamiento de muestras por parte de los archivos de patología, pese a existir diferentes métodos inmunohistoquímicos (determinación mediante inmunofluorescencia), se basa en la técnica de procesamiento por

Gutiérrez Becerra R, 2021, Determinación de receptores estrogénicos alfa y beta en cáncer de mama ductal.

inmunoperoxidasa debido a su bajo costo de procesamiento, facilidad de lectura en microscopía simple, ventaja sobre análisis retrospectivo de muestras, procesamiento de muestras con poco tejido disponible y preparación en laminilla permanente (49).

La determinación de receptores estrogénicos por técnica inmunoperoxidasa ya sea directa (anticuerpo primario conjugado o marcado que reacciona a peroxidasa) o indirecta (primer anticuerpo IgG o IgM que reconoce epítipo y segundo anticuerpo que reacciona con inmunoglobulina acoplada a peroxidasa) tienen la ventaja de mostrar una tinción de color café o roja nivel del receptor buscado (tinción nuclear, citoplasmática, membrana celular) (50).

Gutiérrez Becerra R, 2021, Determinación de receptores estrogénicos alfa y beta en cáncer de mama ductal.

2. Antecedentes específicos

Receptor estrogénico alfa y beta

Los consensos nacionales e internacionales consideran la determinación inmunohistoquímica para el abordaje y pronóstico de las pacientes con cáncer de mama ductal (15,51,52). Uno de los receptores que se determinan en este muestreo es el receptor estrogénico alfa el cual permite clasificar en los subtipos moleculares clásicos (Luminal A, Luminal B, HER2, Triple negativo), la prevalencia de los subtipos moleculares a nivel nacional es 60% para receptores hormonales positivos (Luminal A y B), 23.1% para triple negativo y 20.4% para HER-2 (15).

La determinación de la expresión del receptor estrogénico alfa en biopsias de pacientes con cáncer de mama ductal ha sido ampliamente estudiada debido a que es una determinación de rutina, esta determinación nos da un perfil del comportamiento de cada subtipo molecular clasificándose en tres riesgos de acuerdo al factor pronóstico St. Gallen 2007 con actual vigencia en la NOM-041: de bajo riesgo (con determinación de receptor estrogénico alfa y progesterona positivo, determinación de HER2 negativo, edad menor a 35 años), de riesgo intermedio (con receptor estrogénico alfa y progesterona negativo, o HER2 sobreexpresado, edad menor a 35 años) y de alto riesgo (con receptor estrogénico alfa y progesterona negativo, o HER2 sobreexpresado, o receptores negativos) (7).

El tejido mamario en condiciones normales sale de estado quiescente por estímulos estrogénicos propiciados por picos en el ciclo menstrual, se estima que hasta alrededor de los 40 años exista un promedio de 450 a 500 ciclos menstruales, de los cuales si el embarazo no ocurre los lobulillos y conductos galactóforos pierden la hipertrofia ganada y regresan a la normalidad, internacionalmente se estima que del 70 al 80% de todos los tumores de mama provienen de células ductales (conducto), en general se ha observado que el índice de división normal de Hayflick en células epiteliales, mioblastos (conforman el epitelio ductal) y linfocitos es de 8 a 9 replicaciones, en cultivos celulares la capacidad máxima observada oscila entre 50 y 100 duplicaciones (53).

Gutiérrez Becerra R, 2021, Determinación de receptores estrogénicos alfa y beta en cáncer de mama ductal.

La localización del receptor estrogénico alfa y beta es nuclear, su síntesis ocurre en los ribosomas unidos al retículo endoplásmico rugoso, como es de esperarse, las células ductales de la glándula mamaria posee ribosomas unidos a retículo endoplásmico rugoso, los cuales aumentan su tamaño y disposición citoplasmática cuando ocurre hiperplasia por estímulos estrogénicos (27,54).

Anibal; 2016, identifica la presencia del receptor estrogénico beta en tejido hiperplásico adenomatoso experimental, si bien el tejido difiere de la glándula mamaria por su especialización, ambos son epitelios glandulares con características morfológicas generales similares, convirtiéndose de utilidad para demostrar su localización celular; podemos observar en la micrografía de la figura 1 señalado con flechas, la presencia del receptor estrogénico beta en retículo endoplásmico, envoltura nuclear e intranuclear (54).

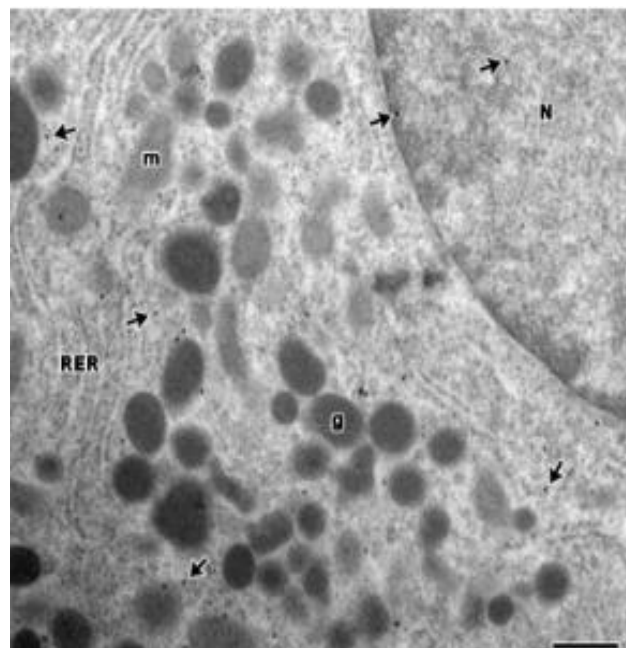


Figura 1. Micrografía electrónica de tejido hiperplásico adenomatoso con marcaje de receptor estrogénico beta. m= mitocondria, N= núcleo, RER= retículo endoplásmico rugoso, g= aparato de Golgi. Tomado de Anibal: 2016.

Gutiérrez Becerra R, 2021, Determinación de receptores estrogénicos alfa y beta en cáncer de mama ductal.

Como receptores nucleares, los receptores estrogénicos adoptan una conformación proteica en estructura terciaria conformada por 6 regiones (A-F) y 3 dominios de carácter alfa, podemos observar en la figura 2 la conformación terciaria con la porción de dominio de unión a ligando en color verde, esta porción correspondiente al dominio DBD que media la interacción de efectos genómicos con ADN (55).

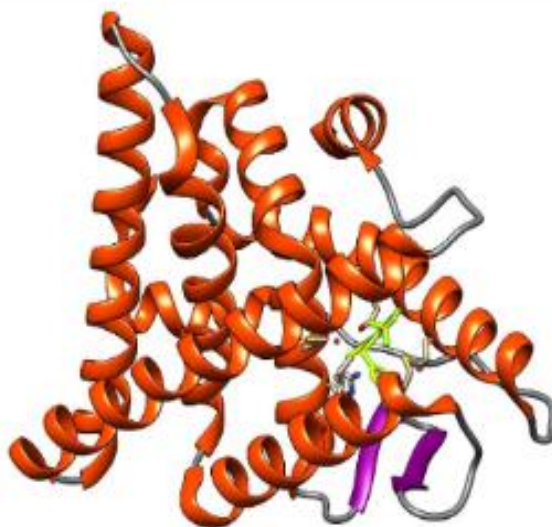


Figura 2. Estructura terciaria del receptor estrogénico beta. Tomado de Chimera: 2018

En su estructura terciaria el receptor estrogénico beta está formado por 530 aminoácidos con un peso molecular de 59.2 KDa; por ser el primer receptor identificado se denominó receptor estrogénico beta 1, sin embargo existen isoformas por polimorfismos resultantes de splicings alternativos de los exones finales codificantes exón 8 y 9 respectivamente, destacando la isoforma denominada receptor estrogénico beta 2 (REb2) que se forma mediante un empalme alternativo del ARNm, el receptor estrogénico beta 2 codifica una proteína de 495 residuos de aminoácidos, con un peso molecular de 55.5 kDa, tiene una porción C-terminal única, los aminoácidos correspondientes al exón 8 se reemplazan con 26 aminoácidos únicos, sin embargo esta isoforma aún se encuentra en estudio (56).

Gutiérrez Becerra R, 2021, Determinación de receptores estrogénicos alfa y beta en cáncer de mama ductal.

La composición de los receptores estrogénicos en 6 regiones corresponde al dominio A/B, dominio C y dominio E, los cuales funcionan:

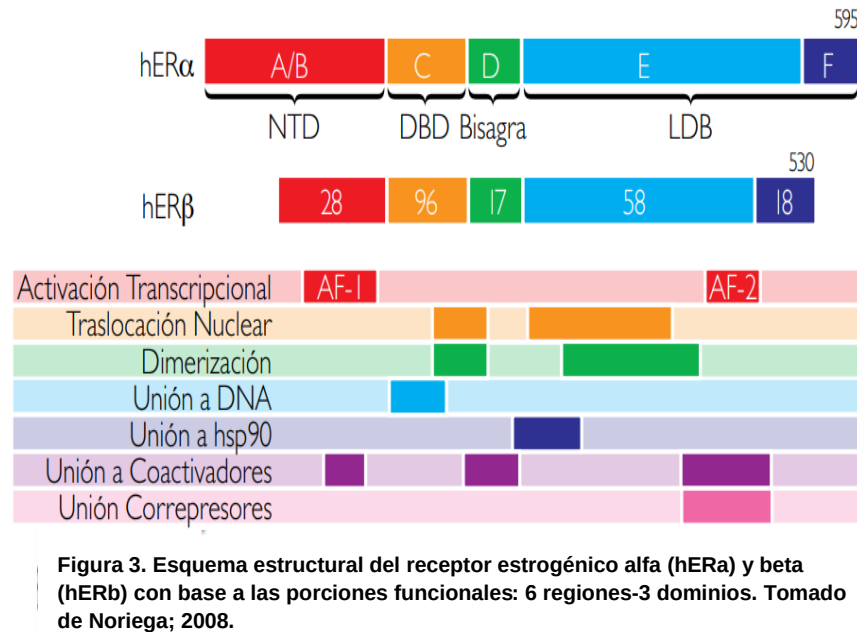
Dominio A/B (dominio N-terminal): se trata de una región N-terminal en la cual existen variaciones de acuerdo al receptor (alfa o beta), se encarga de la activación transcripcional, sus secuencias N-terminales adoptan diferentes estructuras dependiendo la isoforma estudiada (55).

Dominio C (dominio dua): es una región conservada donde podemos encontrar dos dedos de zinc, que le dan capacidad de unirse a ADN, las isoformas ER α y ER β comparte los mismos elementos de respuesta genómica (homología 96%) (55).

Dominio E (dominio DUL/de unión): región moderadamente conservada donde se fija el ligando de cada receptor, se conforma por 12 hélices donde existe un espacio de unión a ligando, las proteínas ER α y ER β tienen una similitud solo del 55% (55).

Región bisagra (D): Contiene una señal de localización nuclear que se desenmascara al unirse al ligando, sirve como una región flexible que conecta los dominios DBD y LBD; las regiones bisagras y unión a ligando (55) .

La región F o dominio C-terminal: Contiene un total de 42 aminoácidos que varía según el tipo de receptor nuclear alfa o beta y puede encontrarse inactivo (activo) debido a su fosforilación mediante la chaperona hsp90 (ver esquema de la figura 3 donde se compara la homología y función del receptor estrogénico alfa y beta) (55).



El mecanismo clásico de acción estrogénica mediante su unión nuclear a receptor (primer mensajero) genera elementos de respuesta al estrógeno (por sus siglas en ingles ERE segundos mensajeros), una vez unido el complejo estrógeno-receptor (E2-ER) puede modificar la expresión génica mediante el reclutamiento de proteínas co-reguladoras distintas, conocidas como co-activadores y co-represores, la acción genómica independiente de ERE en los complejos nucleares E2-ER interactúan con otros factores de transcripción, como la proteína activadora 1 (AP1) o la proteína de especificidad 1 (SP1)(ver figura 4) (57,58).

El reclutamiento de una variedad de correuladores para alterar la estructura de la cromatina facilita el reclutamiento ya sea por parte del receptor estrogénico alfa o beta mediante la ARN polimerasa II (Pol II) en la maquinaria transcripcional, la actividad transcripcional de los RE se puede modular mediante diferentes tipos de modificaciones postraduccionales, como la fosforilación, la acetilación, la ubiquitinación y la metilación (59).

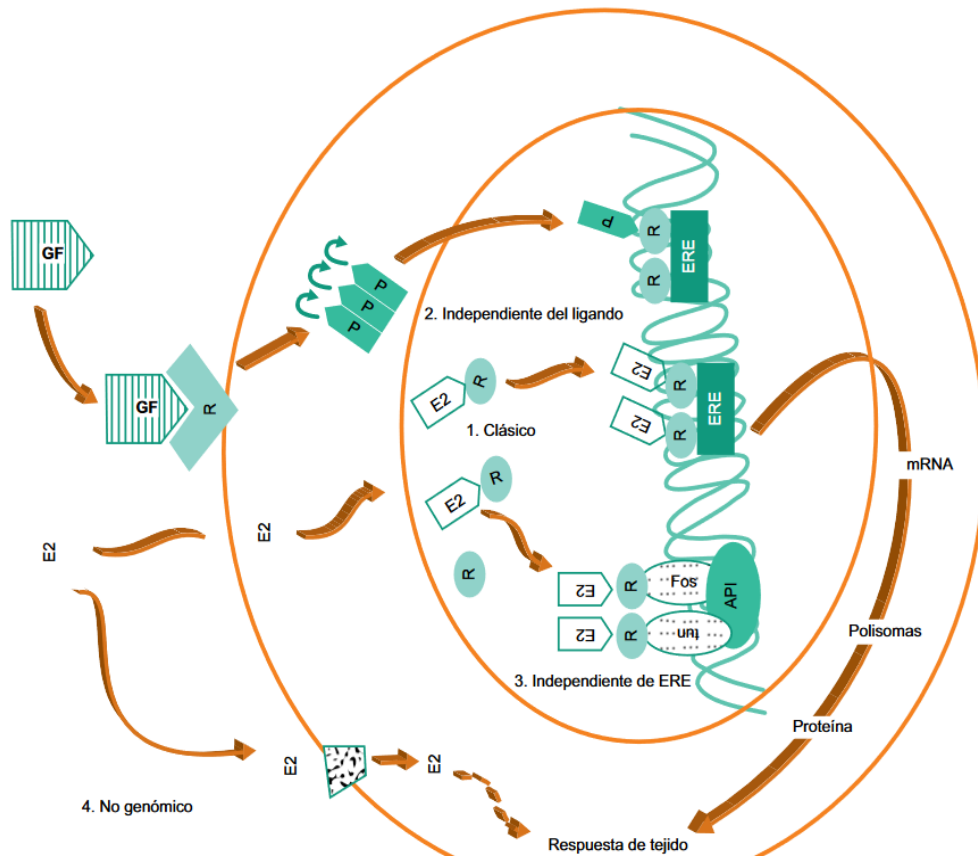


Figura 4. Vías de acción del receptor estrogénico. GF= factor de crecimiento, R= receptor, E2= estrógeno, P= proteína mensajera, ERE= receptor estrogénico nuclear. tomado de Hail; 2001.

En la acción genómica independiente del ligando, los factores de crecimiento activan los factores de transcripción nuclear directamente, lo que conduce a la activación de la transcripción nuclear (58).

En la acción no genómica, el complejo E2-ER activa las cascadas de proteína-quinasa o el monofosfato de adenosina ciclina (cAMP) y el calcio, lo que conduce a funciones alteradas de las proteínas en el citoplasma. ERK: quinasa regulada por señal extracelular; PI3K: fosfatidilinositida 3-quinasa; CDR: co-represor; CoA: coactivador, los factores de crecimiento activan las cascadas de la proteína quinasa, como Ras-ERK o PI3K-Akt, lo que provoca la activación de los factores de transcripción nuclear (ver esquema de esta explicación en la figura 5) (58).

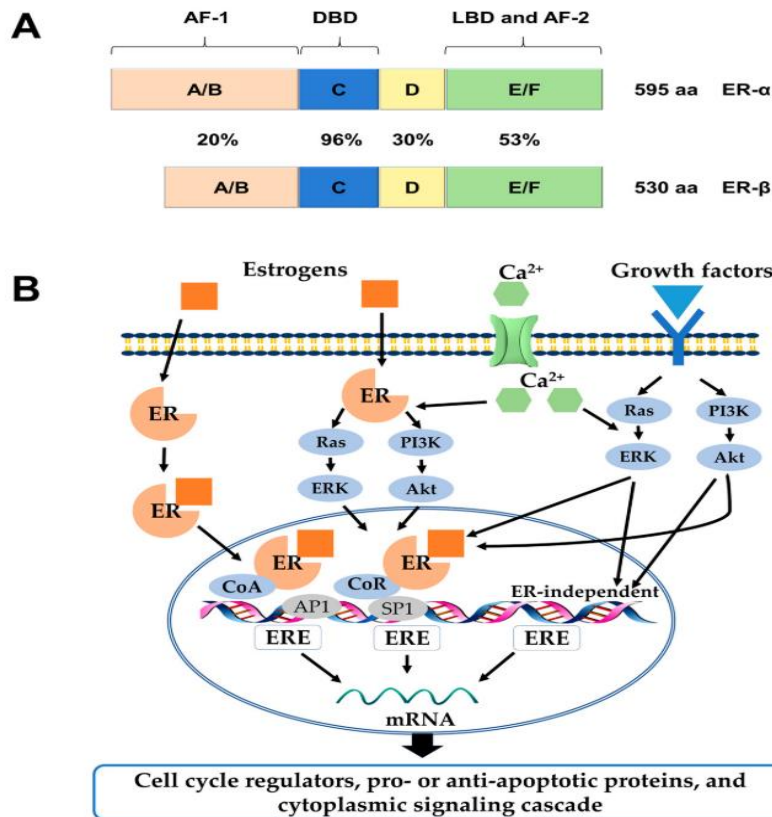


Figura 5. Esquema de los receptores estrogénicos alfa y beta, homología e interacción por vía genómica y no genómica. ER- α = receptor estrogénico alfa, ER- β = receptor estrogénico beta, ER= receptor estrogénico, ERE= receptor estrogénico nuclear, porciones de receptores= A/B, DBD, LBD, segundos mensajeros= Ras, PI3K, AKT, Coenzimas= CoA, CoR., A. Esquema de receptores estrogénicos, B Efecto genómico u no genómico. Tomada de Rong; 2018.

La activación del receptor estrogénico beta dependiente del ligando 17 β -estradiol induce la interacción con DNA y activación transcripcional, la activación independiente de ligando activa varias quinasas de las redes de señalización de factores de crecimiento que logran activar al receptor estrogénico y a sus proteínas correguladoras en ausencia de ligando, la activación independiente de la unión del complejo hormona-receptor a su elemento de respuesta específico actúa directamente sobre ADN (58).

En conjunto la activación del receptor estrogénico alfa y beta se piensa que favorecen en condiciones normales a la hipertrofia y regulación normal celular, actuando sobre genes diana como: reguladores de ciclo celular (CDK2), proteínas apoptóticas (p21, p27), moléculas de adhesión celular (cadherina e), y componentes de señalización celular (WNT, IP3, mTOR) (30).

Gutiérrez Becerra R, 2021, Determinación de receptores estrogénicos alfa y beta en cáncer de mama ductal.

La investigación internacional en cáncer de mama ha ofrecido nuevas determinaciones moleculares como es el caso de Ki67, este marcador se codifica en el gen del cromosoma 10 brazo largo, locus 10q26.2, se expresa en fases de proliferación celular (G2, M), para el caso de cáncer de mama ductal se realiza la determinación con fines de investigación, sin realizarse un consenso sobre el punto de corte para la expresión de alto o bajo grado. Se reporta una prevalencia de Ki76 para luminal A menor a 14%, considerándose como de bajo grado, para el caso de otros subtipos como luminal B la prevalencia es mayor a 14% lo que podría considerarse como de alto grado, aunque algunos consideran como punto de corte valores mayores a 20% (52,60).

Análisis genómicos de mutaciones asociadas a cáncer de mama disponibles en el mercado son; PAM-50, MammaPrint, Blueprint, determinaciones que aún continúan en investigación y no se realizan de rutina en los centros de atención nacionales (51).

Dentro de la determinación de receptores estrogénicos alfa y beta: El receptor estrogénico alfa se codifica en el cromosoma seis 6q25.1, el receptor estrogénico beta en el cromosoma 14 14q23.2 en los genes respectivos ESR1 Y ESR2, por lo que descarta que sean isoformas, el receptor beta tiene un 96% de similitud con el alfa, pero una homología por ligando del 60%. Cinco variantes del receptor estrogénico b se conocen, pero aún continúan en estudio, se considera que solo el receptor beta 1 tiene propiedades intrínsecas en las vías de señalización en el cáncer, además se sabe que la función del RE-b5 es modular la interacción del RE-b1 en dicha señalización (61).

Estudios del receptor beta estrogénico en cáncer de mama ductal triple negativo con base a la clasificación inmunohistoquímica clásica, estiman que ha sido encontrado entre el 50 y 90% de los cánceres triples negativos, pudiendo tener efectos genómicos y no genómicos en la señalización intracelular, dentro de los efectos no genómicos podemos dilucidar las cascadas de señalización como MAPK y PI3K/AKT para la proliferación celular (61,62).

Funciones del receptor estrogénico beta como diana de investigación

Al ser el estrógeno esencial para el crecimiento y el desarrollo de las glándulas mamarias mediante su acción nuclear, se ha asociado con la promoción y el crecimiento del cáncer de seno, en específico con el cáncer de mama ductal, el receptor estrogénico beta se encuentra en las células epiteliales y estromales ductales y lobulares del roedor, mientras que ER alfa solo se encuentra en las células epiteliales ductales y lobulares y no en el estroma (27).

