



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ

FACULTAD DE MEDICINA

HOSPITAL CENTRAL "DR. IGNACIO MORONES PRIETO"

TRABAJO DE INVESTIGACIÓN PARA OBTENER EL DIPLOMA EN LA
ESPECIALIDAD DE ANATOMÍA PATOLÓGICA

**ASOCIACIÓN ENTRE LA INMUNOEXPRESIÓN TUMORAL DE LA
METALOPROTEINASA DE MATRIZ 9 CON LA PRESENCIA DE GANGLIOS
LINFÁTICOS AXILARES POSITIVOS EN PACIENTES CON CARCINOMA DE
MAMA INVASOR A TRAVES ESTUDIO DE INMUNOHISTOQUIMICA**

DRA. PATRICIA ANCHONDO NUÑEZ

ASESOR:

M. C NADIA JUDITH GÓMEZ HERNÁNDEZ

ASESOR METODOLÓGICO

M. C JUAN FRANCISCO HERNÁNDEZ SIERRA

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ
FACULTAD DE MEDICINA
ESPECIALIDAD EN ANATOMÍA PATOLÓGICA

TÍTULO DE TESIS
ASOCIACIÓN ENTRE LA INMUNOEXPRESIÓN TUMORAL DE LA
METALOPROTEINASA DE MATRIZ 9 CON LA PRESENCIA DE GANGLIOS
LINFÁTICOS AXILARES POSITIVOS EN PACIENTES CON CARCINOMA DE
MAMA INVASOR A TRAVES ESTUDIO DE INMUNOHISTOQUIMICA

PRESENTA
DRA. PATRICIA ANCHONDO NÚÑEZ

Firmas

Asesor de tesis M.C Nadia Judith Gómez Hernández	
Co – asesor (Asesor metodológico) M.C Juan francisco Hernández Sierra	
Sinodales	
Presidente Dra. Mary Carmen Gutiérrez Gil	
Sinodal Dr. David Miguel Martínez Galla	
Sinodal y Jefe del departamento de anatomía patológica Dr. Cuauhtémoc Oros Ovalle	
M. en C. Ma. del Pilar Fonseca Leal Jefe de Investigación y Posgrado Clínico de la Facultad de Medicina	M. en C. Nadia Judith Gómez Hernández Coordinador de la Especialidad en Anatomía Patológica

RESUMEN

INTRODUCCIÓN: El carcinoma de mama es el tumor maligno más común, y la principal causa de muerte en mujeres. La mayoría de estas neoplasias se presentan durante la edad reproductiva. Uno de los factores pronósticos más importantes es la presencia de ganglios linfáticos axilares metastásicos, los cuales se encuentran presentes al momento del diagnóstico en más de 60% de los casos. Uno de los mecanismos de diseminación, consiste en la invasión de células tumorales más allá de la membrana basal. Para este paso, es necesaria la activación de enzimas, una de ellas, la Metaloproteinasa de Matriz 9 (MPM-9) la cual se encarga de destruir el colágeno IV, el principal componente de la membrana basal. **OBJETIVO:** Determinar la asociación entre la inmunexpresión tumoral de Metaloproteinasa de matriz 9 con la presencia de ganglios linfáticos axilares positivos en pacientes con carcinoma de mama invasor a través de estudio de inmunohistoquímica. **MATERIAL Y MÉTODOS:** Se analizaron casos con diagnóstico de carcinoma mamario invasor, a los cuales se les realizó estudio de inmunohistoquímica con Metaloproteinasa de Matriz 9, en un periodo de 5 años. Además, se registró edad, grado histológico y tamaño tumoral. **RESULTADOS:** se incluyeron 101 pacientes con edad promedio de 54.39 años y tamaño tumoral promedio de 32.96 mm, donde el 4.95 % fueron grado 1, 48.1% grado 2 y 46.53% grado 3; el porcentaje promedio de ganglios linfáticos axilares positivos con respecto al número de ganglios estudiados fue de 32.22%. En cuanto a la inmunexpresión tumoral de MPM-9, 60.39% fue positiva, mientras que el 39.60% fue negativa. La inmunorreacción de la MPM-9 solo se asoció la edad de la paciente ($p=0.011$) y al grado histológico alto (2 y 3) $p=0.04$ **CONCLUSIONES:** Con base a lo anterior, podemos concluir que si bien, existe un antecedente de asociación entre ganglios linfáticos positivos y la inmunexpresión de MPM-9, el cuál no incluye variables como la edad, el resto de los trabajos encontrados, al igual que el nuestro, se asocian sólo con el grado histológico y la edad. Futuros estudios deberán determinar si la asociación encontrada entre la



edad y MPM-9 positiva se mantiene y correlaciona con otras variables como el tipo de evolución.



DEDICATORIAS

A mi mamá Paty, a quien le debo todo lo que soy, por tener siempre una palabra de aliento en los momentos difíciles.

A mi hermano Beto, por su apoyo incondicional siempre.

A ambos les dedico mis logros...



AGRADECIMIENTOS

A mis compañeros de Residencia y ahora amigos y colegas: Olga, Citlalli, Jeniffer, Jacobo, Eli e Isabel, que hicieron de estos tres años una experiencia inolvidable.

A mis maestros: Dr. Cuauhtémoc Oros, Dra. Nadia Gómez, Dr. Reynaldo Falcón, Dra. Claudia Peña, Dr. David Martínez y Dra. Mary Carmen Gutiérrez, por sus enseñanzas y paciencia para lograr el objetivo de convertirme en especialista.

En especial a la Dra. Gómez y Dr. Hernández Sierra, por guiarme en la realización de este trabajo.

¡Gracias!

ÍNDICE

RESUMEN	I
DEDICATORIAS	III
AGRADECIMIENTOS	IV
ANTECEDENTES.	1
JUSTIFICACIÓN.	8
HIPÓTESIS.	9
OBJETIVOS.	10
SUJETOS Y MÉTODOS.	11
ANÁLISIS ESTADÍSTICO.	14
ÉTICA.....	15
RESULTADOS.	16
DISCUSIÓN.	25
LIMITACIONES Y/O NUEVAS PERSPECTIVAS DE INVESTIGACIÓN.	28
CONCLUSIONES.....	29
BIBLIOGRAFÍA.	30
ANEXOS	32

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Variables.....	12
Cuadro 2. Características clínicas de pacientes incluidos: grupo completo y dividido en pacientes con inmunorreacción a MPM-9 positiva y negativa.....	16
Cuadro 3. Porcentaje de ganglios positivos por grupo de estudio.....	18
Cuadro 4. Regresión logística entre la inmunoexpresión de MPM-9 y sus variables predictoras.....	21
Cuadro 5. Correlación entre el porcentaje de ganglios linfáticos axilares positivos y el grado histológico con el tamaño tumoral. Rho de Spearman.....	22