El papel que puede jugar el receptor estrogénico beta en la fisiopatología del cáncer de mama ductal estriba en que algunos subtipos moleculares de cáncer de mama ductal hormono dependiente no responden del mismo modo al tratamiento con antagonistas selectivos clásicos del receptor estrogénico alfa, los subtipos HER-2 parecen ser estimulados por la presencia de metabolitos estrogénicos sin presentar el receptor estrogénico alfa por inmunohistoquímica, en el caso del subtipo triple negativo el receptor estrogénico beta podría explicar la activación de vías no genómicas dependientes del receptor estrogénico beta (63).

Múltiples estudios sugieren efectos proliferativos y anti-proliferativos asociados al receptor beta estrogénico sin llegar a un consenso, no se ha encontrado estudios similares que propongan una revaloración sobre la determinación de la expresión de receptores estrogénicos alfa y beta en biopsias de cáncer de mama ductal, subtipos moleculares, grado de diferenciación, edad y estatus proliferativo (ki67) en población local, existen estudios que consideran la expresión del receptor estrogénico alfa y beta en líneas celulares, determinando el efecto proliferativo y anti-proliferativo, pese a esto, no existe una estandarización sobre el tipo de anticuerpo monoclonal utilizado (ver cuadro anexo 3) (64).

Determinación del receptor estrogénico beta

En 2012 Wu X. y cols, advertían sobre la pobre estandarización en la investigación de receptores estrogénicos para cáncer, en especial cáncer de mama, considerando diferentes efectos para el receptor estrogénico beta, en su

Gutiérrez Becerra R, 2021, Determinación de receptores estrogénicos alfa y beta en cáncer de mama ductal.

investigación proponen un anticuerpo monoclonal para el receptor estrogénico beta uno nombrado MC10, que al compararlo con otros anticuerpos del mercado para dicho receptor, muestra tinción a nivel nuclear y citoplasmático, considerando la existencia de variantes del receptor estrogénico beta (65).

Sigma-Aldrich oferta un anticuerpo monoclonal de ratón denominado receptor estrogénico beta clona 68-4, el cual permite la identificación del receptor estrogénico beta mediante procesamiento inmunohistoquímico(66).

Efecto antiproliferativo

Dos estudios independientes en líneas celulares de cáncer de mama subtipo molecular triple negativo en el año 2013 y 2015 sostienen que la expresión del receptor estrogénico b puede estar implicada en la inhibición del crecimiento celular y el aumento de expresión de p21 que llevaría a la muerte celular, el primer estudio se realiza sobre la línea celular triple negativo linaje MDA-MB-468 anticuerpo HSP90, encontrando un efecto inhibidor en el crecimiento celular y una sobreexpresión del oncogén p21 reportando un valor de $p < 0.005$, el segundo estudio, también es realizado sobre línea celular triple negativo HCC1860, HCC1937, MCF-7, observándose que la estimulación del receptor estrogénico b por su agonista sintético liquiritigenin disminuye el efecto proliferativo *in vitro* con una $p < 0.05$ (62,67).

Efecto proliferativo

Estudios independientes sobre líneas celulares de cáncer subtipo molecular triple negativo han analizado el efecto del receptor estrogénico beta concluyendo que favorece a la proliferación de cáncer, migración, y recurrencia del mismo. Tres de estos estudios, analizan la correlación con el anticuerpo RE-b1 PPG5/10 obteniendo una pobre supervivencia a los pacientes que expresaban este receptor, así como una mayor proliferación y migración celular *in vitro*; línea celular triple negativo MDA-MB-435 $p < 0.05$, línea celular MB-468/HCC70 $p < 0.042$, cáncer de próstata línea celular MCA1974 $p < 0.05$ (10,48,61,68,69).

Gutiérrez Becerra R, 2021, Determinación de receptores estrogénicos alfa y beta en cáncer de mama ductal.

En 2019 Neumeyer S. y cols, determinan la expresión inmunohistoquímica del receptor beta estrogénico mediante el anticuerpo Abcam 14C8 en muestras de pacientes con cáncer colorrectal, 917 muestras, encontrando diferentes estados de metilación de los genes de acuerdo a la expresión del RE-b con 516 muestras positivas en grado moderado y alto y 401 muestras negativas, expresando en diversos grados genes relacionados con la carcinogénesis como NOL9, CD36, HK1, LRP5, se sabe que en el caso de cáncer de colon la ausencia del receptor estrogénico beta es un factor de mal pronóstico y mayor agresividad para esta neoplasia, observándose valor de $p < 0.05$ en la promoción de cáncer *in vitro* (70,71).

Existen mecanismos complejos que brindan la resistencia tumoral, algunos de ellos se han implicado en la señalización del receptor estrogénico donde las vías PI3K, AKT, mTOR NOTCH (relacionado con un aumento del marcador de proliferación celular Ki67), Wnt (CD44+, CD24-, resistencia tamoxifeno con aumento de SOX2), e Hippo-YAP-TAZ han sido relacionadas (72).

Otras vías conocidas como p21, p27, VEGF y IGF-2, pueden estar relacionadas con el receptor estrogénico beta y cáncer de mama, siendo posibles dianas terapéuticas y factores pronósticos para el cáncer de mama y algunas otras neoplasias que pudieran expresarles (27).

La activación de estas vías de señalización celular aunado a la expresión del receptor estrogénico beta pueden relacionarse con su activación mediante efectos no genómicos (no clásicos) que involucren efectos sobre receptores de membrana, apertura de canales iónicos para la activación de cascadas de señalización (vías; PI3K, AKT, mTOR, NOTCH, Wnt, YAP-TAZ), vías que regulan la proliferación celular y que no se correlacionan clásicamente con los efectos genómicos (clásicos), del receptor alfa estrogénico(61).

Considerando los posibles efectos no genómicos surgidos de la activación del receptor estrogénico beta, se ha detectado mediante técnicas de inmunohistoquímica no solo su tinción nuclear sino también a nivel citoplasmático, considerando su síntesis en retículo endoplásmico rugoso y su posible función en

Gutiérrez Becerra R, 2021, Determinación de receptores estrogénicos alfa y beta en cáncer de mama ductal.

la activación de vías no genómicas mediante la activación de segundos mensajeros de las vías PI3K, mTOR, PTEN. (32,54,56,65,73).

Capítulo 2

3. Planteamiento del problema

El cáncer de mama es un problema de salud mundial debido a su alta morbilidad y mortalidad. Por su incidencia tiene una predisposición al género femenino con una relación 99% de los casos mujeres, contra 1% de los casos masculinos. A nivel estatal para el año 2018, se reportó una alta incidencia de cáncer de mama ductal con 283 casos.

El cáncer de mama se considera una enfermedad multifactorial, heterogénea y en algunos casos hormono-dependiente, clásicamente expresa o no la presencia de receptores de estrógeno alfa, progesterona y factor de crecimiento humano tipo dos. La determinación de receptores clásicos por inmunohistoquímica determina el tratamiento y pronóstico de estas pacientes. La presencia del receptor estrogénico alfa se determina clásicamente, sin embargo, no la del receptor estrogénico beta.

No existen estudios descriptivos que determinen la expresión de receptores estrogénicos alfa y beta en muestras de biopsias de pacientes con cáncer de mama ductal en población local. La expresión simultánea del receptor estrogénico alfa y beta o su combinación con los diferentes subtipos moleculares puede tener implicaciones en el entendimiento del pronóstico de subtipos luminales agresivos, o resistentes a terapia antiestrogénica, así como subtipos de alto riesgo como lo es el triple negativo y HER2.

La expresión del receptor estrogénico beta puede convertirse en un factor pronóstico que modifique con su determinación el abordaje terapéutico (y clasificación inmunohistoquímica), lo que permitirá una mayor supervivencia y mejor calidad de vida a las pacientes con cáncer de mama ductal. La expresión de cada subtipo molecular del receptor beta y estadio diagnóstico expresado podrían tener implicaciones específicas en el entendimiento de la biología molecular del cáncer de mama ductal, por lo que se plantea la pregunta de investigación:

¿Se expresan receptores estrogénicos alfa y beta en muestras de biopsias de pacientes con cáncer de mama ductal?

Gutiérrez Becerra R, 2021, Determinación de receptores estrogénicos alfa y beta en cáncer de mama ductal.

4. Hipótesis

Con base a la determinación inmunohistoquímica de subtipos moleculares de cáncer de mama ductal, se expresan receptores estrogénicos alfa y beta en muestras de biopsias de pacientes.

5. Objetivos

5.1 Objetivo general

Determinar la expresión de receptores estrogénicos alfa y beta en muestras de biopsias de pacientes con cáncer de mama ductal.

5.2 Objetivos específicos

- 1) Determinar la expresión de receptores y el subtipo molecular inmunohistoquímico registrado.
- 2) Determinar el sexo registrado.
- 3) Determinar la edad diagnóstica registrada.
- 4) Determinar la expresión se subtipos moleculares y receptor estrogénico alfa
- 5) Determinar la expresión se subtipos moleculares y receptor estrogénico beta
- 6) Determinar la expresión de subtipos moleculares y marcador de proliferación celular Ki67.
- 7) Determinar la expresión de subtipos moleculares y grado histológico.
- 8) Determinar la expresión del grado histológico y marcado de proliferación celular ki67.

Gutiérrez Becerra R, 2021, Determinación de receptores estrogénicos alfa y beta en cáncer de mama ductal.

6. Metodología

6.1 Diseño del estudio

La presente investigación fue de tipo descriptiva, observacional, transversal, ambispectiva, ambilectiva, multicéntrica y heterodémica.

6.2 Ubicación espacio-tiempo

En este trabajo se estudiaron muestras de biopsias de pacientes con cáncer de mama ductal obtenidas del archivo del servicio de patología del Hospital General del Sur de Puebla en el periodo de enero a diciembre 2018, las cuales se procesaron para identificar los receptores estrogénico alfa y beta en el Hospital Universitario de Puebla, el Laboratorio de Inmunología experimental e Inmunobiología de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. El estudio se realizó del mes de agosto 2019 a julio 2021, siendo sometido y aprobado por los comités de bioética del posgrado en Ciencias Médicas e Investigación de la Benemérita Universidad Autónoma del Estado de Puebla, número de libro 2, número de hoja 132, número de registro 813, con vigencia inicio 12 de marzo, termino 17 de diciembre de 2021, y del mismo modo siendo presentado y aprobado por el comité de bioética del Hospital Universitario de Puebla con No de registro CEIHUP 2020/003 (ver anexo 4).

6.3 Marco muestral

6.3.1 Universo de trabajo

Biopsias de pacientes del departamento de anatomía patológica del archivo de patología del Hospital General del Sur de Puebla que cuenten con diagnóstico inmunohistoquímico de subtipo molecular de cáncer de mama ductal procesadas durante el año 2018.

6.3.2. Tipo de muestreo

Muestreo no probabilístico por conveniencia.

6.3.3. Población de estudio

Se estudiarán las muestras de biopsias de pacientes del servicio de anatomía patológica del Hospital General del Sur de Puebla, que cuenten con diagnóstico histopatológico de subtipo molecular, estadio al diagnóstico, ausencia de tratamiento médico previo a la toma de biopsia, expediente de patología completo.

6.3.4 Tamaño de la muestra

Conveniente al investigador, para término del trabajo en el periodo de tiempo establecido del 1 de agosto del 2019 al 31 de julio del 2021 (considerando toda la población de biopsias procesadas para el año 2018 en el servicio de patología del hospital general del sur con una n de 126 pacientes; con un margen de error del 10% y un nivel de confianza de 99%, por cálculo de ecuación estadística para proporciones poblacionales se obtiene un tamaño de muestra de 72 biopsias, sin embargo, se procesaron el 100% de las biopsias que cumplieron con los criterios de selección n=84).

6.4 Criterios de selección

6.4.1. Criterios de inclusión

Muestras de pacientes de ambos sexos.

Una edad entre 18 y 90 años

Que cuenten con diagnóstico histopatológico de subtipo molecular de cáncer de mama ductal, expediente de patología completo, estadio al diagnóstico.

Sin terapia médica a la toma de la biopsia, y que la biopsia en parafina esté disponible para su procesamiento inmunohistoquímico.

6.4.2. Criterios de exclusión

Muestras de pacientes con expediente incompleto, que no cuenten con los datos de edad, sexo, subtipo histológico, grado histológico y Ki67.

Biopsias de pacientes que tengan el antecedente de haber recibido tratamiento médico (quimioterapia, radioterapia).

Gutiérrez Becerra R, 2021, Determinación de receptores estrogénicos alfa y beta en cáncer de mama ductal.

Biopsias de pacientes que tengan antecedente de recurrencia por otro tipo de cáncer (metástasis).

6.4.3. Criterios de eliminación

Que la muestra biopsias no se encuentre disponible para ser procesada.

Por pérdida del tejido durante el procesamiento.

6.5 Definición de las variables y escala de medición

6.5.1 Variables del estudio

Se consideran como variables: La expresión de receptores estrogénicos alfa y beta en biopsias de pacientes con cáncer de mama ductal (ver anexo 5).

6.5.2 Variables demográficas

Se consideran como variables poblacionales: edad, sexo, subtipo histológico de cáncer de mama, Ki67 y grado histológico (ver anexo 6).

6.6 Técnica y procedimiento

6.6.1 Estrategia de trabajo

Se identificaron en los libros del archivo de patología del Hospital General del Sur del año 2018, los pacientes enviados para diagnóstico de cáncer de mama.

Una vez localizados los identificadores de pacientes, se recabaron datos del archivo de patología, así como los bloques de parafina de los pacientes, para ser procesados mediante técnica de inmunohistoquímica por peroxidasa para receptores alfa y beta con su posterior observación en microscopio óptico.

Las muestras de pacientes cumplieron con los criterios de inclusión, exclusión y eliminación. Al ser un estudio observacional sobre muestras de biopsias del archivo de patología, no se requirió consentimiento informado a los pacientes, sin embargo, se integró a su evaluación por el comité de bioética e investigación del Posgrado de la Maestría en Ciencias Médicas e Investigación de la BUAP y Hospital Universitario de Puebla. Las muestras obtenidas se utilizaron exclusivamente para los fines establecidos (ver anexo 7).

Gutiérrez Becerra R, 2021, Determinación de receptores estrogénicos alfa y beta en cáncer de mama ductal.

Para el procesamiento de muestras se obtuvo un corte histológico en laminillas de 4 micras para determinar la expresión de receptores hormonales alfa y beta mediante su desparafinación, hidratación, activación del tejido para reactivación de epítomos, aplicación de anticuerpos y observación mediante microscopía.

Se diseñó una tabla en Excel para la recolección de datos, dicha tabla contiene: Identificador único, nombre del paciente, edad del paciente, sexo, subtipo molecular inmunohistoquímico (receptor estrogénico alfa, receptor de progesterona y HER-2), Ki67, grado histológico y receptor estrogénico beta. Se analizaron los resultados mediante estadística descriptiva para variables cualitativas y cuantitativas.

6.6.2. Técnica de inmunohistoquímica

Se aplica la técnica de inmunohistoquímica por peroxidasa para la determinación de receptores estrogénicos alfa y beta, la única diferencia entre la determinación de receptores es el uso de anticuerpo primario específico (para receptor alfa y para receptor beta):

1) Corte: Las biopsias se cortaron en el micrótopo en secciones de 4 micras y se montaron en los portaobjetos con poli-L-lisina (P 8920 POLY-L-LYSINE SOLUTION, SIGMA-ALDRICH, USA), se procesaron simultáneamente tanto los casos problema como los controles positivos.

2) Desparafinar las muestras: Lo principal para la tinción es que las laminillas deben ser desparafinadas para remover el medio de embebido y poder ser rehidratadas. Es necesario eliminar los restos de parafina porque puede dar un falso positivo. Las laminillas con las muestras se metieron en un horno a 60°C 60 minutos.

3) Rehidratación de las muestras: Las muestras se rehidrataron en soluciones decrecientes de alcohol etílico y finalmente en buffer fosfato salino (PBS 0.15 M pH 7.3). Después de desparafinar se metieron inmediatamente en un baño de xilol durante 5 ($\pm$ 1) minutos. Se cambió de baño y se repitió nuevamente. Este paso es importante para que el tejido se adhiera mejor a la laminilla; Xilol I 100% 5 minutos, Xilol II 100% 5 minutos. Se eliminó el exceso de xilol y las laminillas se

Gutiérrez Becerra R, 2021, Determinación de receptores estrogénicos alfa y beta en cáncer de mama ductal.

sumergieron en etanol absoluto por 5 (± 1) minutos. Se cambió de baño y se repitió nuevamente este paso: Etanol I 100% por 5 minutos y Etanol II 100% 5 minutos.

Se eliminó el exceso del etanol absoluto y las laminillas se sumergieron en etanol al 96% por 5 (± 1) minutos, Se cambió de baño y se repitió nuevamente este paso, pero ahora con etanol al 80% por 5 (± 1) minutos y con etanol al 70% por 5 (± 1) minutos y finalmente con PBS 0.15 M pH 7.3 (Buffer) 5 minutos. Etanol 96% 5 minutos, Etanol 80% 5 minutos, Etanol 70% 5 minutos y PBS 1X 5 minutos. Las soluciones de xilol y alcoholes se cambiaron después de cada 40 laminillas.

4) Tinción Inmunohistoquímica:

Paso 1. Recuperación antigénica: Este paso fue importante para romper los puentes de hidrógeno que se formaron con el formol y la parafina y así exponer los epítomos que fueron enmascarados durante la fijación del tejido. Se llenó un vaso de coplin con la cantidad suficiente de la solución recuperador antigénico (Taget Retrieval solution, pH9 ready-to-use, DakoCytomation DenmarkA/S, Dinamarca) para cubrir las laminillas con las secciones de tejido, se tapó el coplin y se colocó en baño maría en una olla de presión, se llevó a una temperatura de 95-99 ° C (sin hervir) una vez que se llega a esta temperatura incubó durante 40 (± 1) minutos. Transcurrido este tiempo se retiró el coplin con las laminillas y el recuperador antigénico del baño maría y se dejó enfriar durante 20 minutos a temperatura ambiente. Se decantó la solución de recuperador antigénico y las laminillas se lavaron con PBS 0.15 M pH 7.3 tres veces por 5 minutos cada lavado.

Paso 2. Anticuerpo primario: Para el anticuerpo primario se utilizó un panel con anticuerpos monoclonales específicos contra cada receptor (receptor estrogénico alfa Dako thermoscientific y receptor beta 68-4 Sigma-Aldrich de modo independiente) en una dilución 1:50 en los PBS-BSA al 1%. Se eliminó el exceso de buffer secando alrededor del tejido con un papel cuidando de no tocarlo y de que no quede seco, se colocó 40 μ l de la dilución del anticuerpo monoclonal a cubrir el tejido. Las secciones se incubaron con el anticuerpo monoclonal específico toda la noche en cámara húmeda a 4° C. Posteriormente, se lavaron 3 veces con PBS 0.15

Gutiérrez Becerra R, 2021, Determinación de receptores estrogénicos alfa y beta en cáncer de mama ductal.

M pH 7.3 por 5 minutos cada lavado. Como control positivo para receptor estrogénico beta se usó un tejido histológico de carcinoma de mama ductal como lo indica y proporciona el fabricante.

Paso 3. Revelado de la reacción: Para el revelado de la reacción antígeno anticuerpo se utilizó un anticuerpo secundario IgG policlonal de cabra acoplado a anti-IgG de ratón para peroxidasa diluida 1:1000, por 1 hora en cámara húmeda, las laminillas se lavaron y contratiñeron con azul de Evansanti-IgG de ratón en una dilución de 1:100. Se eliminó el exceso de buffer secando alrededor del tejido con un papel cuidando de no tocarlo y de que no quedara seco, se agregaron 40µl de la dilución del anticuerpo secundario a cubrir el tejido. Las secciones se incubaron durante 60 minutos a temperatura ambiente en cámara húmeda, se lavaron 3 veces en PBS 0.15 M pH 7.3 por 5 minutos cada lavado.

Paso 4. Solución Sustrato-Cromógeno (DAB): La diaminobencidina DAB se preparó de la siguiente manera: Se agregaron 2.5 mg de DAB en 5 ml de Tris-HCL a 0.2 M pH 7.4, se activó la solución con una gota de agua oxigenada (Omnichen sac, México). Se limpiaron las laminillas como los pasos anteriores y se cubrieron los cortes con DAB activada, y se incubaron en cámara húmeda por 15 minutos a temperatura ambiente, se lavaron 3 veces en con agua corriente por 5 minutos cada lavado.

Paso 5. Contratinción: Se sumergieron las laminillas en un baño de hematoxilina por 30 segundos y posteriormente se lavaron con agua corriente, hasta asegurarse que todos los residuos de hematoxilina se eliminaron.

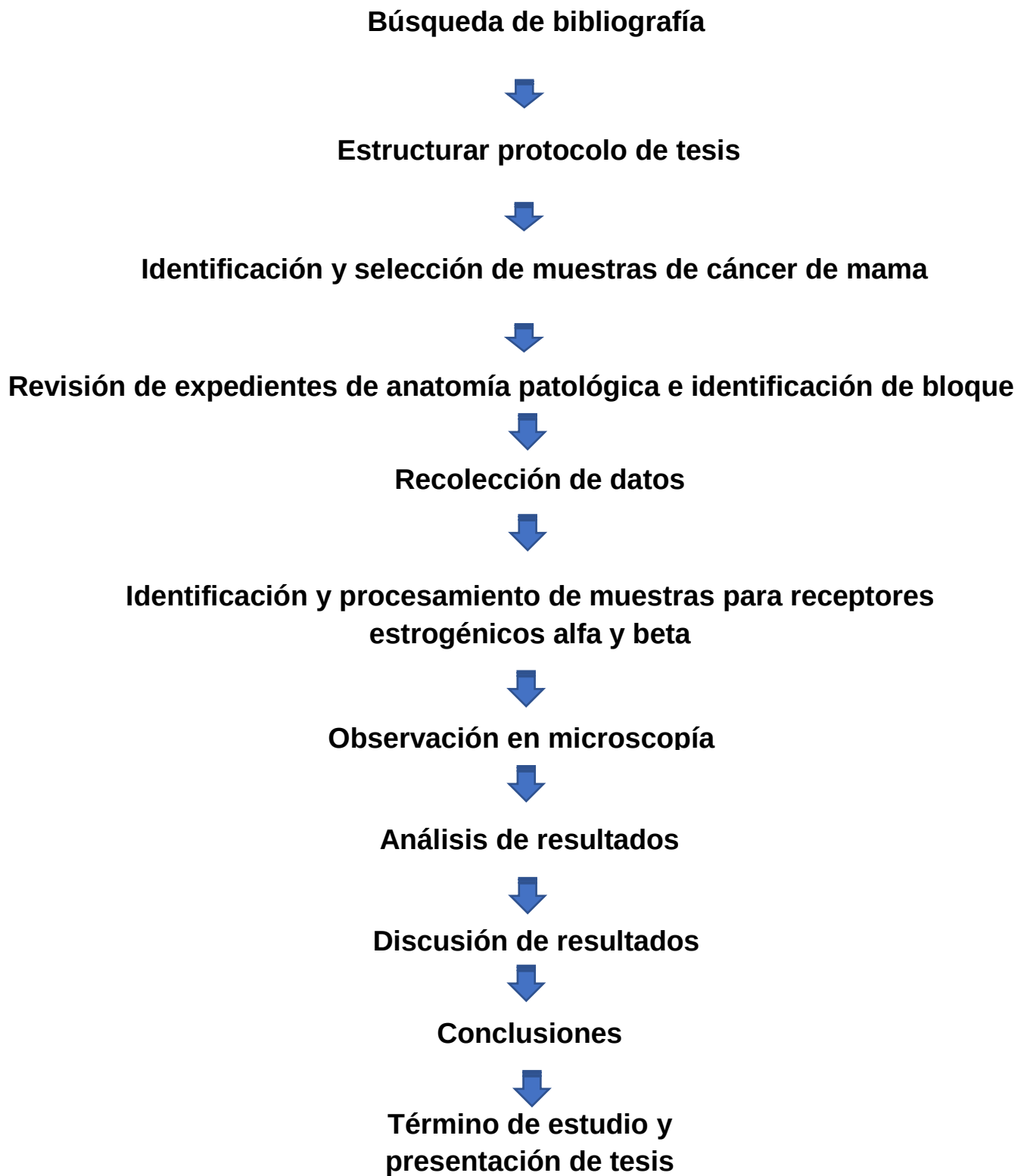
Paso 6. Deshidratar y aclarar las laminillas: Se sumergieron en etanol al 70% por 5 ($\pm$ 1) minutos, se cambió de baño y se repitió nuevamente este paso, pero ahora con etanol al 80%, luego con etanol al 96%, con etanol al 100%, nuevamente con etanol al 100%, para aclararse las laminillas, se sumergieron en xilol durante 5 ($\pm$ 1) minutos, se cambió de baño y se repite nuevamente este paso. Etanol 70% 5 minutos, Etanol 80% 5 minutos, Etanol 96% 5 minutos, Etanol I 100% 5 minutos, Etanol II 100% 5 minutos, Xilol I 100% 5 minutos, Xilol II 100% 5 minutos.

Gutiérrez Becerra R, 2021, Determinación de receptores estrogénicos alfa y beta en cáncer de mama ductal.

5) Montaje: Se eliminó el exceso de xilol secando alrededor del tejido con un papel cuidando de no tocarlo, se le puso una gota de resina (Entellan®, Merk, Alemania), finalmente se le colocó el cubreobjetos.

6) Observación: Las laminillas se observaron en un microscopio de luz para determinar la presencia de receptores estrogénicos.

6.6.3. Diagrama de flujo



6.7 Análisis estadístico

Se aplicó estadística descriptiva para variables cualitativas y cuantitativas, se calculó la tendencia central y de dispersión de los mismos, se realizaron tablas cruzadas para analizar la incidencia de subtipos moleculares, grado histológico y Ki67.

Para la determinación del receptor estrogénico alfa y beta, así como su asociación con las variables de estudio codificadas como variables nominales dicotómicas, se realizó la prueba de asociación de Xi cuadrada, estableciendo un nivel de significancia $p \leq 0.05$.

De los resultados, se describió la incidencia de los diferentes subgrupos moleculares, la presencia o ausencia de receptores estrogénicos alfa y beta, la edad de las pacientes, el sexo, la presencia o ausencia de Ki67 y el grado histológico.

7. Resultados

7.1 Procesamiento de biopsias.

En el periodo enero 2018 a diciembre 2018 se identificaron un total de 163 muestras enviadas para diagnóstico histopatológico de cáncer de mama en el archivo de patología del Hospital General Zona Sur de Puebla.

De estas 163 biopsias, 139 son positivas a cáncer de mama con; 126 biopsias con cáncer de mama ductal, 10 biopsias con cáncer de mama lobulillar y 3 para otros tumores de mama como lo son los tumores filoides (2 casos) y carcinoma mixto (1 caso). El resto de biopsias obtienen un resultado negativo a cáncer de mama y son diagnosticadas como fibromas (ver figura 6).

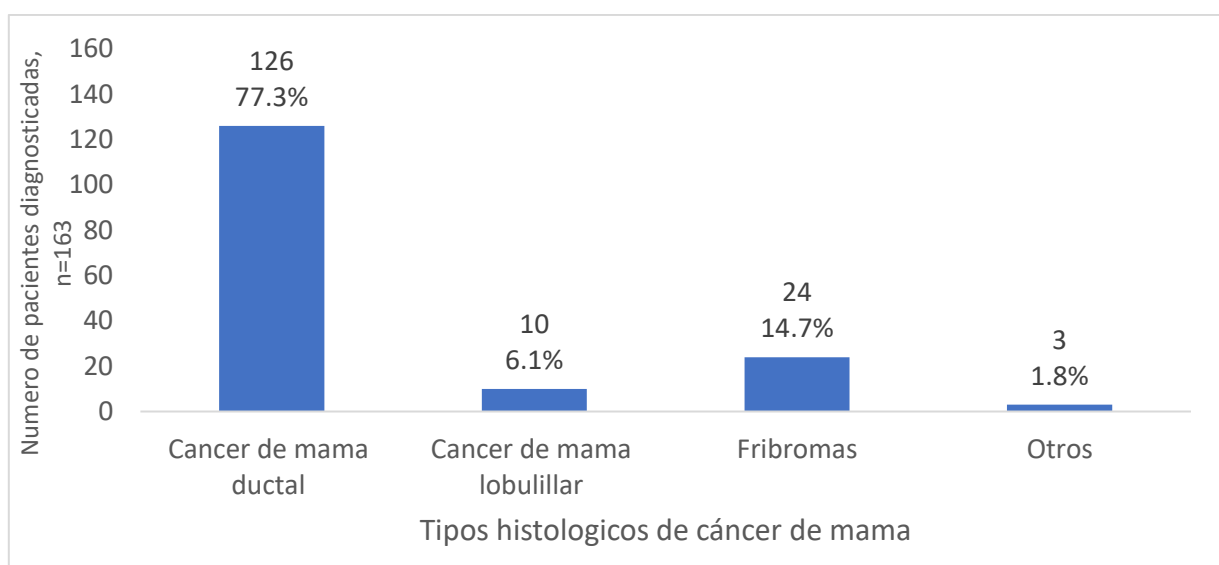


Figura 6. Biopsias de pacientes enviadas para diagnóstico de cáncer de mama, archivo de patología 2018 Hospital General del Sur. Se muestran los diferentes tipos histológicos de cáncer reportando el número de casos y su equivalente porcentual, n=163.

Para el año 2018, en el estado de Puebla se diagnosticaron 283 muestras de cáncer de mama ductal, por lo que 139 muestras es equivalente al 49.11% de las muestras procesadas para el estado.

Respecto a la incidencia de tipo histológico reportada se encontró el 77.3% de los tumores diagnosticados corresponden a cáncer de mama ductal (incidencia internacional 70-80%), 10 % para cáncer de mama lobulillar (incidencia internacional 5-10%) y 1.8 % para otros tumores (incidencia internacional 1%).

Gutiérrez Becerra R, 2021, Determinación de receptores estrogénicos alfa y beta en cáncer de mama ductal.

De las 126 biopsias de pacientes diagnosticadas con cáncer de mama ductal de interés para el estudio, de acuerdo a los criterios de selección, inclusión y eliminación (ver figura 7): 84 pacientes cumplen con los criterios de inclusión representando un 66.6%, y 42 pacientes han sido excluidas representando el 33.3%.

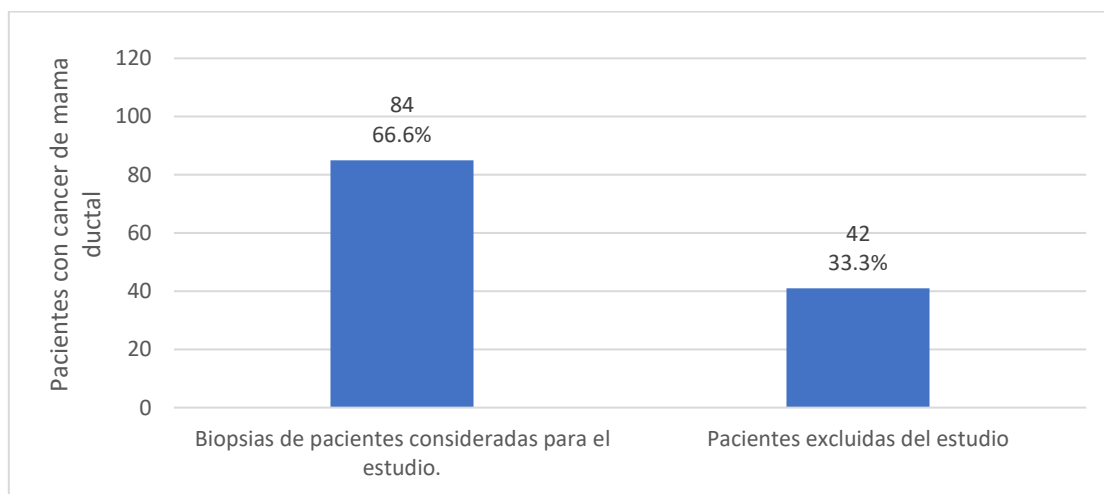


Figura 7. Biopsias de pacientes con cáncer de mama ductal en el año 2018, archivo de patología del Hospital General del Sur. Se muestran pacientes incluidas y excluidas del estudio conforme los criterios de selección, inclusión y exclusión establecidos en el estudio, n=126.

El motivo principal por el que estas pacientes fueron eliminadas, es que pese a estar registradas en la libreta general del archivo de patología 2018, los reportes de expedientes de patología o los bloques de parafina no se encontraron disponibles para su estudio (posiblemente los pacientes decidieron atenderse por otra institución solicitando su reporte y/o bloque).

7.2 Determinación de la expresión receptores y subtipo molecular

De las 84 muestras procesadas por técnica de inmunohistoquímica por peroxidasa y hematoxilina-eosina (tejido control), se muestra a continuación las imágenes más representativas para la determinación del receptor estrogénico alfa, receptor estrogénico beta, receptor de progesterona, HER-2 y Ki67 ver figuras 8-14.

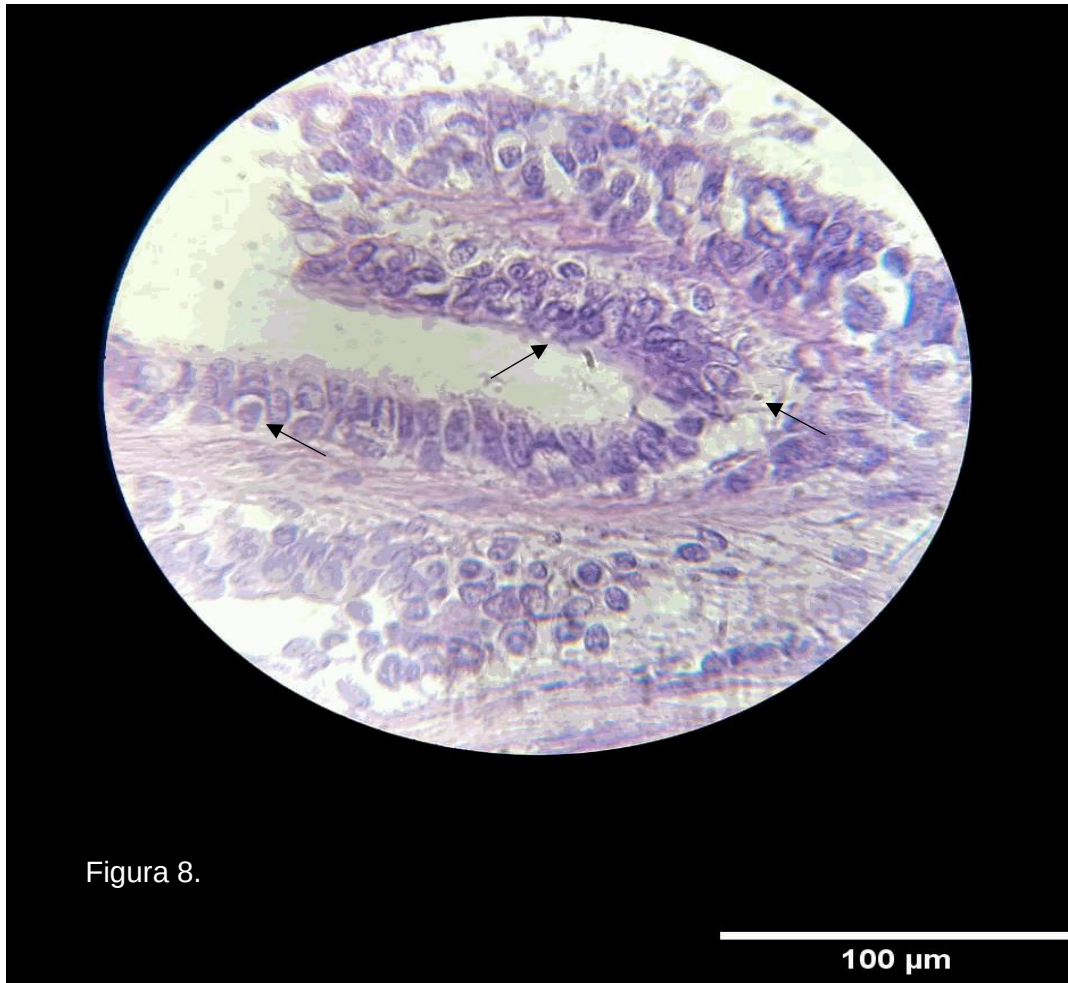


Figura 8. Control de biopsia de paciente 1224, con diagnóstico cáncer de mama ductal HER2+, tinción con hematoxilina-eosina. Observada en microscopio óptico Zeiss 100X. Se puede observar la atipia celular ductal (perdida relación núcleo citoplasma) e hipertrofia ductal con 2 y hasta 4 hileras celulares ductales marcadas con flechas.

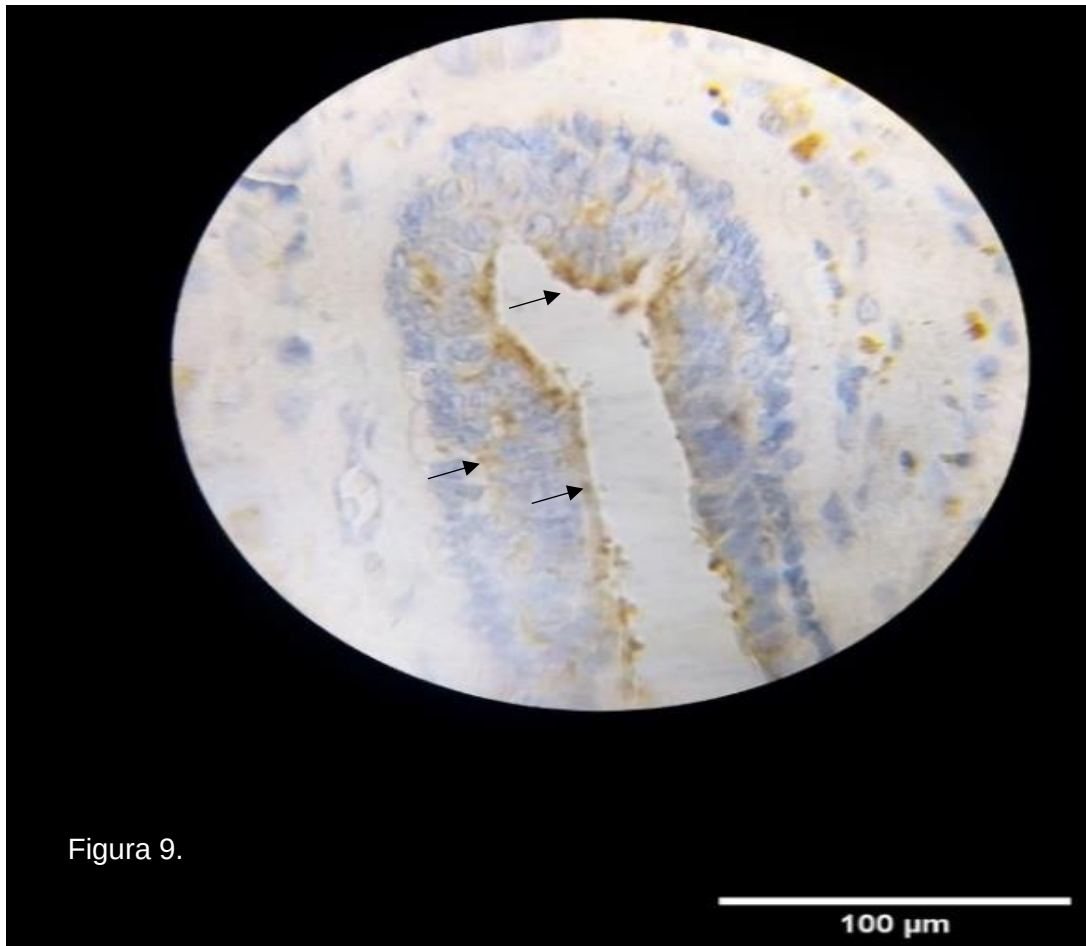


Figura 9. Biopsia de paciente 1224- Diagnóstico cáncer de mama ductal HER2+: Tinción con inmunoperoxidasa para determinación de HER2+. Observada en microscopio óptico Zeiss 100X. Al ser el receptor de factor de crecimiento epidérmico tipo 2 un receptor de membrana podemos observar como la membrana celular del tejido ductal (DUC) se tiñe de un color café, marcado con flechas en la imagen.

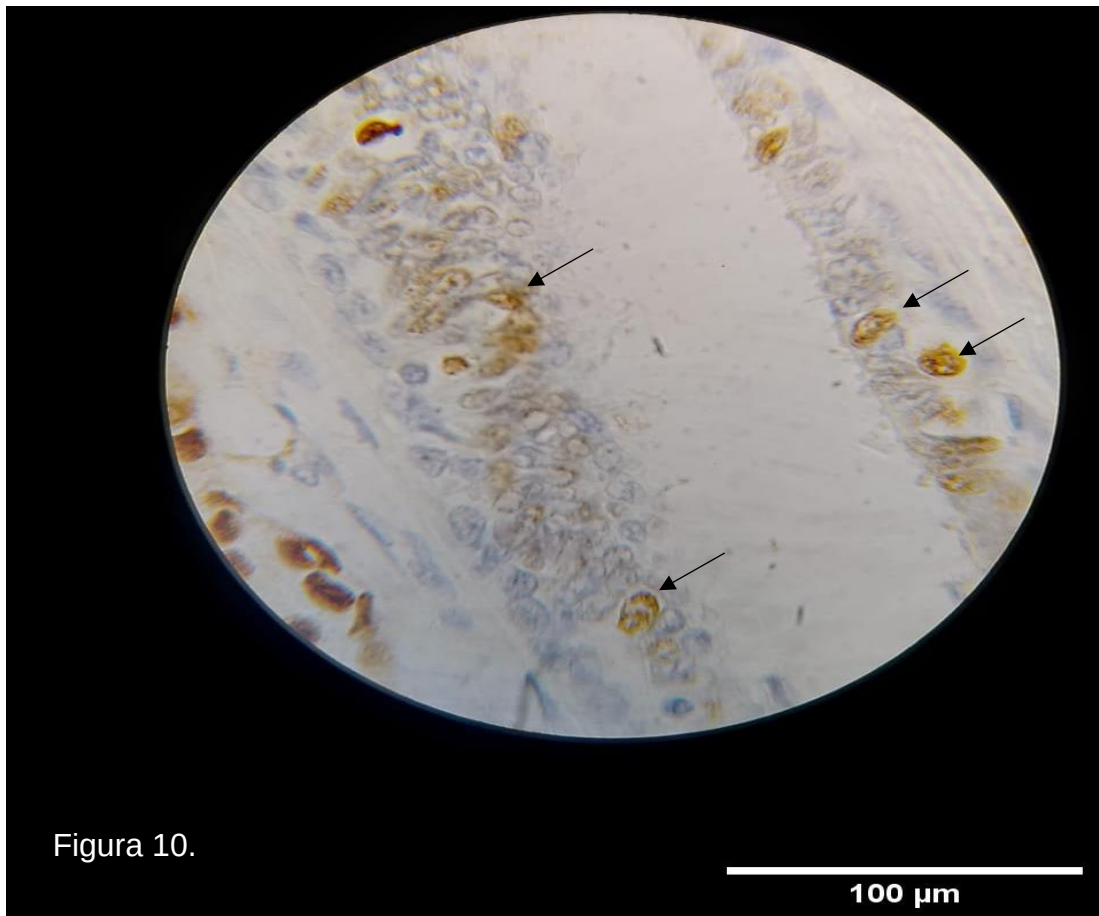


Figura 10. Biopsia de paciente 1224- Diagnóstico cáncer de mama ductal HER2+, tinción con inmunoperoxidasa para determinación de Ki67+. Observada en microscopio óptico Zeiss aumento 100x. El Ki67 es un marcador de proliferación celular presente en la membrana nuclear en todo el ciclo celular, a excepción de células en estado quiescente (G0), observamos en color café la determinación nuclear de este marcador, señalado con flechas.