ÍNDICE DE GRÁFICAS

Gráfica 1. Grado Histológico.....	15
Gráfica 2. Inmunorreacción de MPM-9 y porcentaje de ganglios linfáticos axilares positivos.....	17
Gráfica 3. Comparación entre la inmunorreacción de MPM-9 y el grado histológico en porcentaje.....	17
Gráfica 4. Asociación entre el % de tumores con inmunorreacción positiva a MPM-9 y % de ganglios linfáticos positivos.....	19
Gráfica 5. Asociación entre la expresión de MPM-9 positivo y grado histológico...19	
Gráfica 6. Relación entre edad y la inmunorreacción de MPM-9.....	20
Gráfica 7. Correlación entre el porcentaje de ganglios linfáticos positivos promedio y tamaño tumoral.....	20
Gráfica 8. Relación del porcentaje de ganglios linfáticos positivos absolutos y grado histológico.....	22

LISTA DE ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS

IHQ: Inmunohistoquímica

MPM: Metaloproteinasa de Matriz

NOS: Carcinoma ductal invasor no especificado

NST: Carcinoma de mama invasor de Ningún tipo específico

PCR: Reacción en cadena de Polimerasa

SBR: Scarff-Bloom-Richardson

TGF- β : Factor de crecimiento β

TMMP: Inhibidores tisulares de Metaloproteinasas de Matriz

WHO: World Health Organization

ANTECEDENTES.

El carcinoma de mama es el tumor maligno más común, y la principal causa de muerte en mujeres. La mayoría de estas neoplasias se presentan durante la edad reproductiva, siendo poco frecuente a edades más tempranas.¹

Actualmente es considerado un problema de salud pública. De acuerdo con las estadísticas de GLOBOCAN 2012², casi 1,7 millones de mujeres fueron diagnosticadas con carcinoma de mama, con 522.000 muertes relacionadas, y un aumento en su incidencia y mortalidad relacionada, en casi un 18% desde el 2008. Se estima que la incidencia se duplicará para el 2050, alcanzando hasta 3.2 millones de nuevos casos de carcinoma mamario a nivel mundial.²

El carcinoma mamario es una enfermedad heterogénea, en la que participan diversos factores de riesgo, de pronóstico y de respuesta a terapia. Entre ellos, el común denominador es la estimulación prolongada de estrógenos, asociada a menarca precoz, nuliparidad, edad tardía del primer parto, menopausia tardía y la estimulación con estrógenos exógenos; otros más son: historia familiar de primer grado, asociación entre enfermedad fibroquística e hiperplasia endometrial y radiación ionizante, entre los más importantes.¹ Aproximadamente el 5-10% de todos los carcinomas de mama son de origen familiar. Actualmente se sabe que la mutación de dos genes, BRCA1 y BRCA2, se asocian con un alto riesgo de desarrollar el carcinoma, aunque solo el 16% de los casos son responsables de ellos.¹

La World Health Organization (WHO), en la clasificación de los tumores de mama de su cuarta edición, del año 2012³ divide histológicamente al carcinoma de mama en dos maneras; la primera, como carcinoma de mama infiltrante de ningún tipo específico (NST), y la segunda, con sus subtipos histológicos especializados, en donde los más comunes comprenden: carcinoma lobulillar, tubular, cribiforme, metaplásico, apócrino, mucinoso, papilar y micropapilar, con características medulares, neuroendocrino y de tipo salival (adenoideo quístico).³ Dentro de los subtipos especializados, los carcinomas cribiforme, tubular, metaplásico, adenoideo quístico y mucinoso puro se consideran de bajo grado. Mientras que el

lobulillar pleomórfico y sólido, y el carcinoma con características medulares se consideran de alto grado. En el grado intermedio se localiza el resto de los carcinomas.³ Es importante tener esto a consideración a la hora de evaluar el grado histológico, ya que esto influye de manera directa en el pronóstico de la paciente, es decir, un carcinoma de alto grado, tendrá mayores posibilidades de tener un comportamiento agresivo, y una predisposición a la diseminación y metástasis, en comparación con los carcinomas de bajo grado, aunque no es la regla.³

FACTORES PRONÓSTICOS

Dentro de los factores pronósticos más importantes se encuentran:

- Edad de la paciente, las mujeres menores de 50 años en el momento del diagnóstico tienen mejor pronóstico.¹
- Presencia o ausencia de invasión, cuando el tumor rompe la membrana basal, provocando su diseminación; la proporción de invasión va relacionado con la presencia de metástasis ganglionares.¹
- Tamaño tumoral, el diámetro del tumor primario muestra una buena correlación con la incidencia de metástasis ganglionares y la tasa de supervivencia.¹
- Tipo y grado histológico.¹

GANGLIOS LINFÁTICOS AXILARES Y METÁSTASIS

El carcinoma de mama se disemina por invasión directa, por la vía linfática y hematogena.¹ La presencia de ganglios linfáticos axilares positivos están presentes en el 40 a 60% al momento de la resección tumoral. Para la evaluación adecuada de la disección axilar, es importante tener como mínimo un total de 10 ganglios linfáticos axilares para considerarla una evaluación representativa de toda la disección axilar⁵. Este es uno de los parámetros pronósticos más importantes, ya que hay una marcada diferencia en las tasas de supervivencia entre los pacientes con ganglios linfáticos positivos y negativos, esperando una mayor sobrevida en los pacientes que no se encontraron ganglios linfáticos positivos.¹

CARCINOGENESIS Y METÁSTASIS

La carcinogénesis surge de alteraciones genéticas y epigenéticas que interfieren en el equilibrio entre crecimiento y muerte celular.⁶ Es un proceso de múltiples etapas que requieren la alteración del microambiente para la conversión del tejido normal a tumor.⁷ Las alteraciones moleculares de estas células neoplásicas juegan un rol en la evolución de las características malignas, incluyendo la inmortalidad, invasión, metástasis y resistencia terapéutica.⁶ EL primer paso crucial para la metástasis, es la invasión de células tumorales más allá de la membrana basal de los tejidos, la cual está constituida principalmente por colágeno tipo IV.^{6,8,9}

Recientes estudios han demostrado que las Metaloproteinasas, en especial la MPM-9 juega un papel importante en la invasión y metástasis, degradando el colágeno IV de la membrana basal, favoreciendo su diseminación.⁹

EL PAPEL DE LAS METALOPROTEINASAS

Las Metaloproteinasas (MPM) son una familia de endopeptidasas dependientes de zinc, que se encuentran en la matriz extracelular de diversos tejidos, de manera inactiva (como zimógenos). Están involucradas en la degradación de la matriz extracelular. Hasta la fecha se conocen un total de 26 MPM¹⁰; han sido localizadas en el cromosoma 11q23, una región que muestra su amplificación en varios tumores sólidos.⁷ Están constituidas por un péptido de 80 aminoácidos, un dominio catalítico de 170 aminoácidos, un péptido enlazador y una hemopexina con 200 aminoácidos. Las propiedades comunes de las Metaloproteinasas incluyen, como requisito, la presencia de Zinc en su sitio catalítico para iniciar su actividad. Se clasifican en seis grupos: colagenasas, gelatinasas, estromelinas, matrilisinas, tipo membrana, otras⁷ (ver anexo 1).