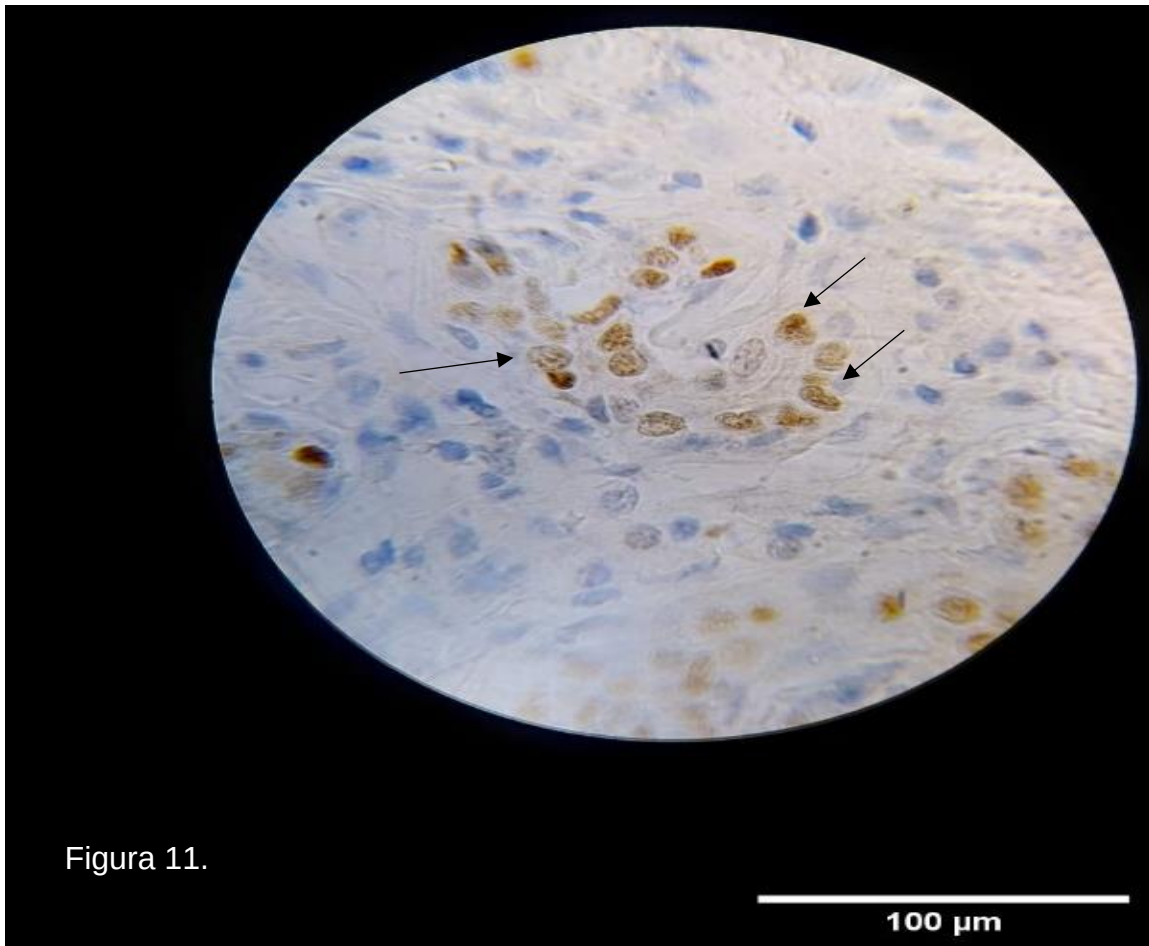


Figura 11. Biopsia de paciente 1227- Diagnóstico cáncer de mama ductal Luminal B, tinción con inmunoperoxidasa para determinación de receptor de progesterona. Observada en microscopio óptico Zeiss aumento 100x.El receptor de progesterona (RP) al igual que el estrogénico alfa es un receptor nuclear que por técnica de inmunoperoxidasa marca el contorno nuclear de color café, señalado con flechas en la imagen.



Figura 12. Biopsia de paciente 1227- Diagnóstico cáncer de mama ductal Luminal B: Tinción con inmunoperoxidasa para determinación de receptor estrogénico alfa. Observada en microscopio óptico Zeiss aumento 100x. El receptor estrogénico alfa es un receptor de membrana nuclear que por técnica de inmunoperoxidasa marca el contorno nuclear de color café, señalado con flechas en la imagen.

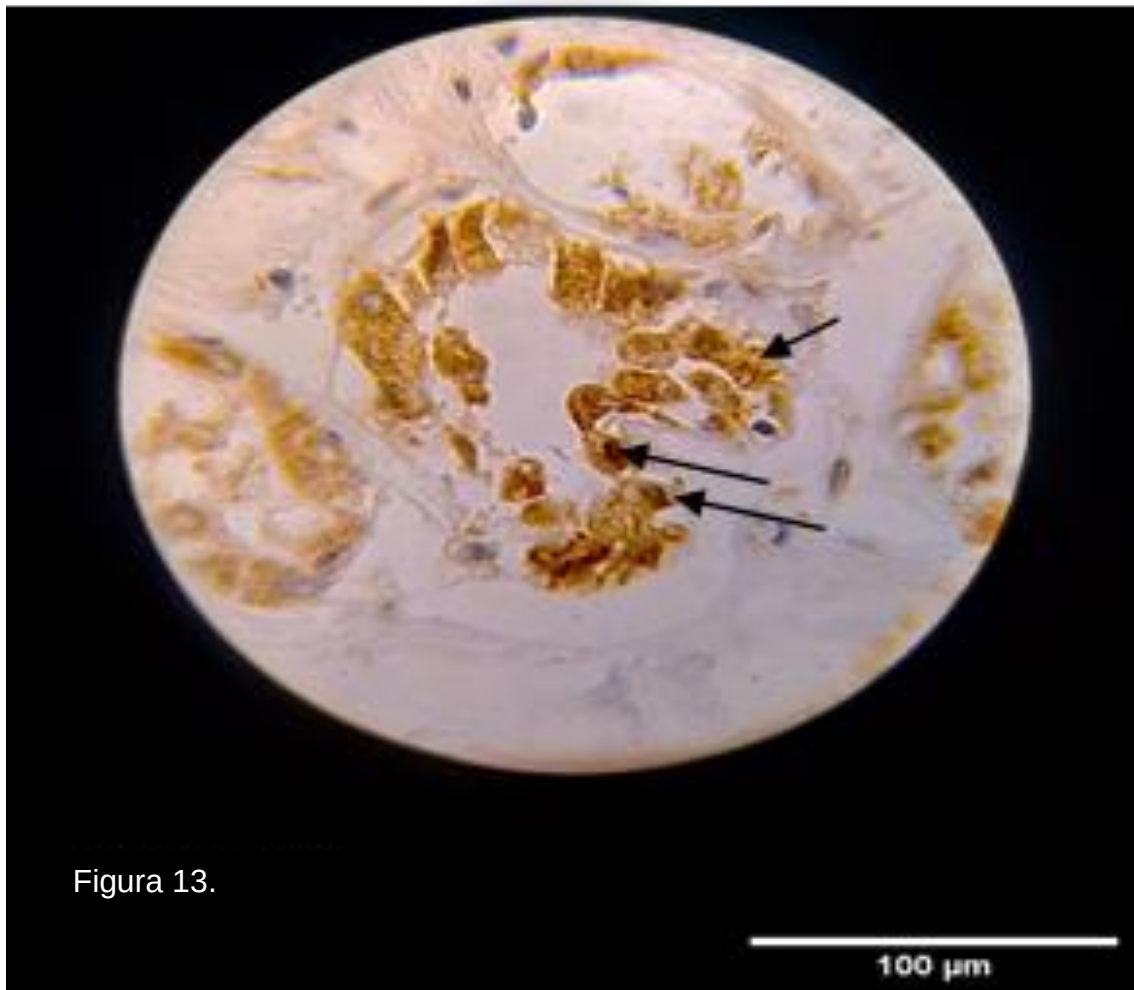


Figura 13. Biopsia de paciente 4934- Diagnóstico cáncer de mama ductal Luminal A: Tinción con inmunoperoxidasa para determinación de receptor estrogénico beta. Observada en microscopio óptico Zeiss aumento 100x. El receptor estrogénico beta es un receptor de membrana nuclear, aunque también se le ha encontrado a nivel citoplasmático, por técnica de inmunoperoxidasa marca núcleo y membrana nuclear con una tonalidad café oscura y café claro a nivel citoplasmático, señalado con flechas en la imagen.

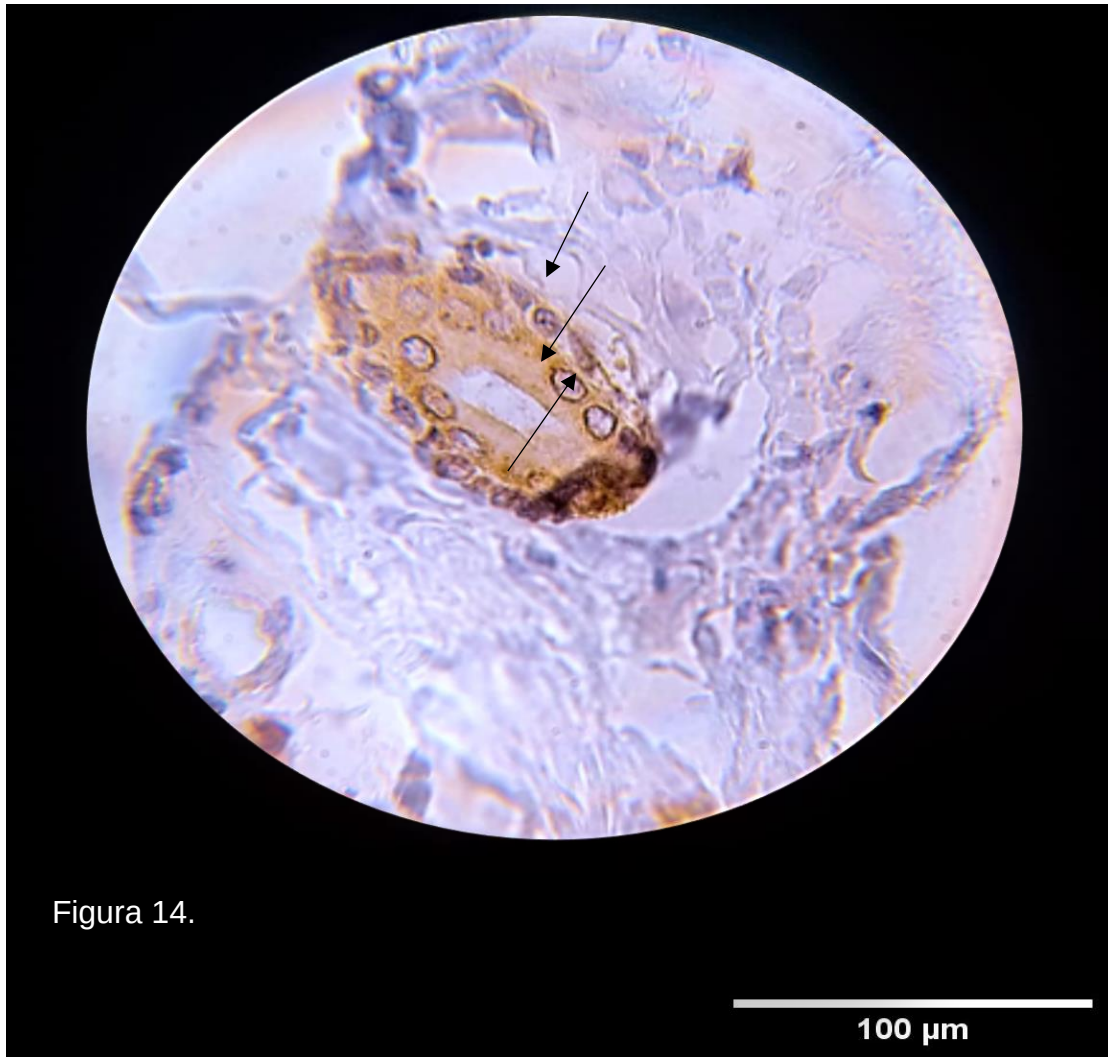


Figura 14. Biopsia de paciente 5743- Diagnóstico cáncer de mama ductal Luminal B, Tinción con inmunoperoxidasa para determinación de receptor estrogénico beta. Observada en microscopio óptico Zeiss aumento 100x. El receptor estrogénico beta es un receptor de membrana nuclear, aunque en esta muestra, solo se le observa la tinción color café a nivel citoplasmático, señalado con flechas en la imagen.

7.3 Sexo

De las biopsias analizadas en el archivo de patología para el año 2018, se obtuvieron 84 casos de pacientes femeninos y un paciente masculino positivo para cáncer de mama ductal, no se incluyó en las biopsias procesadas por no existir bloque disponible para su procesamiento.

7.4 Edad

Respecto a la edad diagnóstica de las 84 pacientes analizadas se obtuvo una media de 51.98, con una desviación estándar de 12.09, una mínima de 24 años y un máximo de 81 años.

7.5 Subtipos moleculares y receptor estrogénico alfa

De acuerdo a la determinación inmunohistoquímica del receptor estrogénico alfa postvivo se obtuvo que el subtipo luminal A y Luminal B representan el 100% de los casos positivos obtenidos. Para el caso de receptor estrogénico alfa negativo se obtienen resultados solo para el caso del subtipo HER-2 y triple negativo. (ver figura 15).

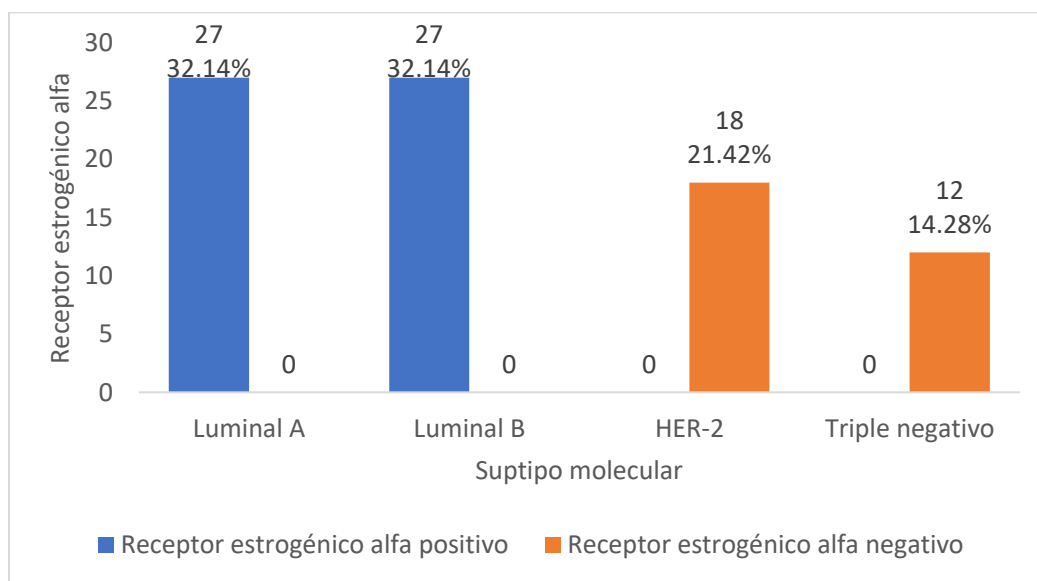


Figura 15. Subtipos moleculares y receptor estrogénico alfa. Se muestra la presencia y ausencia receptor estrogénico alfa con base a la clasificación de subtipos moleculares; el

Gutiérrez Becerra R, 2021, Determinación de receptores estrogénicos alfa y beta en cáncer de mama ductal.

receptor estrogénico alfa, receptor de progesterona, HER-2 y ki67, son la base de esta clasificación, como era de esperarse los subtipos luminales A y B presentan al receptor estrogénico alfa positivo y HER-2 y Triple Negativo lo presentan negativo, n=84.

Al considerar la prueba Chi-cuadrado de Pearson considerando la variable subtipo molecular y receptor estrogénico alfa se obtiene un valor estadísticamente significativo con $p < 0.05$.

7.6 Subtipos moleculares y receptor estrogénico beta

De acuerdo a la determinación inmunohistoquímica del receptor estrogénico beta positivo se obtuvo un patrón heterogéneo entre todos los subtipos, resaltando casos positivos; luminal A con 23.81%, luminal B con 22.62%, HER-2 con 15.48 % y triple negativo con 7.14% (ver figura 16).

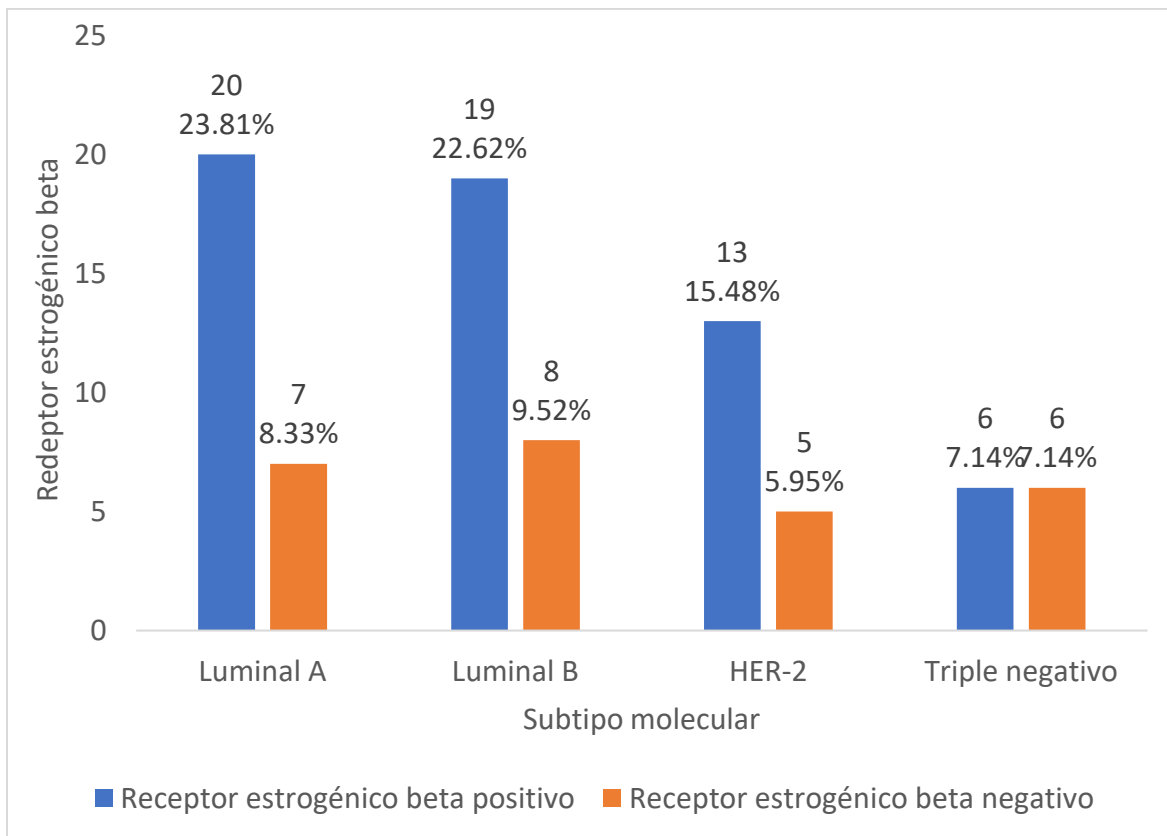


Figura 16. Subtipos moleculares y receptor estrogénico beta. Se muestra la presencia y ausencia del receptor estrogénico beta con base a la clasificación de subtipos moleculares, se observa una distribución heterogénea del receptor estrogénico beta reportando número de caso y reporte porcentual, n=84.

Gutiérrez Becerra R, 2021, Determinación de receptores estrogénicos alfa y beta en cáncer de mama ductal.

Al considerar la prueba Chi-cuadrado de Pearson considerando la variable subtipo molecular y receptor estrogénico beta no se obtiene un valor estadísticamente significativo con $p=0.482$.

7.7 Subtipos moleculares y marcador de proliferación celular Ki67

Con respecto al marcador de proliferación celular Ki67 con un punto de corte del 14% y subtipo molecular identificado, encontramos en el subtipo luminal A solo el 4.76% de los casos obtuvo un resultado positivo (27.38 % negativo), diferente de los demás subtipos donde se observa mayor porcentaje de positividad para el marcador de proliferación celular ki67. (ver figura 17).

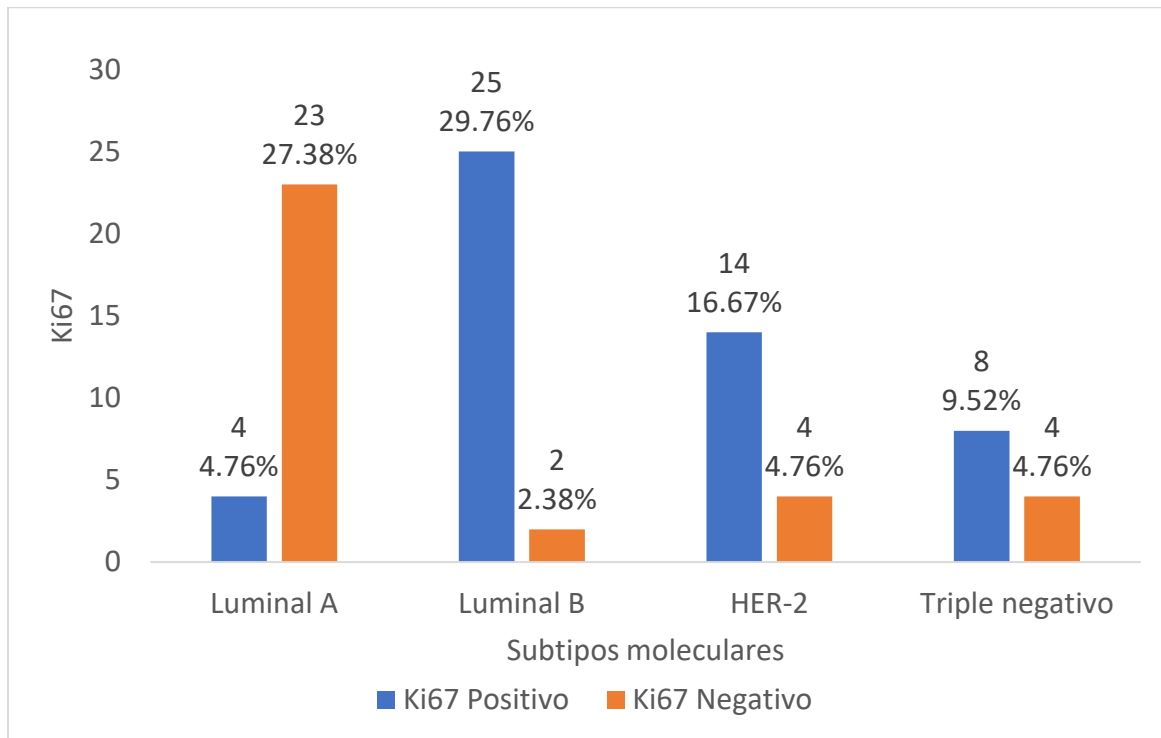


Figura 17. Subtipos moleculares y ki67. De acuerdo a la clasificación de subtipos moleculares se muestra la presencia o ausencia marcador de proliferación celular ki67, se observa una tendencia del marcador Ki67 positivo en los subtipos; luminal B, HER-2 y Triple negativo, se muestra el número de casos y su equivalente porcentual, $n=84$.

Al considerar la prueba Chi-cuadrado de Pearson considerando la variable subtipo molecular y Ki67 se obtiene un valor estadísticamente significativo con $p=<0.05$.

7.8 Subtipos moleculares y grado histológico.

Respecto al subtipo molecular y el grado histológico considerando el grado I como bien diferenciado, grado II como moderadamente diferenciado y grado III como pobremente diferenciado, encontramos una distribución heterogénea en todos los subtipos destacando la presencia de moderadamente diferenciado en caso de los subtipos Luminal A y Luminal B (26.2%), y en el caso de los subtipos HER-2 y Triple negativo se observa mayor incidencia de grado pobremente diferenciado (16.6%) (ver figura 18).

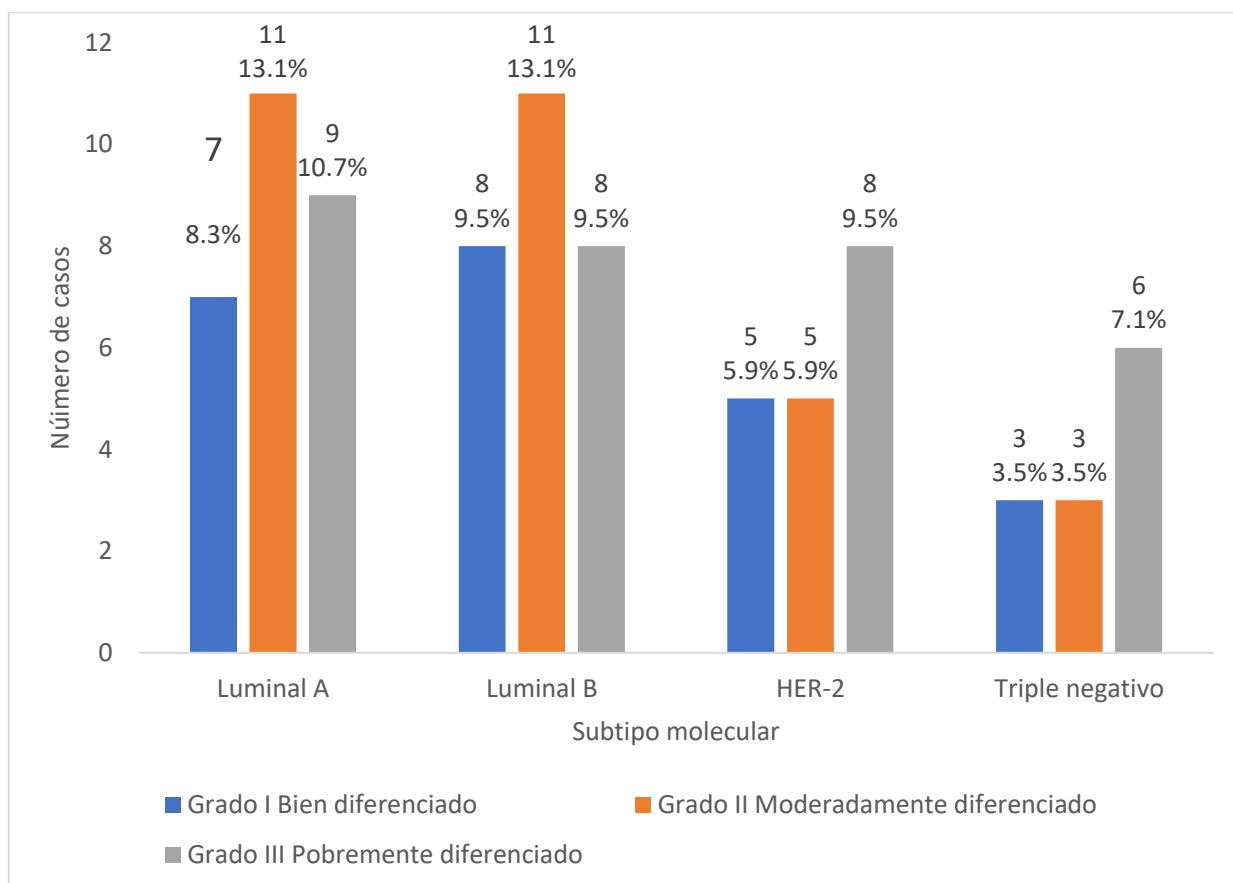


Figura 18. Subtipos moleculares y grado de diferenciación celular, se observa un patrón heterogéneo de presentación en todos los subtipos, con leve tendencia a grado pobremente diferenciado en los subtipos HER- y triple negativo, se muestra número de casos y equivalente porcentual, n=84.

Al considerar la prueba Chi-cuadrado de Pearson considerando la variable subtipo molecular y grado de diferenciación no se obtiene un valor estadísticamente significativo con $p = 0.869$.

7.9 Grado histológico y marcador de proliferación celular Ki67

El grado histológico con respecto a la presencia del marcador de proliferación celular Ki67 se puede observar un patrón heterogéneo con mayor incidencia del marcador Ki67 positivo en el grado moderado/pobrementemente diferenciado. En general se observa una incidencia de ki67 positivo con un 60.71% de los casos. (ver figura 19).

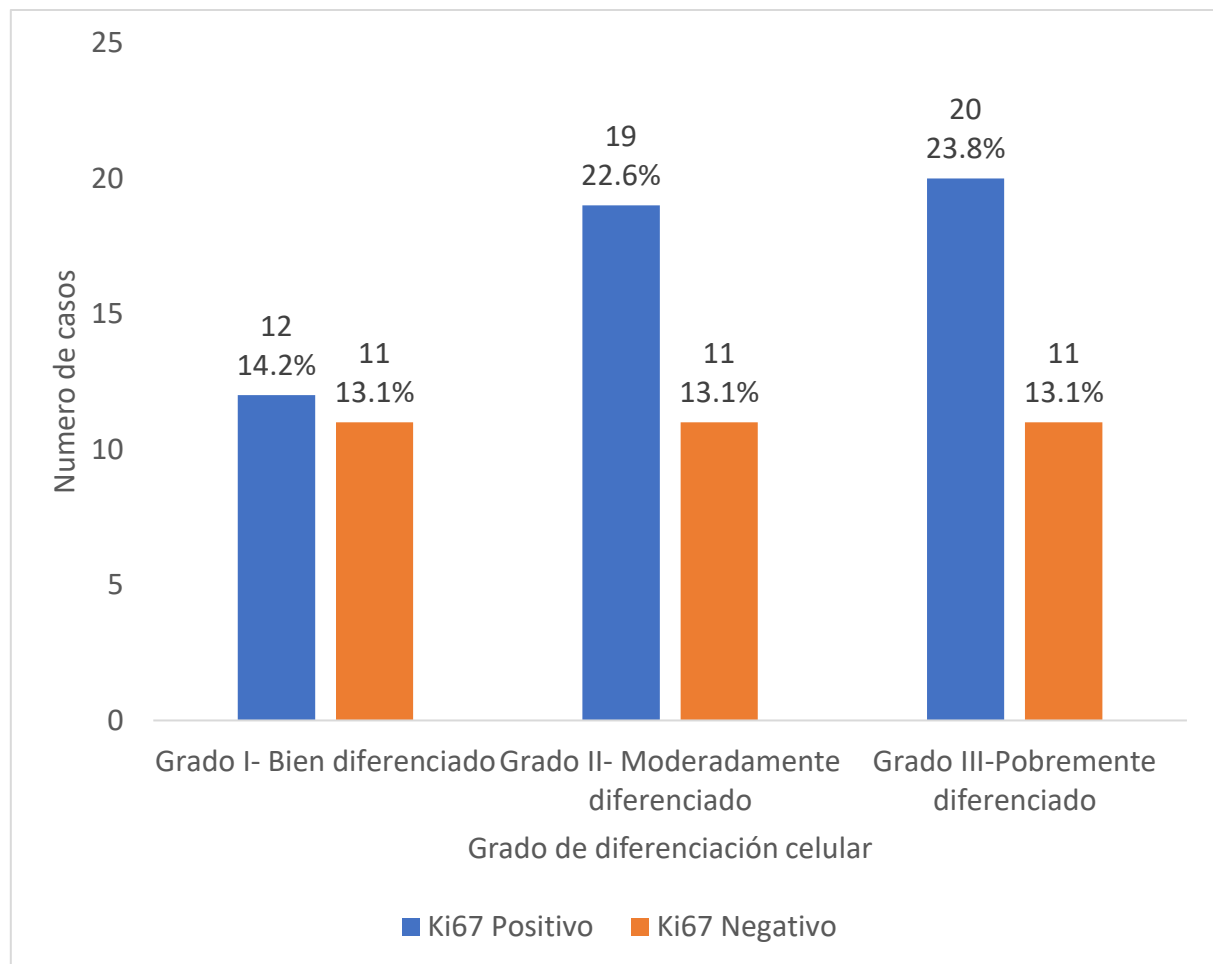


Figura 19. Grado de diferenciación celular y Ki67. Se muestran los 3 grados de diferenciación y la presencia o ausencia del marcador ki67, se observa un patrón heterogéneo con leve tendencia en los grados II y III a presentar ki67 positivo, se muestra número de casos y equivalente porcentual, n=84.

Al considerar la prueba Chi-cuadrado de Pearson considerando la variable grado histológico y Ki67 no se obtiene un valor estadísticamente significativo con $p=0.613$.

8. Discusión

El cáncer de mama es una enfermedad frecuente a nivel nacional y en Estado de Puebla, reportándose una incidencia estatal de acuerdo al boletín epidemiológico 2018 de 283 casos. De los cuales 139 biopsias fueron procesadas en el archivo de patología del hospital general del sur, representando un 49.11% de los casos reportados en ese año para el estado. El archivo de anatomía patología recaba las muestras del sector salubridad de los Hospitales: Hospital General Zona Norte, Hospital de la Mujer, Clínica oncológica de Mama y propios del Hospital General Zona Sur, lo que explica el alto porcentaje de casos atendidos respecto al reporte anual (figura 6) (20).

La alta incidencia anual de este padecimiento le coloca a nivel nacional como la primera causa de cáncer en ambos sexos con un 15.3% de los casos, primera causa de cáncer en sexo femenino con 28.2% de los casos, convirtiéndose en un problema de salud para todas las entidades de la república, reportándose una mortalidad nacional del 8.8% (19). Para el caso del estado de Puebla el último reporte del boletín epidemiológico 2020 le coloca en una mortalidad de 13.6 a 18 muertes por cada 100 mil mujeres de 20 años o más, con una incidencia anual a la alza mantenida desde el año 2017, la cual se mantiene en el año 2018 en el que se realizó el estudio(74).

La importancia de la determinación histopatológica que es considerada como estándar de oro diagnóstico, es que permite conocer el tipo y subtipo molecular de cáncer de mama, lo que brinda las pautas de abordaje terapéutico y pronóstico para cada paciente (75). A nivel internacional es sabido que el mayor porcentaje de los tipos histológicos de cáncer de mama corresponden a el tipo ductal con un 50-80% de los casos, subtipos lobulillares con un 20-30% de los casos, y casos especiales solo de 1 a 5% (carcinoma; medular, metaplásico, apocrino, cribiforme, mixto, etc.) (76). La incidencia de tipos histológicos encontrada es similar a los resultados que obtuvimos en esta investigación (figura 6).

Gutiérrez Becerra R, 2021, Determinación de receptores estrogénicos alfa y beta en cáncer de mama ductal.

La fisiología de la glándula mamaria normal responde a estímulos estrogénicos, preparando en las diferentes etapas del periodo menstrual a los ductos y lobulillos para proliferación, los lobulillos se ven regulados por estímulos de prolactina y oxitocina en la lactogénesis (efecto que se considera protector), una posible explicación de la predominancia del cáncer de tipo ductal puede relacionarse a una mejor respuesta para salir del estado quiescente y una menor regulación intrínseca: se ha demostrado un alta expresión estrogénica en subtipos lobulillares con una mejor regulación inmunológica, en la cual vías de señalización celular proliferativas como mTOR se encuentran con menor expresión (77).

El presente estudio considero cáncer de mama ductal con una incidencia del 77.3% de los casos, lo que permitió obtener una muestra suficiente para realizar la determinación de los receptores estrogénicos alfa y beta, el tipo de muestreo fue no probabilístico y por conveniencia, pero con un margen de error del 10% y un nivel de confianza de 99%, por cálculo de ecuación estadística para proporciones poblacionales se obtiene un tamaño de muestra de 72 biopsias, pese a esto, se procesaron las 84 biopsias disponibles con la finalidad de tener un mejor entendimiento del perfil histopatológico (figura 7).

La determinación clásica realizada por histopatología y recomendada por el Consenso Nacional e Internacional de cáncer de mama considera la determinación de receptor estrogénico alfa, receptor de progesterona, HER-2 y Ki67, determinaciones realizadas mediante técnica de inmunohistoquímica por peroxidasa, en la cual se puede observar una tinción color café claro/oscuro ante la localización del receptor buscado. Para el caso de los receptores; estrogénico alfa, progesterona y Ki67, su localización es nuclear y para HER-2 es en la membrana citoplasmática, elemento que se puede corroborar en las figuras 9-12(37,75).

El receptor de membrana citoplasmática HER-2 (receptor de factor de crecimiento epidérmico tipo 2) es considerado un receptor de mal pronóstico con actividad tirosina cinasa que media efectos proliferativos en el tejido cancerígeno, este subtipo era considerado el de peor pronóstico, pero con el desarrollo del

Gutiérrez Becerra R, 2021, Determinación de receptores estrogénicos alfa y beta en cáncer de mama ductal.

anticuerpo monoclonal específico trastuzumab pasa a ser el tercer subtipo de mal pronóstico (figura 9) (78).

Para el caso del receptor ki67, marcador de proliferación celular con localización nuclear, su presencia en la determinación por peroxidasa se ha considerado como de mal pronóstico, asociada con tumores de gran tamaño y presencia de metástasis, este marcador suele encontrarse presente a nivel de membrana nuclear en todas las fases del ciclo celular a menos que la célula se encuentre en estado de quiescencia (figura 10) (45).

Los receptores estrogénico alfa y de progesterona son receptores de tipo nuclear que responden a estímulos hormonales mediando efectos proliferativos en la célula donde se expresan, la vía de acción de estos receptores suele activar efectos de tipo genómico, su localización a nivel nuclear en los subtipos moleculares luminales se considera de buen pronóstico ya que estos subtipos responden bien al tratamiento antihormonal en la mayoría de los casos (figura 11-12) (79).

La determinación del receptor estrogénico beta solo se considera con fines de investigación, su localización a nivel nuclear es similar al receptor estrogénico alfa lo sugiere efectos de tipo genómico, sin embargo, también se ha encontrado a nivel citoplasmático, lo que le relaciona con efectos de tipo no genómico, pese a que existen 5 isoformas conocidas de este receptor, en esta investigación se realiza la determinación de la isoforma 1 con localización nuclear y citoplasmática (figura 13 y 14) (48,64,65,80).

En la determinación del sexo para las 84 biopsias analizadas se obtuvo un 100% de los casos sexo femenino, sin embargo, en la revisión del expediente del año 2018 se encontró un masculino 54 años, subtipo HER-2, grado moderadamente diferenciado, ki67 positivo, (no se incluyó en el estudio por falta de bloque con biopsia para procesamiento).

De acuerdo al funcionamiento fisiológico normal de la glándula mamaria, esta es considerada un órgano hormono-dependiente, respondiendo a los estímulos estrogénicos y de progesterona que determinan su hipertrofia e hiperplasia para el

Gutiérrez Becerra R, 2021, Determinación de receptores estrogénicos alfa y beta en cáncer de mama ductal.

proceso de lactación materna. Es de esperarse debido a la baja expresión de estrógeno y progesterona en el hombre que los casos de cáncer de mama sean esporádicos, a nivel mundial se estima que el cáncer de mama solo representa el 1% de las neoplasias en varones (23).

Existen múltiples teorías sobre la carcinogénesis mamaria, en el caso de los varones, un patrón de herencia dominante ligada a BRCA-1 y 2, exposición a carcinógenos exógenos, antecedentes familiares oncológicos, inmunosenescencia, y en este caso mutaciones en el receptor HER-2 pudieron ser la causa de su presentación(5).

Respecto a la edad de presentación el instituto nacional de cáncer estima que la media de diagnóstico de las pacientes es de 61 a años de edad, por su parte el Consenso Mexicano sobre cáncer reporta una media de 52.5 años, al compararlo con los resultados obtenidos (51.9 años) se obtuvo una media similar a la nacional, pero encontrándonos alrededor de una década por debajo de la media la población europea y norteamericana (75,81).

Una edad de presentación temprana nos indica que nuestra población tiene una mayor exposición a factores intrínsecos y extrínsecos por ejemplo: procesos de industrialización, manejo de desechos residuales en aguas fluviales, uso de anticonceptivos prolongado, exposición estrogénica en los alimentos, exposición a cancerígenos ambientales, y carga genética alterada (75,82). La edad de presentación temprana es considerada como un factor de riesgo y mal pronóstico, efecto notado en pacientes menores de 35 años, que expresan tumores de mayor tamaño, con subtipos agresivos como el caso del subtipo triple negativo (83).

La determinación del receptor estrogénico alfa es considerada como parte del perfil de subtipos moleculares clásicos de cáncer de mama ductal, por consenso el receptor estrogénico alfa se expresa en los subtipos luminal A (RE+, RP+ y HER2-) y luminal B (RE+, RP+ y HER+), encontrándose ausente en los subtipos HER2 (RE-,RP- y HER+) y triple negativo (RE-,RP- y HER-2) lo que podemos corroborar en la figura 15 (75).

Gutiérrez Becerra R, 2021, Determinación de receptores estrogénicos alfa y beta en cáncer de mama ductal.

La prueba estadística de Chi-cuadrado de Pearson con un valor $p < 0.05$ corrobora la diferencia significativa de la expresión del receptor estrogénico alfa en los subtipos luminales y ausente en HER-2 y triple negativo.

La incidencia de los subtipos moleculares a nivel nacional es del 60% para subtipos luminales, 20.4% para HER-2 y 23.1% para triple negativo, los resultados obtenidos indican un 64.2% subtipos luminales, 21.42% HER-2 y 14% triple negativo, a excepción del subtipo triple negativo los resultados obtenidos son similares a los esperados, aunque si se considera la incidencia internacional del 15% para triple negativo el resultado encontrado se ajusta a la prevalencia internacional (40,48,75).