Las MPM se producen tanto por las células tumorales, como por las células estromales del microambiente tumoral, en respuesta a las interacciones estimuladoras parácrinas recíprocas.¹³ También actúan directamente en las células tumorales, con los factores que promueven la proliferación y disminución de la apoptosis. Uno de los reguladores más estudiados es el factor de crecimiento epidérmico β (TGF/ β), que puede inhibir la progresión del ciclo celular,

provocando la proliferación de células neoplásicas, así como también inhibir la apoptosis. Normalmente, la mayor parte de TGF/ β se produce como un complejo inactivo; su activación por medio de MPM's es un mecanismo importante para la liberación de citoquinas, las cuales activan TGF/ β a través de la liberación de ligandos asociados a la membrana celular, tales como la anfiregulina.¹²

La Metaloproteinasa de matriz 9 (MPM-9) Es una peptidasa que pertenece a la subfamilia de las gelatinasas de MPM's. Se excreta como una proenzima inactiva que se somete a la activación tras la escisión por diferentes tipos de proteasas extracelulares. La actividad de la MPM-9, se cree que está regulado por diferentes estimuladores bioquímicos tales como factores de crecimiento y citoquinas cuya expresión modula las vías de señalización intracelular. Tiene la capacidad de degradar colágeno desnaturalizado que ha sido escindido primero por diversas colágenas tipo MPM1, 8 y 13. Además, como se mencionó antes, MPM9 degrada el colágeno de tipo IV, que es el componente principal de la membrana basal. Ejerce diferentes funciones en el proceso de difusión, tales como la invasión tumoral, la angiogénesis inducida, y la inmunomodulación del microambiente del tumor. Es instrumento en la creación de los llamados nichos premetastásicos que fomentan la colonización de órganos distantes.¹¹

Un subconjunto de las MPM se han encontrado incrementadas en los carcinomas de mama, asociados a un peor pronóstico.¹² A nivel de la transcripción, los análisis de grandes conjuntos de datos de microarreglos, han identificado a MPM-1, -9, -12, -14 Y -15, como marcadores de un resultado adverso en un conjunto de datos compuestos por tumores primarios de mama de 295 pacientes, donde MPM -9, -11 y -15 han sido asociados con una menor sobrevivida.¹² En otros estudios, se ha encontrado que la expresión génica de varios MPM's de varias pacientes se han incorporado en las pruebas de pronóstico clínico, y de todos, el MPM-9 es uno de los 70 genes identificados con peor pronóstico.¹² Una limitación de los estudios que se centran en la expresión de genes, es que la presencia de la transcripción puede no reflejar completamente los niveles de la proteína responsable de la actividad biológica.¹² La expresión tumoral de las Metaloproteinasas por técnica de

inmunohistoquímica (IHQ) da una lectura más directa de los niveles de proteína, aunque este enfoque puede detectar zimógenos latentes o complejos de enzimas inhibidas, además de MPM's activas, dependiendo de los anticuerpos empleados.¹² Una ventaja adicional de la IHQ es que puede dar información adicional para distinguir entre las MPM expresadas en el estroma, frente a las células tumorales.¹²

En otro estudio con inmunotinción de MPM -1, -2, -7, -9, -13 y -14, junto con inhibidores tisulares de MMP's (TMPMs), se cuantificó en 131 carcinomas de mama invasores, que se asociaron a 5 años de riesgo de recaída.¹⁵ Entre las MPM's examinadas, se encontró que MPM-9 y -11 se asociaron significativamente con el periodo de supervivencia y recaída más corta.¹⁵ Además, la tinción con MPM-9 en las células tumorales, fibroblastos estromales y en las células inflamatorias mononucleares fueron de manera independiente un marcador de pronóstico de supervivencia y recaída más cortos.¹²

En un estudio realizado con inmunotinción de MPM-2 y -9, se encontró que en ambos, el pronóstico de tiempo de supervivencia libre de enfermedad es más corto.¹² En particular, se encontró que la expresión de MPM-9 alta, está asociada significativamente con la progresión de metástasis a distancia, así como también a una supervivencia libre de enfermedad más corta.¹² De acuerdo con estudios anteriores que implica a MMP9 en la angiogénesis y vasculogénesis, encontraron que fue un factor contribuyente importante en la vascularización de los tumores.¹³

Un metaanálisis realizado por Ren F. y Cols, demostró que las familias de MPM pueden ser biomarcadores de peor pronóstico en pacientes con carcinoma de mama, incluyendo no solo MPM-2 y -9, sino también la MMP-1, -11, -13 y -14. Este estudio ha evaluado la asociación entre la expresión de MPM y el tiempo de supervivencia de los pacientes con carcinoma de mama mediante el uso de análisis univariante y multivariante. MPM-9 parece actuar como predictor de peor pronóstico en el carcinoma de mama.¹⁰

En un estudio realizado por Benson et al, compraron distintas Metaloproteinasas por reacción en cadena de Polimerasa (PCR) en un periodo de 2 años, donde

tomaron como variables la edad de la paciente, grado histológico, tamaño tumoral, presencia de ganglio linfáticos con neoplasia y la invasión vascular. En cuanto a la MMP-9, se concluyó que esta tuvo un incremento en los carcinomas grado II y grado III. Con esto, los datos obtenidos concuerdan que la expresión MPM-9 esta aumentada en los tejidos con tumor.¹⁴

Otro estudio realizado por Wu Q. y colaboradores, evaluaron la expresión de MPM-9 mediante reacción en cadena de polimerasa (PCR), e inmunohistoquímica (IHQ) en 41 muestras con carcinoma de mama que incluyeran tejido mamario benigno, así como también ganglios linfáticos axilares con sospecha de metástasis. En cuanto al estudio de IHQ, Se tomó en consideración la intensidad de tinción de MPM-9 en el citoplasma y el número de células teñidas. La inmunotinción se evaluó, por medio de dos patólogos, en una escala de 0-3. Se asignó una puntuación de 0 (-) para no tinción o tinción débil en <10% de células positivas; 1 (+) para tinción débil a moderada en el 11-20% de las células; 2 (++) para tinción moderada a fuerte en 21-50%; 3 (+++) para tinción fuerte en > 50% de las células. Sin embargo, las muestras se consideraron MPM-9 positivas cuando \geq 10% de las células eran inmunorreactivas. Como conclusión, se identificó una mayor expresión de MPM-9 en el tejido de carcinoma de mama que en el epitelio benigno. La expresión de MPM-9 en el epitelio y los ganglios linfáticos se asoció con metástasis de ganglios linfáticos. Por lo tanto, MPM-9 es un potencial marcador clínico para la progresión del cáncer de mama y metástasis.¹⁵