La importancia de la determinación de subtipos moleculares versa las posibilidades de abordaje terapéutico: Para el caso de subtipos luminales tratamiento anti-hormonal, para el caso de HER-2 tratamiento con anticuerpos monoclonales (trastuzumab) y para triple negativo quimioterapia (75). Para la sobrevida estimada en 4 años se reporta luminal A 92.5%, Luminal B 90.3%, HER-2 82.7% y triple negativo 77.0% (84).

La determinación del receptor estrogénico beta con base a los subtipos moleculares aún se realiza con fines de investigación sin llegarse a un consenso sobre sus efectos específicos, la presencia de un receptor intracelular con reconocimiento estrogénico que pueda convertirse en una diana terapéutica cobra importancia en los subtipos moleculares HER-2 y triple negativo donde las opciones terapéuticas y pronósticas son desfavorables (figura 16) (10,56,62).

La determinación de la expresión del receptor estrogénico beta 1 en el subtipo triple negativo, se ha relacionado a una mejor sobrevida en 5 años, la inhibición de este receptor mediante agonistas (liquiritegein y ERB-041) ha mostrado un decremento del efecto proliferativo en estudios en línea celular (67).

Para el caso de los subtipos luminales la determinación del receptor estrogénico beta guarda relación con el efecto al tratamiento anti-estrogénico, estudios al respecto han demostrado que la expresión simultánea del receptora alfa

Gutiérrez Becerra R, 2021, Determinación de receptores estrogénicos alfa y beta en cáncer de mama ductal.

y beta aumenta la sensibilidad a tamoxifeno (63). En este contexto el receptor beta puede convertirse en una diana importante considerando que solo el 70% de los subtipos luminales responden a tratamiento con tamoxifeno (56).

En la figura 16 se puede observar un perfil de expresión del receptor estrogénico beta heterogéneo entre los subtipos moleculares, sin encontrar un valor estadístico significativo de la prueba chi-cuadrado $p=0.482$, sin embargo se encuentra expresado en todos los subtipos con una tendencia de expresión mayor en los subtipos luminales.

La expresión simultánea del receptor estrogénico alfa y beta ha sido estudiada sugiriéndose que el receptor estrogénico beta mediante su inhibición selectiva (agonista DNP) tiene un efecto anti-proliferativo (56).

Si se considera la expresión del receptor estrogénico beta en todos los subtipos moleculares (69.09% positivos), el grado histológico y ki67, se puede observar un perfil heterogéneo con tendencia a la proliferación celular (ki67 60.6%) con moderada (35.7%) pobre diferenciación celular (36.9%).

Si bien no existe un consenso sobre el efecto proliferativo o anti-proliferativo que juega el receptor estrogénico beta en cáncer de mama o incluso en otros tipos de cáncer, considerando la homología del receptor alfa y beta, se propone que el receptor estrogénico beta puede mediar efectos genómicos y no genómicos que tienen efectos en la proliferación celular y que mediante su inhibición con agonistas selectivos puedan inhibir dicho efecto proliferativo, considerándose como una posible diana terapéutica en todos los subtipos moleculares de cáncer de mama (48,63,89,64,65,67,80,85–88).

Como se puede observar en las determinaciones del receptor estrogénico beta, su localización celular es heterogénea expresándose tanto a nivel de membrana nuclear como a nivel citoplasmático, lo que puede guardar relación además del efecto genómico y no genómico que puede desempeñar, con el estatus proliferativo celular tanto de la muestra en general como de la célula observada (65).

Gutiérrez Becerra R, 2021, Determinación de receptores estrogénicos alfa y beta en cáncer de mama ductal.

Si bien no existe un punto de corte respecto a la expresión del receptor estrogénico beta, debido a que aún se encuentra en investigación, si consideramos a su homólogo el receptor estrogénico alfa, la localización en membrana nuclear mayor al 10% de receptores estrogénicos alfa e incluso receptores de progesterona es considerada como positiva y por lo tanto candidata a tratamiento anti-hormonal, considerando en este contexto los sistemas de clasificación de H-score y Allred (15).

Al considerar al receptor estrogénico beta como un mediador de la respuesta hormonal que determine los efectos en el control de la proliferación celular, la expresión de su localización puede guardar relación con la etapa del ciclo celular quiescente o proliferativa lo que explicaría porque en algunas células expresan a nivel de membrana nuclear y otras a nivel citoplasmático (64).

Otro de los factores que podrían determinar la expresión de la localización a nivel citoplasmático del receptor estrogénico beta (ligada a efectos no genómicos), podría ser la concentración de hormonas sexuales dependiente del estatus del ciclo hormonal femenino en que se tomó la biopsia, el cual no se consideró para este estudio (90).

Respecto a la determinación de subtipos moleculares y el marcador de proliferación celular ki67, podemos observar en la figura 17 una tendencia de positividad de ki67 en los subtipos más agresivos como lo es Luminal B (29.7%), HER-2 (16.6%) y triple negativo (9.5%), obteniendo un resultado estadísticamente significativo $p < 0.05$, para el caso del subtipo Luminal A la positividad fue solo de 4.7% considerándose como un factor de buen pronóstico.

Ki67 es un marcador de proliferación celular nuclear presente en todas las fases del ciclo celular a excepción de G0, su expresión se ha correlacionado como un factor de riesgo independiente relacionado a: tumores pobremente diferenciados, gran tamaño tumoral, presencia de metástasis axilares y con baja respuesta a quimioterapia (2,45). Si consideramos la expresión positiva de Ki67 en todas las muestras con un 60.5% de los casos, existe una tendencia a la proliferación celular en la muestra estudiada.

Gutiérrez Becerra R, 2021, Determinación de receptores estrogénicos alfa y beta en cáncer de mama ductal.

En la figura 18 se analizan los subtipos moleculares y el grado histológico, pese a existir un perfil heterogéneo sin un resultado estadísticamente significativo entre grupos, se puede observar que en los subtipos HER-2 y triple negativo existe una tendencia de presentación mayor en el grado pobremente diferenciado (9.5% y 7.1% respectivamente), lo que concuerda con la agresividad de dichos subtipos (52).

El grado histológico es considerado como un factor pronóstico importante ya que nos habla del grado de pleomorfismo celular del tumor: la clasificación de Scarff-Bloom-Richardson para grado histológico considera; Índice mitótico, variabilidad en el tamaño celular, la forma y tamaño del núcleo en comparación con tejido sano y el grado de diferenciación glandular, entre mayor puntaje se obtiene, el grado de diferenciación es menor, existiendo 3 grados (I bien diferenciado, II moderadamente diferenciado y III pobremente diferenciado) (33,44,75).

La importancia pronóstica del grado de diferenciación con respecto a la sobrevida en 5 años corresponde para el grado I 86%, grado II 70%, grado III 57%, con base a los resultados obtenidos respecto a la incidencia anual según el grado de diferenciación obtuvimos: grado I un 27.3%, grado II 35.7% y grado III 36.9%, lo que nos refiere un perfil inmunohistoquímico agresivo (91).

Al considerar la determinación del grado histológico y el marcador ki67 (figura 19), ambos considerados como factores pronóstico, no se encuentra una significancia estadística entre grupos de diferenciación y la expresión de ki67, sin embargo se observa una tendencia a la expresión positiva de ki67 en los grado II y III, lo que refiere que los tumores con mayor grado de pleomorfismo celular tienen un grado de proliferación celular mayor (92).

9. Conclusión

Se expresan receptores estrogénicos alfa y beta en muestras de biopsias de pacientes con cáncer de mama ductal.

La expresión y localización de receptores permitió conocer los subtipos moleculares inmunohistoquímicos registrados, los cuales fueron similares a los reportados en la bibliografía nacional.

El sexo de las pacientes de donde provenían las biopsias fue femenino en todos los casos.

La edad media diagnóstica fue similar a la reportada nacionalmente, pero encontrándose una década por debajo de la media de países europeos y de América del Norte.

La expresión del receptor estrogénico alfa es estadísticamente significativa, con expresión sólo en los subtipos luminales A y B.

La expresión del receptor estrogénico beta es heterogénea, sin significancia estadística entre subtipos, pero con tendencia a expresión en subtipos luminales A y B.

La expresión del marcador de proliferación celular en los subtipos moleculares de cáncer fue estadísticamente significativa, con una tendencia de expresión en los subtipos más agresivos: Luminal B, HER-2 y triple negativo.

La determinación de subtipos moleculares y grado histológico fue heterogénea, sin obtener una significancia estadística, pero se observó una tendencia a moderada diferenciación en subtipos luminales, y pobre diferenciación en HER-2 y triple negativo.

La determinación del grado histológico y Ki67 fue heterogénea, sin obtener una significancia estadística, pero se observó mayor grado de expresión del marcador de proliferación en los grados moderado y pobremente diferenciado.

Capítulo 3

10. Sesgos y limitaciones

Debido a las condiciones de contingencia sanitaria en la que se desarrolló la mayor parte de este estudio, existieron varias limitaciones de tipo económico e infraestructura que dificultaron la obtención de variantes del receptor estrogénico beta, limitándose a su procesamiento con el anticuerpo monoclonal Anti-estrogen receptor β clona 68-4 mediante técnica por peroxidasa.

Debido a que el banco de patología del hospital general del sur recaba muestras de diferentes hospitales del sector salubridad del interior y exterior del estado, solo se tuvo acceso al expediente completo de anatomía patológica y no al expediente clínico del paciente, lo que pudo brindar información extra con la cual ampliar las variables del estudio.

Debido a que algunas pacientes que son diagnosticadas con cáncer de mama prefieren atenderse en el sector privado o son referidas a ciudad de México, no se lograron incluir a todas las pacientes disponibles en archivo de patología por ausencia de bloque para procesamiento.

Si bien se cumplieron los objetivos establecidos en la presente investigación, debido a los protocolos de contingencia y seguridad para el acceso a laboratorios de la facultad de medicina, no se pudo tener acceso a todos los recursos tecnológicos disponibles.

Se establece la determinación del receptor estrogénico alfa y beta, sin embargo, aunque aún se encuentran en investigación existen variantes del receptor estrogénico beta 1- 5, considerándose la expresión sólo del receptor beta 1.

Debido al tiempo limitado de la maestría para concluir el estudio, solo se consideraron las muestras procesadas en el año 2018, sin embargo, el banco de patología dispone de un archivo de 5 años.

Se lamenta el dolido fallecimiento de mi directora de tesis la Dra. María Alicia Díaz y Orea que hubiera aportado con conocimiento y experiencia a la finalización de esta investigación.

11. Fortalezas

Debido a que el archivo de patología del hospital general del sur recaba la mayoría de muestras del sector salubridad del estado se obtuvo una muestra importante respecto a la población atendida en 2018.

La disposición del equipo de patología del hospital general del sur, pese a la carga de trabajo aumentada por condiciones de contingencia, favoreció a que patólogos con más de 10 años de experiencia colaboraran con su conocimiento y habilidades en este estudio.

Una de las ventajas de la técnica de procesamiento por peroxidasa es que las muestras procesadas pueden ser guardadas y usadas para futuras investigaciones.

La ventaja de plantear la investigación con base a la expresión de receptores alfa y beta en biopsias de pacientes con cáncer de mama ductal, es que se pudo corroborar la determinación clásica del receptor alfa, que es base de la clasificación de subtipos moleculares, y además se corroboró la expresión del receptor beta no solo en los subtipos HER-2 y triple negativo, si no en todos los subtipos luminales, lo que lo convierte en una posible diana terapéutica para cáncer de mama ductal.

Al ser la determinación de subtipos moleculares de cáncer de mama ductal un protocolo de rutina, el apoyo a la obtención de los anticuerpos monoclonales clásicos (receptor alfa, receptor de progesterona, HER-2 y KI67) fue gratuita para este estudio, lo que permitió integrar al estado de la técnica diagnóstica al receptor estrogénico beta.

12.Perspectivas

Conociendo que la expresión del receptor estrogénico beta es amplia en todos los subtipos moleculares (que considera al receptor alfa), se abre una brecha de investigación interesante en cada subtipo molecular de cáncer de mama ductal, en la cual si se diseñan estudios de correlación donde se considere el estatus del tamaño tumoral, nódulos linfáticos, presencia de metástasis, sobrevida y el tratamiento empleado, se tendrá un panorama claro del efecto en la proliferación celular de dicho receptor para ser considerado como una diana terapéutica y factor pronóstico.

La determinación de isoformas del receptor estrogénico beta en cáncer de mama ductal, considerando aspectos clínicos de las pacientes estudiadas es una línea de investigación que aún se encuentra en desarrollo y puede gestionarse para realizarla en nuestro contexto.

Al igual que el cáncer de mama ductal, el cáncer de mama lobulillar tiene alta expresión de receptores estrogénicos, en la cual la determinación del receptor estrogénico beta pueda ser de utilidad para su caracterización y abordaje terapéutico.

Al igual que el tejido mamario, por su fisiología hormono-dependiente diferentes tejidos del organismo son susceptibles de la expresión del receptor estrogénico beta, lo que abre una línea de investigación que puede ser realizada en el archivo de patología del hospital general del sur, considerando no solo líneas celulares sino muestras de biopsias de pacientes susceptibles a caracterización.

13. Beneficios a la sociedad

El presente trabajo tiene beneficios a corto plazo en el contexto hospitalario ya que la determinación inmunohistoquímica se realiza por rutina en el departamento de patología, sin integrarse un análisis general del reporte anual de los casos analizados, lo que contribuye a la vigilancia epidemiológica de cáncer de mama, del cual el Hospital General del Sur, integra el banco de patología más grande del Estado de Puebla para Secretaría de Salud.

El perfil inmunohistoquímico mostrado en nuestra población siguiendo las recomendaciones del consenso nacional de cáncer de mama, ayuda al oncólogo quirúrgico y clínico a conocer el panorama local al que se enfrenta en las pacientes con cáncer de mama ductal.

Con los recortes de gobierno en un contexto de austeridad, el conocer el perfil inmunohistoquímico y por lo tanto el tipo de reactivo que más frecuentemente se utiliza, ayudara al personal administrativo a la gestión del mismo, dando prioridad a la determinación de receptores estrogénicos y HER-2, buscando evitar el desabasto.

La integración de un primer estudio sobre la determinación de receptores estrogénicos alfa y beta en población local con cáncer de mama ductal, sienta el precedente para estudios complementarios, en donde el receptor estrogénico beta y sus isoformas sean considerados como una diana terapéutica y pronostica para el tratamiento de cáncer de mama.

Se requerirá integrar a mediano plazo equipos de investigación que puedan dar seguimiento a este tema, lo que abre un área de oportunidad para la formación de recursos humanos (alumnos de maestría, doctorado, médicos residentes, etc.).

El departamento de patología del hospital general del sur se considera uno de los bancos de patología más importantes del estado, archivando muestras de diferentes tumores que pueden expresar el receptor estrogénico beta (cáncer cervicouterino, cáncer de próstata, cáncer de colon, cáncer adenohipofisiario, etc.), por lo que su estudio podría ayudarnos a entender mejor estas enfermedades.

14. Bibliografía

1. Cárdenas-Sánchez J, Erazo Valle-Solís AA, Arce-Salinas C, Bargalló-Rocha JE, Bautista-Piña V, Cervantes-Sánchez G, et al. Consenso Mexicano sobre diagnóstico y tratamiento del cáncer mamario. Octava revisión. Colima 2019. Gac Mex Oncol. 2019;18(3):141–231.
2. Bonacho T, Rodrigues F, Liberal J. Immunohistochemistry for diagnosis and prognosis of breast cancer: a review. Biotech Histochem [Internet]. 2020;95(2):71–91. Available from: <https://doi.org/10.1080/10520295.2019.1651901>
3. García Figueredo, Pereda M, Carda L. Papel de los estrógenos y sus receptores en las enfermedades benignas y malignas prostáticas: Parte 1. Rev Mex Urol [Internet]. 2015;75(5):283–91. Available from: <https://www.elsevier.es/es-revista-revista-mexicana-urologia-302-pdf-S2007408515000968>
4. Mora JF, Barajas ER, Conyer RT, Romo RC, León-May ME de, Pier EG, et al. Compendio de Anatomía Patológica de la Glándula Mamaria [Internet]. 1st ed. Salud S de, editor. México; 2002. 1–125 p. Available from: <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/documentos/DOCSAL7249.pdf>
5. Momenimovahed Z, Salehiniya H. Epidemiological characteristics of and risk factors for breast cancer in the world. Breast Cancer Targets Ther. 2019;11:151–64.
6. César Sánchez R. Vejez y cáncer de mama, el desafío del siglo 21. Rev Med Chil [Internet]. 2012;140(5):649–58. Available from: <https://scielo.conicyt.cl/pdf/rmc/v140n5/art15.pdf>
7. Diario-oficial. NOM_041_SSA2_2011_Para la prevención, diagnóstico, tratamiento, control y vigilancia epidemiológica del cáncer de mama. Al.pdf. Cenetec [Internet]. 2011;1(1):1–41. Available from: http://www.cenetec.salud.gob.mx/descargas/equipoMedico/normas/NOM_041_SSA2_2011.pdf
8. Zhou X, Li C, Rahaman MM, Yao Y, Ai S, Sun C, et al. A

Gutiérrez Becerra R, 2021, Determinación de receptores estrogénicos alfa y beta en cáncer de mama ductal.

Comprehensive Review for Breast Histopathology Image Analysis Using Classical and Deep Neural Networks. IEEE Access. 2020;8(March):90931–56.

9. Balic M, Thomssen C, Würtle R, Gnant M, Harbeck N. St. Gallen/Vienna 2019: A Brief Summary of the Consensus Discussion on the Optimal Primary Breast Cancer Treatment. Breast Care [Internet]. 2019;4(1):1–8. Available from: <http://sbradioterapia.com.br/wp-content/uploads/2019/05/StGallen-2019.pdf>
10. Bialesova L, Xu L, Gustafsson JÅ, Haldosen LA, Zhao C, Dahlman-Wright K. Estrogen receptor β 2 induces proliferation and invasiveness of triple negative breast cancer cells; association with regulation of PHD3 and HIF-1 α . Oncotarget. 2017;8(44):76622–33.
11. Tirada N, Auiero M, Khorjekar G, Richards S, Chopra J, Dromi S, et al. Breast cancer tissue markers, genomic profiling, and other prognostic factors: A primer for radiologists. Radiographics [Internet]. 2018;38(7):1902–20. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30312139/>
12. Maffuz-Aziz A, Labastida-Almendaro S, Espejo-Fonseca A, Rodriguez-Cuevas S. Clinical and pathological features of breast cancer in a population of Mexico. Cir Cir. 2017;85(3):201–7.
13. Salinas-Martínez AM, Juárez-Ruiz A, Mathiew-Quirós Á, La Garza FJG De, Adriana SL, Escobar-Moreno C. Cáncer de mama en México: Tendencia en los Últimos 10 años de la incidencia y edad al diagnóstico. Rev Investig Clin [Internet]. 2014;66(3):210–7. Available from: <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=51756>
14. Altobelli E, Lattanzi A. Breast cancer in European Union: An update of screening programmes as of March 2014 (Review). Int J Oncol. 2014;45(5):1785–92.
15. Cárdenas-Sánchez J, Bargalló-Rocha JE, Bautista Piña V, Cervantes-Sánchez G, Erazo-Valle-Solís AA, Flores-Balcázar CH, et al. Consenso Mexicano sobre diagnóstico y tratamiento del cáncer mamario. Gac Mex Oncol [Internet]. 2015;16(91):2–55.

Gutiérrez Becerra R, 2021, Determinación de receptores estrogénicos alfa y beta en cáncer de mama ductal.