La relación de la sobreproducción de Metaloproteinasas y la progresión del tumor han impulsado el desarrollo de diversas estrategias dirigidas a bloquear la actividad proteolítica mediante la comprensión de los pasos implicados en la regulación de este sistema proteolítico.⁷

Tomando en consideración las importantes funciones que las Metaloproteinasas desempeñan en el proceso de la carcinogénesis, varios agentes sintéticos son desarrollados en un intento de controlar la actividad de las Metaloproteinasas. Muchas generaciones de Metaloproteinasas han sido probadas en la fase III de



ensayos clínicos en seres humanos, incluyendo péptidos sintéticos, moléculas no peptídicas, bifosfonatos y tetraciclinas químicamente modificadas.⁷

JUSTIFICACIÓN.

El presente estudio tiene como finalidad valorar la asociación entre la expresión de Metaloproteinasa de Matriz-9 tumoral con la presencia de ganglios linfáticos axilares positivos en pacientes con carcinoma de mama invasor a través de estudio de inmunohistoquímica, con la finalidad de poder relacionarlo como un posible predictor de mal pronóstico, contribuyendo a la decisión de realizar disección axilar, en pacientes donde tanto el grado histológico como el tamaño tumoral contraindiquen el procedimiento, pero la expresión tumoral de MPM-9 sugiera un mayor riesgo de presentar ganglios linfáticos axilares positivos.

En un estudio realizado por Wu Q. y colaboradores, evaluaron la expresión de MPM-9 por PCR e IHQ en 41 muestras de carcinoma de mama y demostró que es un potencial marcador clínico para la progresión del carcinoma de mama y la presencia de metástasis.¹⁵ Otro estudio realizado por Benson et al, compraron distintas Metaloproteinasas por PCR, donde tomaron como variables la edad de la paciente, grado histológico, tamaño tumoral, presencia de ganglio linfáticos con neoplasia y la invasión vascular. En cuanto a la MPM-9, se concluyó que esta tuvo un incremento en los carcinomas grado II y grado III. Con esto, los datos obtenidos concuerdan que la expresión MPM-9 esta aumentada en los tejidos con tumor.¹⁴

Existen líneas de investigación en relación a esta Metaloproteinasa y el carcinoma de mama invasor, pero en México no se ha publicado nada al respecto, por lo que es importante conocer el comportamiento biológico y el rol que juega esta enzima en el carcinoma de mama invasor en pacientes mexicanas y contemplarlo como otro criterio de mal pronóstico para la presencia de ganglios linfáticos axilares positivos, ya que como es bien sabido, el comportamiento biológico de los tumores varia de un tipo de población a otra, esperando ver distintas eventualidades.



HIPÓTESIS.

La inmunoexpresión de la Metaloproteinasa de Matriz 9 tumoral se asocia con la presencia de ganglios linfáticos axilares positivos.



OBJETIVOS.

Objetivo general: Determinar la asociación entre la expresión tumoral de Metaloproteinasa de Matriz con la presencia de ganglios linfáticos en pacientes con carcinoma de mama invasor a través de estudio de inmunohistoquímica.

Objetivos específicos: Determinar la inmunoexpresión tumoral de la Metaloproteinasa de Matriz 9 con el número de ganglios linfáticos axilares positivos en pacientes con carcinoma de mama invasor.

Objetivos secundarios: Determinar la inmunoexpresión tumoral de la Metaloproteinasa de Matriz 9 con el grado histológico en paciente con carcinoma e mama invasor.

SUJETOS Y MÉTODOS.

Se seleccionó a través de los diarios disponibles, los números de quirúrgicos que contaran con diagnóstico histopatológico de carcinoma de mama invasor, con los criterios de selección seleccionados (Mujeres mayores de 18 años, diagnóstico histopatológico de carcinoma de mama invasor, grado histológico, tamaño tumoral, disección linfática axilar con 10 o más ganglios linfáticos y disponibilidad de bloques de parafina en el archivo). Se obtuvo del archivo las laminillas y de ellas se seleccionó el bloque de parafina para realizar los cortes, se hizo un corte de 5µ por cada caso y se colocaron en laminillas sialinizadas debidamente identificadas, en total 106, y de los cuales, cinco se descartaron debido a que el material se cayó de la laminilla, por lo que se obtuvieron 101 laminillas para realizar el estudio de IHQ. Los cortes se sumergieron en peróxido de hidrógeno al 3% durante 15 minutos. Se incubaron con el anticuerpo primario MMP9-EP127: rabbit Monoclonal (Ver anexo 5). La inmunorreacción se valoró en el citoplasma y/o membrana de las células neoplásicas, considerando como positivo cuando más del 10% de las células neoplásicas presentaran inmunorreacción de moderada a intensa. Dicha inmunorreacción fue valorada por dos anatomopatólogos titulados, de manera independiente.

DISEÑO DEL ESTUDIO:

Transversal, analítico, prolectivo.

LUGAR DE REALIZACIÓN: Departamento de Anatomía Patológica del Hospital Central Dr. Ignacio Morones Prieto, en San Luis Potosí, San Luis Potosí.

CRITERIOS DE SELECCIÓN:

- Inclusión:
 - Mujeres mayores de 18 años
 - Diagnóstico histopatológico de carcinoma de mama invasor
 - Disección linfática axilar \geq 10 ganglios linfáticos
 - Disponibilidad de bloques de parafina en el archivo.



- Exclusión:
 - Tratamiento neoadyuvante previo a la cirugía
 - Disección linfática axilar ≤ 9 ganglios linfáticos.

VARIABLES EN EL ESTUDIO

- Variables Dependientes: Ganglios linfáticos axilares.
- Variable Independiente: Inmunoexpresión de MMP-9.
- Variables de confusión/sociodemográficas: grado histológico, tamaño tumoral y edad del paciente.