Available from: <https://www.elsevier.es/es-revista-gaceta-mexicana-oncologia-305-articulo-consenso-mexicano-sobre-diagnostico-tratamiento-X1665920115428989>

16. Pérez-Rodríguez G. Prevalencia de subtipos por inmunohistoquímica del cáncer de mama en pacientes del Hospital General Regional 72, Instituto Mexicano del Seguro Social. *Cir Cir* [Internet]. 2015;83(3):193–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.circir.2015.05.003>
17. World Health Organization. Cancer and Breast Cancer. *Globocan* [Internet]. 2019;876(1):1–2. Available from: <http://gco.iarc.fr/today>
18. World Health Organization. *Globocan 2018 Mexico Report*. *Globocan* [Internet]. 2019;283:2018–9. Available from: <http://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/populations/484-mexico-fact-sheets.pdf>
19. The Global Cancer Observatory. *Globocan 2020: México*. *Int Agency Res Cancer* [Internet]. 2020;929(1):29–30. Available from: <https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/populations/484-mexico-fact-sheets.pdf>
20. Revuelta A. *El Boletín Epidemiológico Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica Sistema Único de Información* [Internet]. 1st ed. DGE, editor. México: México; 2018. 1–64 p. Available from: https://www.gob.mx/salud/documentos/_-boletinepidemiologico-sistema-nacional-de-vigilancia-epidemiologica-sistema-unico-de-informacion-186989
21. Castrezana Campos M del R. The geography of Mexico breast cancer. *Investig Geogr*. 2017;2017(93):140–57.
22. Moore SC, Matthews CE, Ou Shu X, Yu K, Gail MH, Xu X, et al. Endogenous Estrogens, Estrogen Metabolites, and Breast Cancer Risk in Postmenopausal Chinese Women. *J Natl Cancer Inst*. 2016;108(10):1–13.
23. Ravi A, Bang H, Karsif K, Nori D. Breast cancer in men: Prognostic factors, treatment patterns, and outcome. *Am J Mens Health* [Internet]. 2012;6(1):51–8. Available from: https://www.researchgate.net/publication/51562140_Breast_Canc

er_in_Men/link/00b4952e91587226bf000000/download

24. Mohar A, Reynoso N, Villarreal-Garza C, Bargalló-Rocha JE, Arce-Salinas C, Lara-Medina F. Cáncer de mama en el Instituto Nacional de Cancerología. Experiencia del Seguro Popular 2007-2013. *Rev Mex Mastología* [Internet]. 2015;5(1):6–11. Available from: <https://www.medigraphic.com/pdfs/revmexmastol/ma-2015/ma151b.pdf>
25. American Cancer Society. Breast Cancer. Am Cancer Soc Inc [Internet]. 2018;2020(3):1–33. Available from: <https://www.cancer.org/content/dam/cancer-org/research/cancer-facts-and-statistics/breast-cancer-facts-and-figures/breast-cancer-facts-and-figures-2019-2020.pdf>
26. Vargas V, Acosta G, Moreno M, Vargas V, Flores K, Tovar J. Terapia hormonal de reemplazo durante la menopausia. Del riesgo al beneficio. *Rev del Hosp Juárez México* [Internet]. 2013;80(4):251–61. Available from: <http://www.medigraphic.com/pdfs/juarez/ju-2013/ju134h.pdf>
27. Paruthiyil S, Parmar H, Kerekatte V, Cunha GR, Firestone GL, Leitman DC. Estrogen Receptor β Inhibits Human Breast Cancer Cell Proliferation and Tumor Formation by Causing a G2 Cell Cycle Arrest. *Cancer Res*. 2004;64(1):423–8.
28. Sharma M, Pandey G, Khanna A. Oestrogen induced uterine cytotoxicity leading to cancer in albino rats Article. *Int J Anim Vet Fish Allied Sci* [Internet]. 2015;1(1):6–11. Available from: https://www.researchgate.net/publication/270159997_Oestrogen_induced_uterine_cytotoxicity_leading_to_cancer_in_albino_rats
29. Tsuchiya Y, Nakajima M, Yokoi T. Cytochrome P450-mediated metabolism of estrogens and its regulation in human. *Cancer Lett* [Internet]. 2005;227(2):115–24. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16112414>
30. Costa RLB, Han HS, Gradishar WJ. Targeting the PI3K/AKT/mTOR pathway in triple-negative breast cancer: a review. *Breast Cancer Res Treat* [Internet]. 2018;169(3):397–406. Available from: <https://doi.org/10.1007/s10549-018-4697-y>

Gutiérrez Becerra R, 2021, Determinación de receptores estrogénicos alfa y beta en cáncer de mama ductal.

31. Shen H, Yan W, Yuan J, Wang Z, Wang C. Nek2B activates the wnt pathway and promotes triple-negative breast cancer chemotherapy-resistance by stabilizing β -catenin. *J Exp Clin Cancer Res*. 2019;38(1):1–17.
32. Toss A, Venturelli M, Peterle C, Piacentini F, Cascinu S, Cortesi L. Molecular biomarkers for prediction of targeted therapy response in metastatic breast cancer: Trick or treat? *Int J Mol Sci* [Internet]. 2017;18(1):1–24. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28054957>
33. Knaul FM, Arreola-Ornelas H, Velázquez E, Dorantes J, Méndez Ó, Ávila-Burgos L. El costo de la atención médica del cáncer mamario: El caso del Instituto Mexicano del Seguro Social. *Salud Publica Mex*. 2009;51(2):1–12.
34. Ríos PR, Rivera AG, Cervantes FS, Martínez PM. Tendencia de la mortalidad por cáncer en México: 1990-2012. *Evid Médica e Investig en Salud* [Internet]. 2015;8(1):5–15. Available from: <https://www.medigraphic.com/pdfs/evidencia/eo-2015/eo151b.pdf>
35. Knaul FM, Arreola-ornelas H, C M, Velázquez E, Dorantes J, Méndez Ó, et al. El costo de la atención médica del cáncer mamario : el caso del Instituto Mexicano del Seguro Social. 2009;51(1):1–13. Available from: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0036-36342009000800019
36. Hernández CÁ, Pérez PV, Brusint B. Actualización del cáncer de mama en Atención Primaria (III / V). *Semergen* [Internet]. 2014;40(8):460–72. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.semERG.2014.04.006> 1138-3593/©
37. Coates AS, Winer EP, Goldhirsch A, Gelber RD, Gnant M, Piccart-Gebhart MJ, et al. Tailoring therapies-improving the management of early breast cancer: St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2015. *Ann Oncol* [Internet]. 2015;26(8):1533–46. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25939896>
38. Aibar L, Santalla A, López-Criado MS, González-Pérez I, Calderón MA, Gallo JL, et al. Clasificación radiológica y manejo

Gutiérrez Becerra R, 2021, Determinación de receptores estrogénicos alfa y beta en cáncer de mama ductal.

de las lesiones mamarias. Clin Invest Ginecol Obstet. 2011;38(4):141–9.

39. Krishnamurti U, Silverman JF. HER2 in breast cancer: A review and update. Adv Anat Pathol [Internet]. 2014;21(2):100–7. Available from: https://journals.lww.com/anatomicpathology/Abstract/2014/03000/HER2_in_Breast_Cancer___A_Review_and_Update.4.aspx
40. Ornelas-Aguirre JM, De La Asunción Pérez-Michel LM. Clasificación molecular del cáncer de mama: relación con las características clínico-patológicas y el grado histológico en mujeres del noroeste de México. Cir Cir [Internet]. 2013;81(6):496–507. Available from: <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=46774>
41. Sanz, Nitzia, Vinals, Araceli, Díaz, Augusto FA. Histological grading system of malignancy in invasive ductal carcinoma of the breast. Cocmed [Internet]. 2007;11(1):1–6. Available from: <http://www.cocmed.sld.cu/no111/n111ori3.htm>
42. Zhang R, Chen HJ, Wei B, Zhang HY, Pang ZG, Zhu H, et al. Reproducibility of the Nottingham modification of the Scarff-Bloom-Richardson histological grading system and the complementary value of Ki-67 to this system. Chin Med J (Engl). 2010;123(15):1976–82.
43. Hortobagyi Gabriel, Connolly James, D’Orsi Carl, Edge Stephen, Mittendorf Elizabeth, Lawrence Rugo, Weaver Donald, Winchester David GA. AJCC Cancer Staging Manual [Internet]. Vol. 39, Cancer Treatment Reviews. 2017. 1–50 p. Available from: <http://www.embase.com/search/results?subaction=viewrecord&from=export&id=L44697161%5Cnhttp://dx.doi.org/10.1586/14737140.6.10.1355%5Cnhttp://sfx.library.uu.nl/utrecht?sid=EMBASE&issn=14737140&id=doi:10.1586/14737140.6.10.1355&atitle=Refining+the+postmenop>
44. Bansal C, Pujani M, Sharma K, Srivastava A, Singh U. Grading systems in the cytological diagnosis of breast cancer: A review. J

Gutiérrez Becerra R, 2021, Determinación de receptores estrogénicos alfa y beta en cáncer de mama ductal.

Cancer Res Ther [Internet]. 2014;10(4):839–45. Available from: <https://www.cancerjournal.net/article.asp?issn=0973-1482;year=2014;volume=10;issue=4;spage=839;epage=845;aulast=Bansal>

45. Fernández Á, Reigosa A, Saldivia F, Castillo L, Castro J. Prognostic value of the ki-67 proliferation index in patients with triple negative breast carcinoma. Preliminary report. *Investig Clin Venez.* 2020;61(2):124–31.
46. Li J, Chen Z, Su K, Zeng J. Clinicopathological classification and traditional prognostic indicators of breast cancer. *Int J Clin Exp Pathol* [Internet]. 2015;8(7):8500–5. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26339424/>
47. Eyster K. Estrogen receptors. *Methods Mol Biol.* 2016;1366(1):1–10.
48. Austin D, Hamilton N, Elshimali Y, Pietras R, Wu Y, Vadgama J. Estrogen receptor-beta is a potential target for triple negative breast cancer treatment. *Oncotarget* [Internet]. 2018;9(74):33912–30. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30338035>
49. O’Connell MD, Said JW. Estrogen receptors in carcinoma of the breast. A comparison of the dextran-coated charcoal, immunofluorescent, and immunoperoxidase technics. *Am J Clin Pathol* [Internet]. 1983;80(1):1–5. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6190393/>
50. Escovar G, Hanssen H, Uribe Botero G. Técnicas de inmunoperoxidasa en la detección de marcadores tumorales y antígenos virales. *Biomédica* [Internet]. 1982;2(3):140. Available from: <https://revistabiomedica.org/index.php/biomedica/article/view/1839>
51. Curigliano G, Burstein HJ, Winer EP, Gnant M, Dubsy P, Loibl S, et al. De-escalating and escalating treatments for early-stage breast cancer: The St. Gallen International Expert Consensus Conference on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2017. *Ann Oncol* [Internet]. 2017;28(8):1700–12. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30218194>

Gutiérrez Becerra R, 2021, Determinación de receptores estrogénicos alfa y beta en cáncer de mama ductal.

52. Gándara-Cortes M, Vázquez-Boquete Á, Fernández-Rodríguez B, Viaño P, Ínsua D, Seoane-Seoane A, et al. Breast cancer subtype discrimination using standardized 4-IHC and digital image analysis. *Virchows Arch* [Internet]. 2018;472(2):195–203. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28825136>
53. Mestres JA. Telomerasa : regulaci6n , diana terapéutica y significado clínico en neoplasias humanas. *Rev Univ Barcelona* [Internet]. 2000;1(1):1–80. Available from: <https://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/4370/jam1de3.pdf?sequence=1>
54. Aníbal P, Agustín I, Gutiérrez S, Inés A. Efectos del estradiol a través del receptor estrogénico beta sobre la proliferación celular adenohipofisiaria. *Acta Microsc* [Internet]. 2016;25(1):5–6. Available from: <http://samic-argentina.org/file/EFEITOS DEL ESTRADIOL A TRAVES DEL RECEPTOR ESTROGENICO BETA SOBRE LA PROLIFERACION CELULAR ADENOHIPOFISARIA.pdf>
55. Yamilet Noriega-Reyes M, Mccarron EL. Correguladores del Receptor de Estrógenos y su Implicación en el Cáncer Mamario. *Cancerología* [Internet]. 2008;3(1):29–40. Available from: <http://incan-mexico.org/revistainvestiga/elementos/documentosPortada/1215566910.pdf>
56. Haldosén LA, Zhao C, Dahlman-Wright K. Estrogen receptor beta in breast cancer. *Mol Cell Endocrinol* [Internet]. 2014;382(1):665–72. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.mce.2013.08.005>
57. Caiazza F, Galluzzo P, Lorenzetti S, Marino M. 17 b -Estradiol induces ER b up-regulation via p38 / MAPK activation in colon cancer cells. *Biochem Biophys Res*. 2007;359:102–7.
58. Rong C, Fasolt É, Corvin R, Hess J. Estrogen Receptor Signaling in Radiotherapy : From Molecular Mechanisms to Clinical Studies. *Int J Mol Sci* [Internet]. 2018;19(1):1–16. Available from: file:///C:/Users/Compu81/Downloads/Estrogen_Receptor_Signaling_in_Radiotherapy_From_M.pdf
59. Cotrim CZ, Fabris V, Doria ML, Lindberg K, Gustafsson JÅ,

Gutiérrez Becerra R, 2021, Determinación de receptores estrogénicos alfa y beta en cáncer de mama ductal.

Amado F, et al. Estrogen receptor beta growth-inhibitory effects are repressed through activation of MAPK and PI3K signalling in mammary epithelial and breast cancer cells. *Oncogene*. 2012;32(19):1–13.

60. Panal M, Herrera M, Muela D, Hardisson D. Correlación entre la expresión de Ki67 con factores de mama precoz. *Rev Senol y Patol Mamar* [Internet]. 2017;27(4):163–9. Available from: <https://www.elsevier.es/es-revista-revista-senologia-patologia-mamaria-131-pdf-S0214158214000565>
61. Hammilton Nalo, Márquez Diana-Garbán, Mah Vei, Elshimali Yayha, Elashoff David, Garon Edward, Vadgama Jaydutt PR. Estrogen Receptor- β and the Insulin-Like Growth Factor Axis as Potential Therapeutic Targets for Triple-Negative Breast Cancer Nalo. *Crit Rev Oncol*. 2015;20(6):373–90.
62. Shanle EK, Zhao Z, Hawse J, Wisinski K, Keles S, Yuan M, et al. Research Resource: Global Identification of Estrogen Receptor β Target Genes in Triple Negative Breast Cancer Cells. *Mol Endocrinol* [Internet]. 2013;27(10):1762–75. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23979844>
63. Hodges-Gallagher L, Valentine CD, Bader S El, Kushner PJ. Estrogen receptor beta increases the efficacy of antiestrogens by effects on apoptosis and cell cycling in breast cancer cells. *Breast Cancer Res Treat*. 2008;109(2):241–50.
64. Speirs V, Shaaban AM. Role of ERb in Clinical Breast Cancer. *Cancer Treat Rev* [Internet]. 2009;147(1):17–36. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/978-0-387-09463-2>
65. Wu X, Subramaniam M, Negron V, Cicek M, Lingle WL, Goetz MP, et al. Development, Characterization, and Applications of a Novel Estrogen Receptor Beta Monoclonal Antibody. *J Cell Biochem*. 2012;113(2):711–23.
66. Sigma A. Anti-Estrogen Receptor β Antibody , clone 68-4 , rabbit monoclonal. *MERK* [Internet]. 2020;1(1):1–3. Available from: https://www.merckmillipore.com/MX/es/product/Anti-Estrogen-Receptor-Antibody-clone-68-4-rabbit-monoclonal,MM_NF-05-824#reference

Gutiérrez Becerra R, 2021, Determinación de receptores estrogénicos alfa y beta en cáncer de mama ductal.

67. Hinsche O, Girgert R, Emons G, Gründker C. Estrogen receptor β selective agonists reduce invasiveness of triple-negative breast cancer cells. *Int J Oncol* [Internet]. 2015;46(2):878–84. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6333678/>
68. Santti K, Ihalainen H, Rönty M, Karlsson C, Haglund C, Sampo M, et al. Estrogen receptor beta expression correlates with proliferation in desmoid tumors. *J Surg Oncol* [Internet]. 2019;119(7):873–9. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30742303>
69. Grindstad T, Skjefstad K, Andersen S, Ness N, Nordby Y, Al-Saad S, et al. Estrogen receptors α and β and aromatase as independent predictors for prostate cancer outcome. *Sci Rep* [Internet]. 2016;6(March):1–10. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/srep33114>
70. Neumeyer S, Popanda O, Edelmann D, Butterbach K, Toth C, Roth W, et al. Genome-wide DNA methylation differences according to oestrogen receptor beta status in colorectal cancer. *Epigenetics* [Internet]. 2019;14(5):477–93. Available from: <https://doi.org/10.1080/15592294.2019.1595998>
71. Caiazza F, Ryan EJ, Doherty G, Winter DC, Sheahan K. Estrogen receptors and their implications in colorectal carcinogenesis. *Front Oncol* [Internet]. 2015;5(1):1–10. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25699240>
72. Rodriguez D, Ramkairsingh M, Lin X, Kapoor A, Major P, Tang D. The Central Contributions of Breast Cancer Stem Cells in Developing Resistance to Endocrine Therapy in Estrogen Receptor (ER)-Positive Breast Cancer. *Cancers (Basel)* [Internet]. 2019;11(7):1028. Available from: <https://www.mdpi.com/2072-6694/11/7/1028>
73. Neubeuer, Hans, Wurster, Martin, Ruoff, Alexandra, Meisner C. Overexpression of BDNF and TrkB in human. *Anticancer Res* [Internet]. 2010;31(12):1265–70. Available from: https://www.researchgate.net/publication/277674553_Evaluation_of_ERa_PR_and_ERb_isoforms_in_neoadjuvant_treated_breast_cancer

Gutiérrez Becerra R, 2021, Determinación de receptores estrogénicos alfa y beta en cáncer de mama ductal.

74. INEGI. Estadística a propósito del día mundial de la lucha contra el cáncer de mama. Comun Prensa [Internet]. 2020;462(20):1–7. Available from:
<https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/populations/484-mexico-fact-sheets.pdf>
75. Cárdenas-Sánchez J, Bargalló-Rocha JE, Bautista Piña V, Cervantes-Sánchez G, Erazo-Valle-Solís AA, Flores-Balcázar CH, et al. Consenso Mexicano sobre diagnóstico y tratamiento del cáncer mamario. Gac Mex Oncol. 2019;16(91):2–55.
76. Nascimento RG do, Otoni KM. Histological and molecular classification of breast cancer: what do we know? Mastology [Internet]. 2020;30(1):1–8. Available from:
https://www.mastology.org/wp-content/uploads/2020/09/MAS_2020024_AOP.pdf
77. Du T, Zhu L, Levine KM, Tasdemir N, Lee A V., Vignali DAA, et al. Invasive lobular and ductal breast carcinoma differ in immune response, protein translation efficiency and metabolism. Sci Rep [Internet]. 2018;8(1):1–11. Available from:
<http://dx.doi.org/10.1038/s41598-018-25357-0>
78. Alex Daniel Mamani-Cancino, María Guadalupe Veloz-Martínez, Ivonne Casasola-Busteros, Christian Moctezuma-Meza, Juan Manuel García-Cebada+. Frecuencia de sobreexpresión del factor Her-2/neu en pacientes con cáncer de mama. Ginecol Obstet Mex. 2013;81(2):1.
79. Babyshkina N, Vtorushin S, Dronova T, Patalyak S, Slonimskaya E. Impact of estrogen receptor α on the tamoxifen response and prognosis in luminal - A - like and luminal - B - like breast cancer. Clin Exp Med [Internet]. 2019;1(1):1–10. Available from:
<https://doi.org/10.1007/s10238-019-00583-6>
80. Imamov O, Shim G-J, Warner M, Gustafsson J-Å. Estrogen Receptor beta in Health and Disease1. Biol Reprod [Internet]. 2005;73(5):866–71. Available from:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16033996>
81. Cáncer IN del. Edad y cáncer de mama. NIH [Internet]. 2021;1(1):1–2. Available from:

Gutiérrez Becerra R, 2021, Determinación de receptores estrogénicos alfa y beta en cáncer de mama ductal.

<https://www.cancer.gov/espanol/cancer/causas-prevencion/riesgo/edad#:~:text=Por ejemplo%2C la edad media,para el cáncer de próstata.>

82. Castrezana M del R. Geografía del cáncer de mama en México The geography of Mexico breast cancer. Inst Geogr UNAM [Internet]. 2017;93(1):2448–7279. Available from: <http://www.scielo.org.mx/pdf/igeo/n93/2448-7279-igeo-93-00010.pdf>
83. McGuire A, Brown JAL, Malone C, Mclaughlin R. Effects of Age on the Detection and Management of Breast Cancer. Cancers (Basel) [Internet]. 2015;7(1):908–29. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4491690/pdf/cancers-07-00815.pdf>
84. Howlader N, Cronin KA, Kurian AW, Andridge R. Differences in Breast Cancer Survival by Molecular Subtypes in the United States. Cancer Surveill Res [Internet]. 2018;1(1):619–27. Available from: <https://cebp.aacrjournals.org/content/27/6/619.full-text.pdf>
85. Mak P, Hassan S, Ho S, Green RE, Ronan M, Simons JF, et al. Estrogen receptor (ER)- α isoforms: A key to. 2006;103(35):13162–7.
86. Cotrim CZ, Fabris V, Doria ML, Lindberg K, Gustafsson JÅ, Amado F, et al. Estrogen receptor beta growth-inhibitory effects are repressed through activation of MAPK and PI3K signalling in mammary epithelial and breast cancer cells. Oncogene. 2013;32(19):2390–402.
87. Galluzzo P, Caiazza F, Moreno S, Marino M. Role of ER β palmitoylation in the inhibition of human colon cancer cell proliferation. Endocr Relat Cancer. 2007;14(1):153–67.
88. Lindberg K, Ström A, Lock JG, Gustafsson JÅ, Haldosén LA, Helguero LA. Expression of estrogen receptor β increases integrin α 1 and integrin β 1 levels and enhances adhesion of breast cancer cells. J Cell Physiol. 2009;222(1):156–67.
89. Honma N, Horii R, Iwase T, Saji S, Younes M, Takubo K, et al.

Gutiérrez Becerra R, 2021, Determinación de receptores estrogénicos alfa y beta en cáncer de mama ductal.

Clinical importance of estrogen receptor- β evaluation in breast cancer patients treated with adjuvant tamoxifen therapy. J Clin Oncol. 2008;26(22):3727–34.

90. Drummond AE, Fuller PJ. The importance of ER β signalling in the ovary. J Endocrinol [Internet]. 2010;205(1):15–23. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20019181/>
91. Brenes M, Brenes J, Catalina N. Cáncer de mama: característica anatomopatológicas. Rev médica costa rica y Centroam LXX [Internet]. 2013;1(607):395–9. Available from: <https://www.medigraphic.com/pdfs/revmedcoscen/rmc-2013/rmc133c.pdf>
92. Doussal L, Tubaiana-Hulin M, Friedman S, Hacene K, Spyrtos F, Brunet M. Prognostic Value of Histologic Grade Nuclear Components of Scarff - Bloom - Richardson (SBR). Cancer [Internet]. 1970;1(1):1914–21. Available from: <https://www.medigraphic.com/pdfs/revmedcoscen/rmc-2013/rmc133c.pdf>

Gutiérrez Becerra R, 2021, Determinación de receptores estrogénicos alfa y beta en cáncer de mama ductal.

15. Anexos

15.1 Anexo 1. Escala de clasificación TNM de acuerdo al Comité Conjunto Estadounidense sobre el Cáncer.

(Hortobagyi Gabriel, Connolly James, D'Orsi Carl, Edge Stephen, Mittendorf Elizabeth, Lawrence Rugo, Weaver Donald, Winchester David 2017).