CUADRO 1. VARIABLES

Dependientes				
Variable	Definición operacional	Valores posibles	Unidades	Tipo de variable
Ganglios linfáticos axilares	Ganglios linfáticos con o sin evidencia de células tumorales	0-1	0=negativo 1=positivo	categórica
% ganglios positivos	Numero de ganglios positivos entre el total de los analizados por 100	0-100	%	Nominal continua
Independiente				
Variable	Definición operacional	Valores posibles	Unidades	Tipo de variable
Inmunoexpresión de MMP-9	Presencia de inmunorreacción citoplasmática para MMP9	0 = negativo 1 = positivo		Categórica
Variables de confusión / sociodemográficas				
Variable	Definición Operacional	Valores posibles	unidades	Tipo de variable
Tamaño tumoral	Diámetro mayor según reporte histopatológico	>0	milímetros	Continua
Grado Histológico	De acuerdo a tres parámetros: atipia nuclear, formación de túbulos y numero de mitosis	1 = Bajo grado 2 = Grado intermedio 3 = Alto grado	Grados	ordinal
Edad	Años cumplidos por el paciente	>18 años	años	continua

ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

CÁLCULO DEL TAMAÑO DE LA MUESTRA:

Regresión logística. El cálculo del tamaño de la muestra se realizó con base en el análisis estadístico propuesto (regresión logística con cuatro grados de libertad). La probabilidad del evento según estudios previos es de 0.6.²

Por lo que:

Tamaño de la muestra = número de factores x 10 (regresión logística) ÷ probabilidad del evento.

Dónde:

Numero de factores = 4

Probabilidad del evento = (1 – 0.6) en este caso se tomará como 0.4

$$SS = (4 \times 10) \div 0.4$$

$$SS = 100$$

Tamaño de la muestra = 100

Se calcularon medidas de tendencia y dispersión para cada una de las variables según escala y distribución para determinar si existe asociación.

Se realizó una regresión logística múltiple según el siguiente modelo:





ÉTICA.

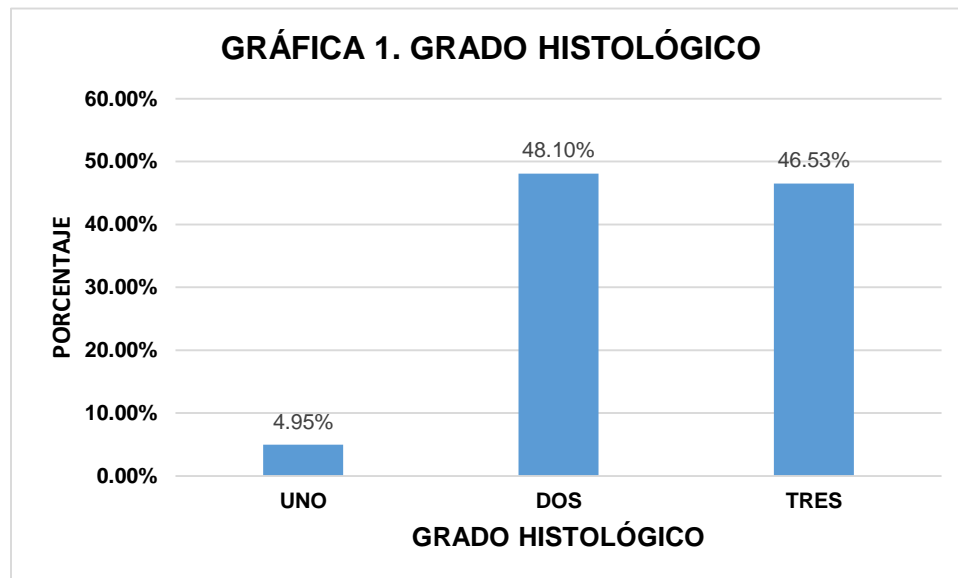
Investigación sin riesgo. En el presente estudio, no fue necesario hacer partícipe a los pacientes de manera directa, ya que estuvo basado en los informes histopatológicos y los bloques de parafina disponibles en el archivo. La manera de identificación de cada caso, fue sólo con el número de quirúrgico asignado, y los datos de cada uno de ellos se manejaron con estricta confidencialidad. Por lo tanto, no fue necesario obtener el consentimiento informado. Posterior a revisar la declaración de Helsinki, la ley general de salud y la Norma Oficial Mexicana del expediente clínico, se concluyó que no existe riesgo alguno para los pacientes. Cuenta con autorización del comité de ética e investigación No. 73-17 y registro: CONBIOETICA-24-CEI-001-20160427 (ver anexos 6 y 7).

RESULTADOS.

Características de la población de estudio

En un periodo de 5 años (enero de 2012 a diciembre de 2016), se recolectaron en el Hospital Central Dr. Ignacio Morones Prieto un total de 101 casos con diagnóstico histopatológico de carcinoma de mama invasor, todos correspondientes al sexo femenino, en un rango de edad de 35 a 84 años, con una media de 54.39 años (DE=1.19 años). El tamaño tumoral fue medido en milímetros, con una media de 32.96 mm (DE=1.94mm). Se observó la presencia de metástasis a ganglios linfáticos axilares en 74 casos (73.26%). Respecto al grado histológico, el 4.95% fueron grado 1, 48.1% grado 2 y 46.53% grado 3 (ver gráfica 1).

El porcentaje promedio de los ganglios linfáticos positivos con respecto a al número de ganglios estudiados fue de 32.22% por paciente para el grupo de MPM-9 positivo (DE 5.1), y de 26.83% para el grupo de MPM-9 negativo.



En el cuadro 2 se presenta el análisis bivariado por grupo de estudio. Observamos que en todas las comparaciones no existe diferencia estadísticamente significativa entre los pacientes con MPM-9 positiva y MPM-9 negativa.

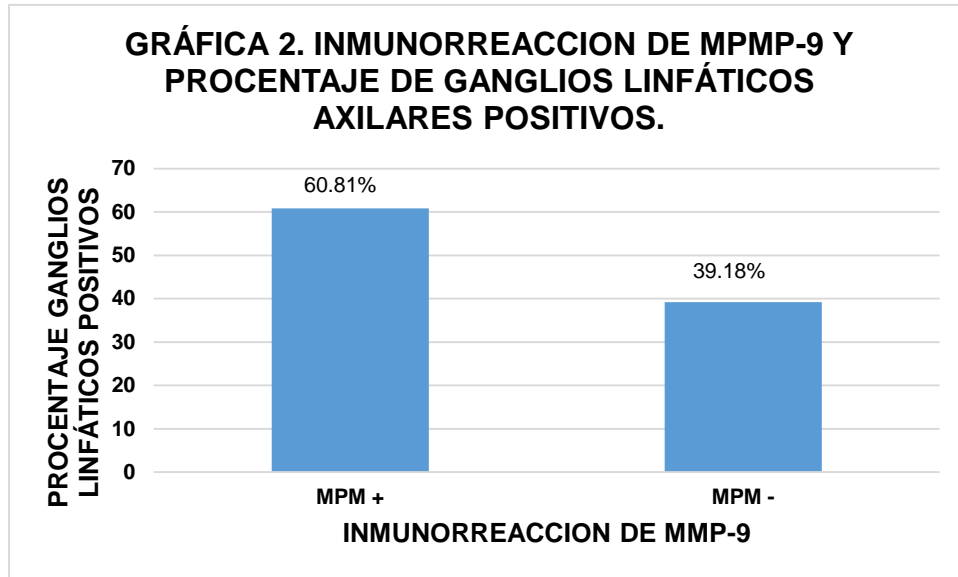
CUADRO 2. CARACTERISTICAS CLINICAS DE PACIENTES INCLUIDOS: GRUPO COMPLETO, Y DIVIDIDO EN PACIENTE CON INMUNORREACCIÓN DE MPM-9 POSITIVA Y NEGATIVA