T: Tumor primario
TX: El tumor primario no puede ser evaluado
TO: No hay evidencia de tumor primario
Tis: Carcinoma in situ (carcinoma intraductal, carcinoma lobular in situ o enfermedad de Paget de pezón sin tumor que lo acompañe)
T1: Tumor de 2.0 cm o menos en su mayor dimensión
T1a: Tumor de más de 0.1 cm pero no más de 0.5 cm en su mayor dimensión
T1b: Tumor de más de 0.5 cm pero no más de 1.0 cm en su mayor dimensión
T1c: Tumor de más de 1.0 cm pero no más de 2.0 cm 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
T4a: Extensión a la pared torácica
T4b: Edema "piel de naranja", ulceración de la piel de la mama o nódulos satélites limitados a la misma
T4c: Ambos casos mencionados arriba (T4a y T4b)
T4d: Carcinoma inflamatorio
N: Ganglios linfáticos regionales
NX: No se pueden evaluar los ganglios linfáticos regionales (por ejemplo, porque fueron extraídos previamente)
NO: No hay metástasis regional de los ganglios linfáticos
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
pN: Clasificación patológica
pNX: No se pueden evaluar los ganglios linfáticos regionales (no se extrajeron para estudio patológico o se extrajeron anteriormente)
pNO: No hay metástasis a los ganglios linfáticos regionales
pN1: Metástasis a ganglio o ganglios linfáticos axilares ipsilaterales móviles
pN1a: Sólo micrometástasis (ninguna mayor de 0.2 cm)
pN1b: Metástasis a ganglio(s) linfático(s), cualquiera mayor de 0.2 cm
pN1bi: Metástasis a entre uno y tres ganglios linfáticos, cualquiera mayor de 0.2 cm de tamaño y todos menores de 2.0 cm en su mayor dimensión
pN1bii: Metástasis a cuatro o más ganglios linfáticos, cualquiera mayor de 0.2 cm de tamaño y todos menores de 2.0 cm en su mayor dimensión
pN1biii: Extensión del tumor más allá de la cápsula de un ganglio linfático; metástasis menor de 2.0 cm en su mayor dimensión
pN1biv: Metástasis a un ganglio linfático de 2.0 cm o más en su mayor dimensión
pN2: Metástasis a ganglio o ganglios linfáticos axilares ipsilaterales unidos entre sí o a otras estructuras
pN3: Metástasis a ganglio o ganglios linfáticos ipsilaterales mamarios internos
(M): Metástasis distante
MX: No se puede evaluar la presencia de metástasis distante
MO: No hay metástasis distante
M1: Presencia de metástasis distante
Nota: la pared torácica incluye costillas, músculos intercostales y el músculo serrato mayor, pero no los músculos pectorales.

Gutiérrez Becerra R, 2021, Determinación de receptores estrogénicos alfa y beta en cáncer de mama ductal.

15.2 Anexo 2. Grupos por estadio clínico con base en la clasificación TNM de acuerdo al Comité Conjunto Estadounidense sobre el Cáncer.

(Hortobagyi Gabriel, Connolly James, D'Orsi Carl, Edge Stephen, Mittendorf Elizabeth, Lawrence Rugo, Weaver Donald, Winchester David 2017).

Clasificación de los tumores mamarios, sus nódulos y metástasis

ESTADIO	TAMAÑO DEL TUMOR	GANGLIO LINFÁTICO	METASTASIS
0	Tis	N0	Mo
I	T1*	N0	Mo
IIA	T0	N1	Mo
	T1*	N1	Mo
	T2	N0	Mo
IIB	T2	N1	Mo
	T3	N0	Mo
IIIA	T0	N2	Mo
	T1*	N2	Mo
	T2	N2	Mo
	T3	N1	Mo
	T3	N2	Mo
IIIB	T4	N0	Mo
	T4	N1	Mo
	T4	N2	Mo
IIIC	Cualquier T	N3	M0
IV	Cualquier T	Cualquier N	M1

Gutiérrez Becerra R, 2021, Determinación de receptores estrogénicos alfa y beta en cáncer de mama ductal.

15.3 Anexo 3. Cuadro de determinación de receptores estrogénicos alfa y beta.

Cuadro 1. Determinación de la expresión de receptores estrogénicos alfa y beta en muestras de biopsias de pacientes con cáncer.			
Autor-año	Línea tumoral/ pacientes.	Tipo de muestra y técnica.	Resultado.
Austin, D. 2018	Cáncer de mama. Subtipo triple Negativo. Línea celular triple negativo: MB- 231/BT549, MB- 468/HCC70/ HCC1806. Anticuerpo: Antib. RE-b1 PPG5/10	250 biopsias de pacientes. Técnica inmunohistoquímica	Una alta expresión de RE-b se correlaciona con una pobre sobrevida. P=0.015. Mal pronóstico. En líneas celulares aumenta la proliferación y migración celular. P<0.042 <u>Promueve cáncer.</u>
Hamilton, N. 2015	Cáncer de mama. Subtipo triple negativo. Anticuerpo: Antib.PPG5 RE-b1. Antib. 14C8_RE-b.	Rev. Línea tumoral, triple negativo; MDA-MB-435 Técnica inmunohistoquímica	Aumento de la proliferación tumoral y metástasis. P<0.005. <u>Promueve cáncer.</u>
Bialesova, L. 2017	Cáncer de mama. Subtipo triple negativo. Línea celular: BT549, MDA-MB-231 Anticuerpo: Antib RE- b2. DAPI.	Línea celular Triple negativo. Inmunofluorescencia.	Aumento de la proliferación y migración celular. P<0.05. <u>Promueve cáncer.</u>
Hinsche, O. 2015.	Cáncer de mama. Triple negativo. Línea celular: HCC1806, HCC1937, MCF-7 Anticuerpo: Antib. RE-b Abcam. Análogo RE-b liquiritigenin.	Línea celular. Técnica western blot.	RE-b y su agonista selectivo tienen funciones anti- invasivas en líneas celulares triple negativo. P<0.05. <u>Inhibe cáncer.</u>
Shanle E.K. 2013	Cáncer de mama. Triple negativo. Línea celular: Mda- mb-468-ERB Anticuerpo: Antib. Hsp90	Línea celular. Técnica western blot	La inducción RE-b inhibe el crecimiento de la línea celular. Aumenta expresión de p21, promueve apoptosis. P<0.05 <u>Inhibe cáncer.</u>
Santillan, J.G. 2013	Art. Rev. 52 fuentes.	Revisión de literatura.	Expresión de receptores estrogénicos alfa, beta y m (membrana), posible interacción con efectos no genómicos.

Gutiérrez Becerra R, 2021, Determinación de receptores estrogénicos alfa y beta en cáncer de mama ductal.

Wu X. 2012	Cáncer de mama 4 subtipos moleculares Anticuerpo: Ac. Monoclonal RE-b.	Líneas celulares normales y neoplasias mamarias. Inmunofluorescencia y peroxidasa.	Anticuerpos validados: Antib. RE-b1 MC10. Antib. RE-b PPG5-10
Neumeyer, S. 2019	Cáncer colorectal. Anticuerpo: Antib. Abcam 14C8.	917 biopsias de pacientes. Inmunoperoxidasa	516 positivas vs 401 negativas. Una asociación $p < 0.05$. La pérdida del RE-b con menor sobrevida. <u>Promueve cáncer.</u>
Santi, K. 2019	Tumores desmoides Antib RE-b VMS-T AZ.	83 biopsias de pacientes Inmunoperoxidasa	La expresión de RE-b se correlaciona con mayor proliferación 10.8% y una expresión de Ki67 $P = 0.003$ Factor de recaída con una $P = 0.002$. <u>Promueve cáncer.</u>
Grindstand, T. 2016	Cáncer de próstata. Antib. RE-b. PPG5- 10, MCA1974s, AbDserotec.	535 Biopsias de pacientes. IH	Expresión nuclear y citoplasmática. $P < 0.001$ RE-b2 promueve la migración e invasión celular. <u>Promueve cáncer.</u>

Gutiérrez Becerra R, 2021, Determinación de receptores estrogénicos alfa y beta en cáncer de mama ductal.

15.4 Anexo 4. Aspectos éticos.

El presente protocolo de ajusta a los lineamientos del código de Helsinki de 1975 y modificado en 1989, al reglamento de la Ley General de Salud en materia de investigación para salud México, a la Norma Oficial Mexicana NOM-012-SSA3-2007 que establece los criterios para la ejecución de proyectos de investigación para la salud en seres humanos.

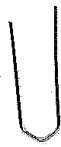
Respecto a la confidencialidad de los participantes en el estudio se trabajó con muestras de biopsias de dichos pacientes identificadas en el servicio de anatomía patológica. De acuerdo al reglamento de la ley general de salud en materia de investigación para salud México, título segundo, capítulo primero, artículo 17, para investigaciones de riesgo mínimo puede no solicitarse consentimiento informado.

Del mismo modo se consideraron las pautas de la guía internacional ética para estudios epidemiológicos 2009 (International Ethical Guidelines for Epidemiological Studies), que establece en la pauta 4, inciso b la omisión del consentimiento informado cuando la investigación se realiza con materiales biológicos identificables con fines justificados en protocolos de investigación. Considerándose la alta morbilidad y mortalidad del cáncer de mama ductal y siendo que se recabaron muestras del archivo de patología (retrospectivamente) muchas de las pacientes han fallecido o ya no se encuentran en atención dentro del hospital.

Este protocolo fue sometido a los comités de bioética del posgrado en Ciencias Médicas e Investigación de la Benemérita Universidad Autónoma del Estado de Puebla siendo aprobado con fecha 12 de marzo de 2020, número de libro 2, número de hoja 132, número de registro 813, con vigencia inicio 12 de marzo, termino 17 de diciembre de 2021, del mismo modo siendo presentado y aprobado por el comité de bioética del Hospital Universitario de Puebla con No de registro CEIHUP 2020/003.

Gutiérrez Becerra R, 2021, Determinación de receptores estrogénicos alfa y beta en cáncer de mama ductal.

15.4.1 Anexo 4.1 Constancia de registro de protocolo BUAP



Oficio No SIEP / C.I. / 062 / 2020

Asunto: Constancia de Registro

D.C. MARÍA ALICIA DÍAZ Y OREA.
D.C. EDUARDO GÓMEZ CONDE.
LIC. MED. RAFAEL GUTIÉRREZ BECERRA.

PRESENTE:

El Comité de Investigación de la Facultad de Medicina de la B.U.A.P., a través de la Secretaría de Investigación y Estudios de Posgrado hace **CONSTAR** que el Proyecto de Investigación presentado en autoría Colectiva por:

- LIC. MED. RAFAEL GUTIÉRREZ BECERRA.
- D.C. MARÍA ALICIA DÍAZ Y OREA.
- D.C. EDUARDO GÓMEZ CONDE.

Titulado:

"DETERMINACIÓN DE EXPRESIÓN DE RECEPTORES ESTROGÉNICOS ALFA Y BETA EN BIOPSIAS DE PACIENTES CON CÁNCER DE MAMA DUCTAL"

Ha sido registrado en esta Secretaría con los siguientes datos:

Fecha de registro: 12 de marzo de 2020.
Número de Libro: 2
Número de Hoja: 132
Número de Registro: 813
Vigencia: Inicio 12 de marzo Termina 17 de diciembre de 2021

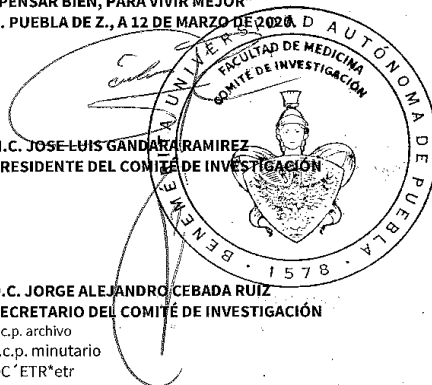
ATENTAMENTE

"PENSAR BIEN, PARA VIVIR MEJOR"

H. PUEBLA DE Z., A 12 DE MARZO DE 2020.

M.C. JOSÉ LUIS GANDARA RAMÍREZ
PRESIDENTE DEL COMITÉ DE INVESTIGACIÓN

D.C. JORGE ALEJANDRO CEBADA RUIZ
SECRETARIO DEL COMITÉ DE INVESTIGACIÓN
c.c.p. archivo
c.c.p. minutarlo
DC ETR*etr



Facultad
de Medicina

13 Sur 2702, Col. Volcanes,
Puebla, Pue. C.P. 72410
01 (222) 229 55 00
Ext. 6047 y 6048

Gutiérrez Becerra R, 2021, Determinación de receptores estrogénicos alfa y beta en cáncer de mama ductal.

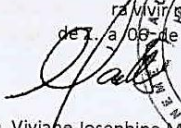
15.4.2 Anexo 4.2 Constancia de registro de protocolo HUP



Tengo el agrado de notificarle, que el protocolo de investigación con título **"Determinación de expresión de receptores estrogénicos alfa y beta en biopsias de pacientes con cáncer de mama ductal"**, que fue sometido a evaluación de este Comité de Investigación y Ética de Investigación en Salud, de acuerdo con las recomendaciones de sus integrantes y de los revisores, cumple con la calidad metodológica y los requerimientos de ética y de investigación, por lo que el dictamen es **AUTORIZADO**, con el número de registro Institucional:

CEIHUP	2020/003
--------	----------

ra vivir mejor
de 1.ª a 06 de febrero de 2020



Dra. Viviane Josephine Mañet Sánchez
Enseñanza, Investigación

C.E.P. Archivo
D:\UMS\mmlp

Hospital
Universitario
de Puebla

25 Poniente 1301, Col. Volcanes
Puebla, Pue. C.P. 72410
01 (222) 229 55 00 Ext. 6200 y 6162

15.5 Anexo 5 Variables del estudio

Definición conceptual y operacional

Variable	Definición Conceptual	Definición Operacional
Receptor alfa estrogénico.	Receptor estrogénico de localización nuclear, con función metabólica proliferativa en cáncer de mama, codificado en el cromosoma 6q24-q27	Receptor nuclear observado por microscopia; Presente o ausente
Receptor beta estrogénico.	Receptor estrogénico de localización nuclear, con función metabólica en cáncer de mama, codificado en el cromosoma 14q23.2	Receptor observado por microscopia; Presente o ausente

Tipo, escala, unidad y equipo de medición de variables.

Variable	Tipo de variable	Escala de medición	Unidad de Medición.	Equipo
Receptor alfa estrogénico.	Cualitativa.	Nominal Dicotómica .	Presente - ausente.	Microscopio óptico.
Receptor beta estrogénico.	Cualitativa.	Nominal Dicotómica .	Presente - ausente.	Microscopio óptico

15.5.1 Anexo 6 Variables demográficas

Definición conceptual y operacional

Variable	Definición Conceptual	Definición Operacional
Edad	Tiempo transcurrido a partir del día de nacimiento de un individuo	Valor numérico de años de vida de un individuo desde su nacimiento
Sexo	Es el conjunto de las peculiaridades que caracterizan los individuos de una especie dividiéndolos en hombres y mujeres	Hombre-Mujer
Subtipo histológico de cáncer de mama.	En base a los receptores moleculares: Luminal A, Luminal B, HER2, Triple negativo.	Luminal A (RE+, RP+HER2-) Luminal B (RE+RP+/-, HER2+) HER2 (RE-, RP-, HER2+), TRIPLE NEGATIVO (RE-, RP-HER2-).
Ki67	Factor de proliferación celular.	Ki67: Presente o ausente.
Grado histológico	Esquema de graduación de scarff-bloom-richardson con base a la presencia de túbulos, grado nuclear y número de mitosis	Grado I, II, III

Tipo, escala, unidad y equipo de medición de variables.

Variable	Tipo de variable	Escala de medición	Unidad de Medición.	Equipo
Edad	Cuantitativa	Discreta	Valor numérico de edad en años desde fecha de nacimiento.	Base de datos de expediente clínico
Sexo	Cualitativa	Nominal Dicotómica	Hombre-mujer.	Base de datos de expediente clínico
Subtipo histológico de cáncer de mama.	Cualitativa	Nominal Politómica	Luminal A (RE+, RP+HER2-) Luminal B (RE+RP+/-, HER2+) HER2 (RE-, RP-, HER2+), TRIPLE NEGATIVO (RE-, RP-HER2-).	Microscopio óptico
Ki67	Cualitativa	Nominal Dicotómica	Presente-ausente.	Base de datos de expediente clínico
Grado histológico	Cualitativa	Ordinal Politómica	Grado I-II-III	Base de datos de expediente clínico.

Gutiérrez Becerra R, 2021, Determinación de receptores estrogénicos alfa y beta en cáncer de mama ductal.

15.6 Anexo 7 Logística y recursos humanos.

1. Recursos Humanos

- Investigador principal: Dra. María Alicia Díaz y Orea †.
- Director: Dr. Eduardo Gómez Conde.
- Alumno de maestría: MCP. Rafael Gutiérrez Becerra.
- Colaborador: Dr. Francisco Morales Rodríguez.
- Colaborador. Dr. Heriberto Narváez Rodríguez.

2. Recursos Materiales

- Recursos propios de la Dirección General de Estudios de Posgrado de la Facultad de Medicina de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.
- Recursos propios del Hospital Universitario Puebla y el Hospital General del Sur de Puebla para la determinación de rutina y reporte histopatológico.
- Recursos propios del departamento de inmunología experimental e Inmunobiología para la determinación inmunohistoquímica de receptores estrogénicos alfa y beta.

3. Recursos Financieros

- Recursos propios de la Dirección General de Estudios de Posgrado de la Facultad de Medicina de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.
- Recursos propios del Hospital Universitario Puebla y el Hospital General del Sur de Puebla para la determinación de rutina y reporte histopatológico.
- Recursos propios del departamento de inmunología experimental e Inmunobiología para la determinación inmunohistoquímica de receptores estrogénicos alfa y beta.

15.7 Anexo 8 Justificación

Debido al alto índice de prevalencia y mortalidad, el cáncer de mama a nivel nacional e internacional, es una de las principales enfermedades investigadas por el sector salud. Al igual que a nivel nacional, en el estado de Puebla se considera como primera causa de muerte por cáncer, siendo prioridad su detección y caracterización temprana para mejorar su pronóstico.

La determinación del receptor estrogénico alfa, beta, progesterona, factor de crecimiento epidérmico dos, Ki67 y grado de diferenciación molecular nos permitirá conocer el perfil inmunohistoquímico de los subtipos moleculares de cáncer de mama ductal en la población local, finalidad del estudio.

El cáncer de mama, es una enfermedad hormono-dependiente, se piensa que niveles elevados de estrógenos a lo largo de la vida, son un factor de riesgo importante en el desarrollo de esta enfermedad. Múltiples vías de señalización celular relacionadas a la expresión del receptor estrogénico beta puede implicarse en la resistencia a tratamiento anti-hormonal activando la proliferación celular vía estrogénica independiente del receptor alfa en los subtipos luminales, del mismo modo puede estar relacionada a la activación de efectos no genómicos en todos los subtipos histológicos que explicaría su agresividad, en especial en los subtipos HER2 y triple negativo.

El receptor estrogénico beta puede convertirse en una diana terapéutica, o un marcador pronóstico para los diversos subtipos moleculares del cáncer de mama. Identificar la expresión del receptor beta estrogénico, podría cambiar el cómo se entiende y trata esta enfermedad, mejorando el pronóstico de estas pacientes.

No existen estudios en población local que realicen la determinación del receptor estrogénico alfa y beta en biopsias de pacientes con cáncer de mama ductal. La ausencia o presencia del receptor estrogénico alfa y beta nos ayudara a entender mejor el comportamiento de esta neoplasia en nuestra población, permitiendo difundir la información dentro de los departamentos de investigación y

Gutiérrez Becerra R, 2021, Determinación de receptores estrogénicos alfa y beta en cáncer de mama ductal.

anatomía patológica en los cuales se realiza el estudio, se busca que esta primera investigación sea un parteaguas de una nueva línea de investigación que permita la publicación de artículos a nivel nacional e internacional.

15.8 Anexo 9 Carta de aceptación de impresión de tesis



Oficio No. SIEP/MCMI/117/2021

ASUNTO: ACEPTACION E IMPRESIÓN DE TESIS

DR. GUTIÉRREZ BECERRA RAFAEL
219450043
PRESENTE

La que suscribe D.C. Irma Zamora Ginez Coordinadora de la Maestría en Ciencias Médicas e Investigación, me permito informar que, he recibido la tesis titulada **"Determinación de expresión de receptores estrogénicos alfa y beta en biopsias de pacientes con cáncer de mama ductal"** y, las cartas de aceptación de impresión del Comité revisor, así como la calificación anti plagio menor a 40%, por lo que puede proceder a la impresión de su tesis y continuar con los tramites administrativos para presentar el examen de grado.

Sin otro particular por el momento, le reitero las seguridades de mi consideración distinguida.

ATENTAMENTE
"PENSAR BIEN, PARA VIVIR MEJOR"
PUEBLA, PUE. A 12 DE AGOSTO DE 2021



D.C. IRMA DEL CARMEN ZAMORA GINEZ
COORDINADORA DE LA MAESTRÍA EN
CIENCIAS MÉDICAS E INVESTIGACIÓN

C.c.p.- D.C. Eduardo Gómez Conde - Director de Tesis
c.c.p. archivo
c.c.p. minutario
DC 'ICZG*ctm

Facultad
de Medicina

13 Sur 2702, Col. Volcanes,
Puebla, Pue. C.P. 72410
01 (222) 229 55 00
Ext. 6047 y 6048