VARIABLES	GRUPO COMPLETO N(%)	INMUNORREACCION POSITIVA A MPM-9 N(%)	INMUNORREACCION NEGATIVA A MPM-9 N(%)	p
NÚMERO DE PACIENTES	101	61 (60.39)	40 (39.60)	-
EDAD	54.4 años	55.68 años (DE11.16 años)	52.34 años (DE=10.9 años)	0.9
TAMAÑO TUMORAL	32.6 mm	33.2 mm (DE 19.3 mm)	31.94 mm (DE=17.9 mm)	0.66
GANGLIOS LINFÁTICOS AXILARES POSITIVOS	74/101 (73.26%)	45/61 (60.81)	29/40 (39.18)	0.8 *
GRADO H 1	5 (4.95%)	2 (40%)	3 (60%)	0.56*
GRADO H 2	49 (48.51%)	37 (75.51%)	19 (38.77%)	
GRADO H 3	47 (46.53%)	29 (61.70%)	18 (38.29%)	

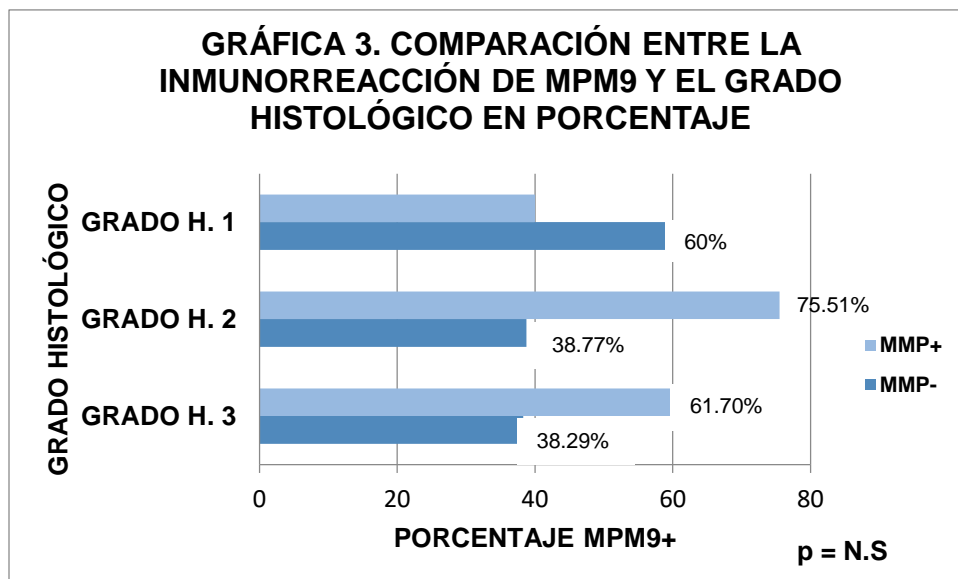
*Chi cuadrada

Inmunorreacción a MPM-9 comparado con ganglios linfáticos axilares positivos, grado histológico y tamaño tumoral

De los casos con ganglios linfáticos axilares positivos, el 60.81% presentaron inmunorreacción positiva a MPM-9, similar al 39.18% de los que tuvieron ganglios axilares negativos. $p = N.S.$



En relación al grado histológico y la inmunorreacción positiva, el 40 % fueron grado I, 75.51% grado II y 61.70% grado III, $p = N.S.$ Ver gráfica 3.



El porcentaje de ganglios linfáticos encontrados en los pacientes con MPM-9 positivo fue de 32 %, en contraste con un 26.8 % de los pacientes con MPM-9 negativa p=N.S.

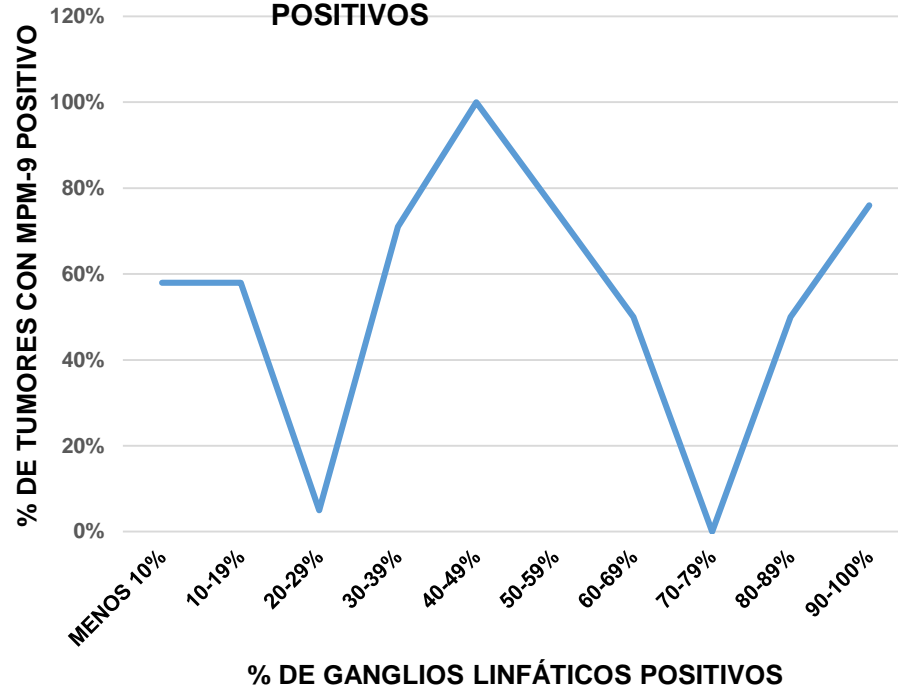
CUADRO 3. PORCENTAJE DE GANGLIOS POSITIVOS POR GRUPO DE ESTUDIO.

Grupo (inmunorreacción MPM-9)	Media	Error estándar	Desviación estándar	[95% IC]
Negativo (n=40)	26.83675	5.078702	32.12053	16.5641 37.1094
Positivo (n=61)	32.22689	4.571536	35.70484	23.0824 41.3713
Combinado (n=101)	30.09218	3.409791	34.26798	23.3272 36.8571

p=N.S

En la gráfica 4 se presenta la positividad a la MPM-9 cuando se estratifica el porcentaje de ganglios linfáticos axilares positivos. Como se puede ver, no existe una asociación aparente ya que, al aumentar el porcentaje de los ganglios positivos, no incrementa proporcionalmente la probabilidad de tener MPM-9 positivo.

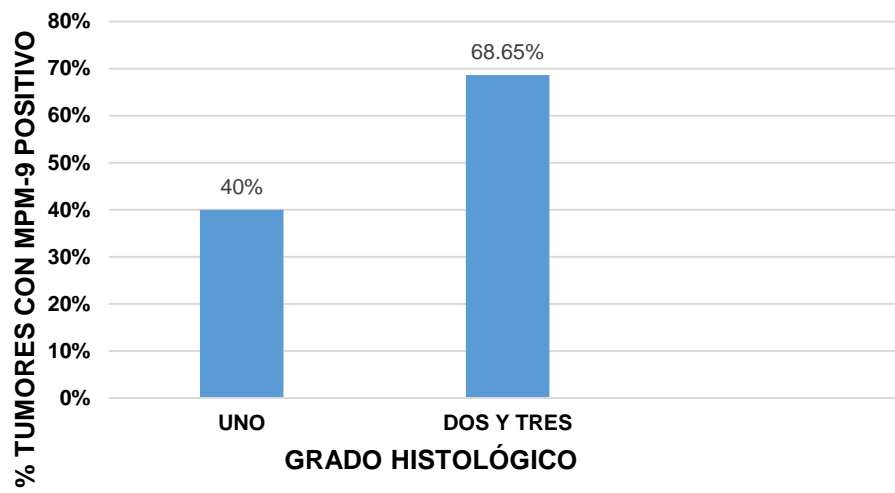
GRÁFICA 4. ASOCIACIÓN ENTRE PORCENTAJE DE TUMORES CON INMUNORREACCIÓN POSITIVA A MPM-9 Y PORCENTAJE DE GANGLIOS LINFÁTICOS POSITIVOS



p < 0.63

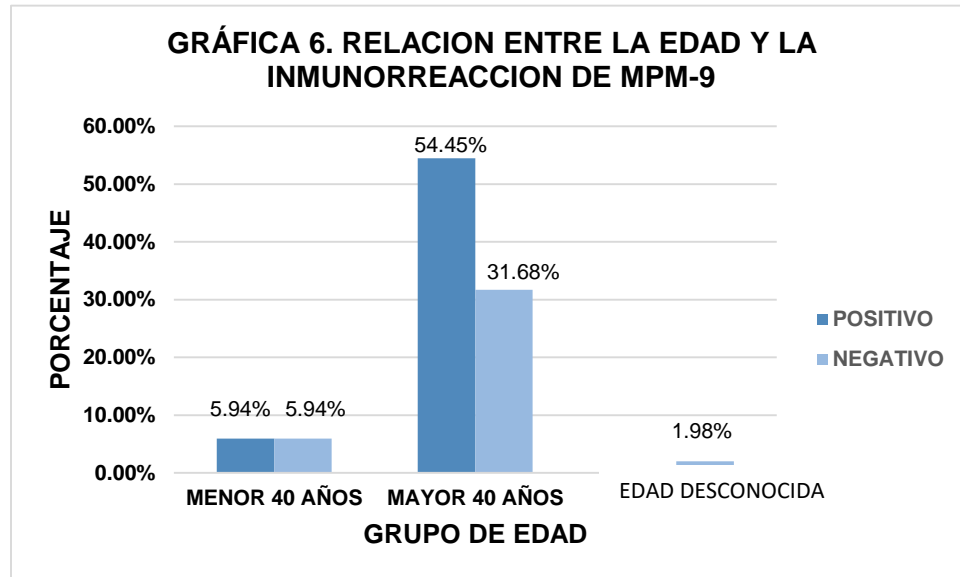
En la siguiente gráfica observamos asociación significativa entre los tumores con grado histológico alto (2 y 3) y la probabilidad de MPM-9 positiva, p=0.04.

GRÁFICA 5. ASOCIACION ENTRE EXPRESION DE MPM-9 POSITIVO Y GRADO HISTOLÓGICO

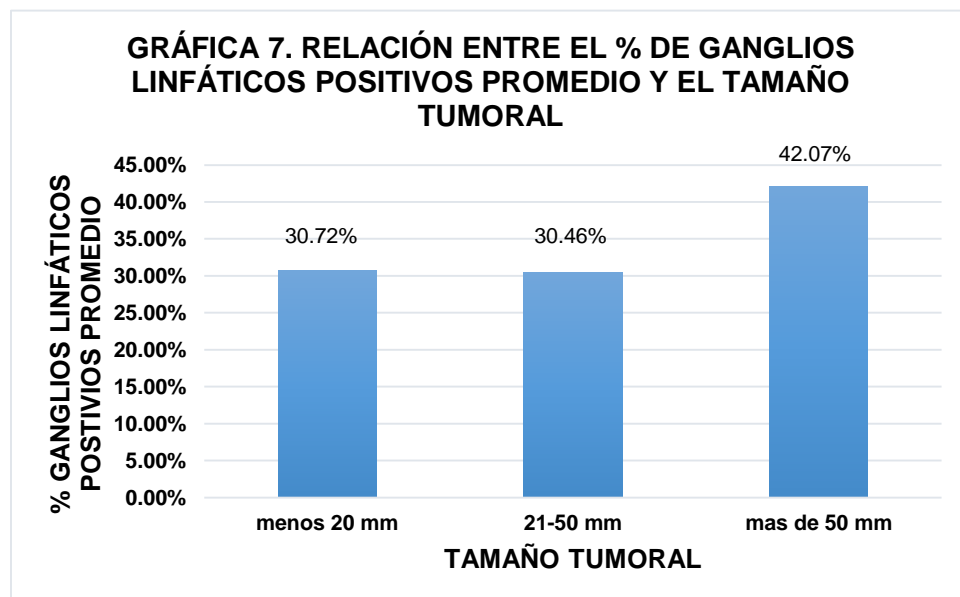


P < 0.04

En la gráfica 6, se observa la relación entre la edad y la inmunorreacción de MPM-9, la cual fue estadísticamente significativa ($p < 0.01$).



Por último, se observó una tendencia a que entre mayor es el tamaño tumoral mayor es el porcentaje de ganglios linfáticos positivos, sin embargo, ésta no fue significativa.



=0.20 ($p=0.06$)

Asociación de MPM-9 con ganglios linfáticos, tamaño tumoral y grado histológico.

Se realizó un análisis de regresión logística para evaluar la presencia de asociación entre la presencia de ganglios linfáticos axilares metastásicos como variable dependiente y como variables independientes la edad, tamaño tumoral, inmunorreacción de MPM-9 y el grado histológico. (Ver cuadro 4.).

CUADRO 4. REGRESION LOGISTICA ENTRE LA INMUNORREACCION DE MMP9 Y SUS VARIABLES PREDICTORAS

	COEFICIENTE	ERROR ESTÁNDAR	t	p	[95% IC]	
EDAD	-0.8217157	.3178695	-2.59	0.011	-1.453619	-0.189812
TAMAÑO TUMORAL	.1868441	.1939458	0.96	0.338	-.1988075	.5723956
MPM-9	8.708953	7.296837	1.19	0.236	-5.796678	23.21458
GRADO HISTOLÓGICO (1 VS 2 y 3)	-9.474108	6.29961	2.2	0.04	-4.32	-0.23
CONSTANTE	89.33591	24.88061	3.59	0.001	39.8749	138.7969

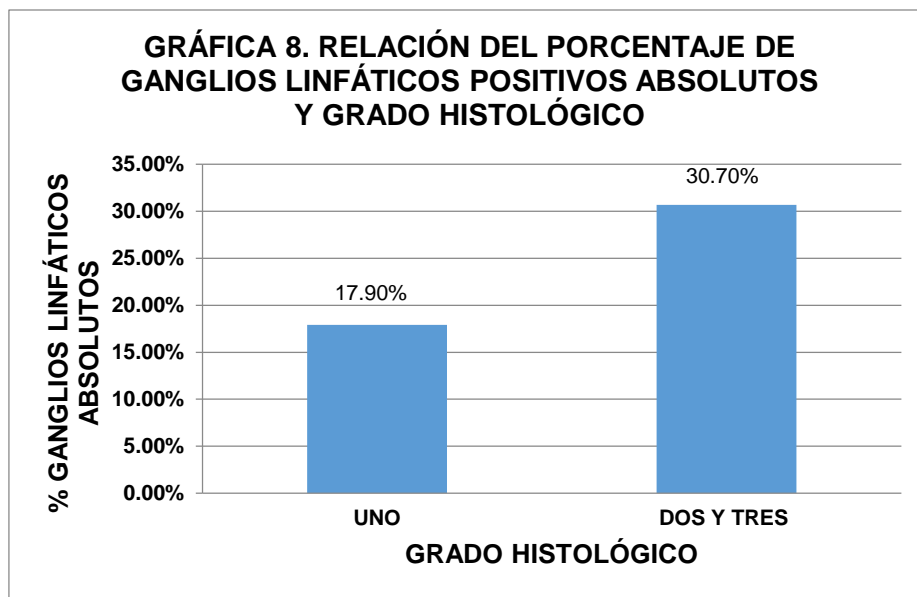
Como se presenta en el cuadro 4 se encontró la inmunorreacción entre MPM-9 en asociación con significancia estadística únicamente con la edad y el grado histológico ($p=0.011$), ($R^2=0.09$, del modelo).

Además, se determinó la correlación entre el porcentaje de ganglios linfáticos axilares positivos y el grado histológico con el tamaño tumoral por Rho de Spearman (CUADRO 5.), sin encontrarse relación lineal estadísticamente

significativa entre el tamaño tumoral y el porcentaje de ganglios positivos y grado histológico con $r_s = 0.0708$.

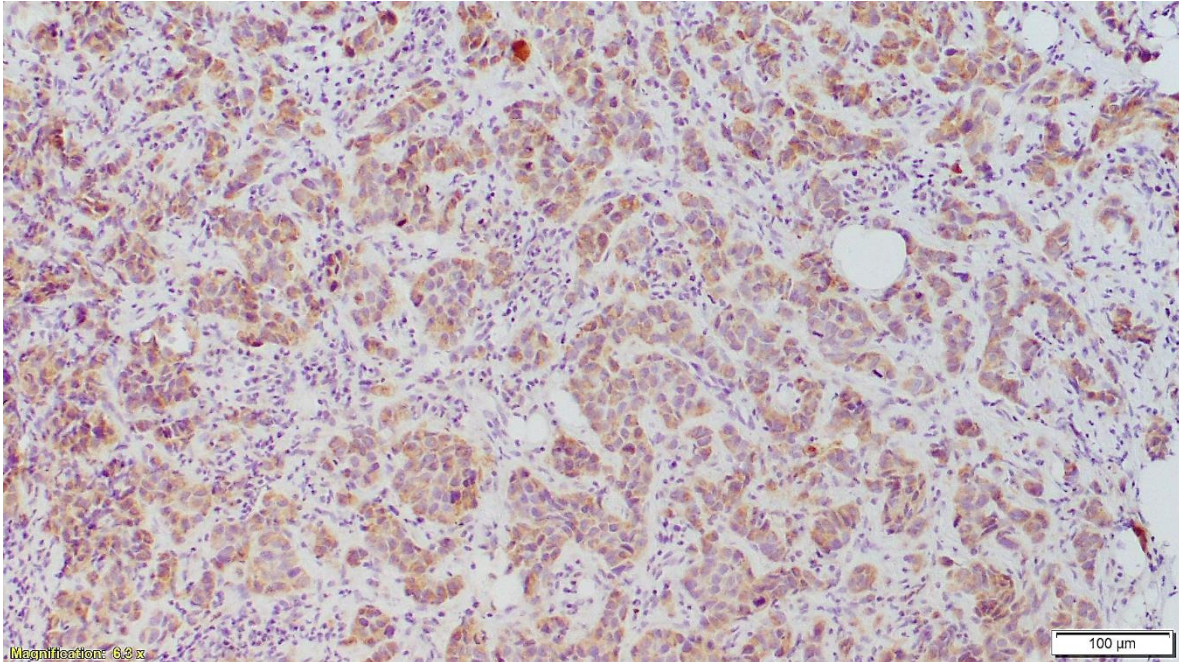
CUADRO 5. CORRELACIÓN ENTRE EL PORCENTAJE DE GANGLIOS LINFÁTICOS AXILARES POSITIVOS Y EL GRADO HISTOLÓGICO CON EL TAMAÑO TUMORAL. RHO DE SPEARMAN.

VARIABLES	R_t	p
Porcentaje ganglios y tamaño tumoral	0.0708	0.5002
Grado y tamaño tumoral	0.2009	0.0535



$p < 0.05$

En la gráfica 8 observamos la relación entre el porcentaje de ganglios linfáticos positivos absolutos y el grado histológico, en donde encontramos significancia estadística entre los tumores con alto grado histológico con el mayor porcentaje de ganglios linfáticos positivos ($p < 0.05$).



A)

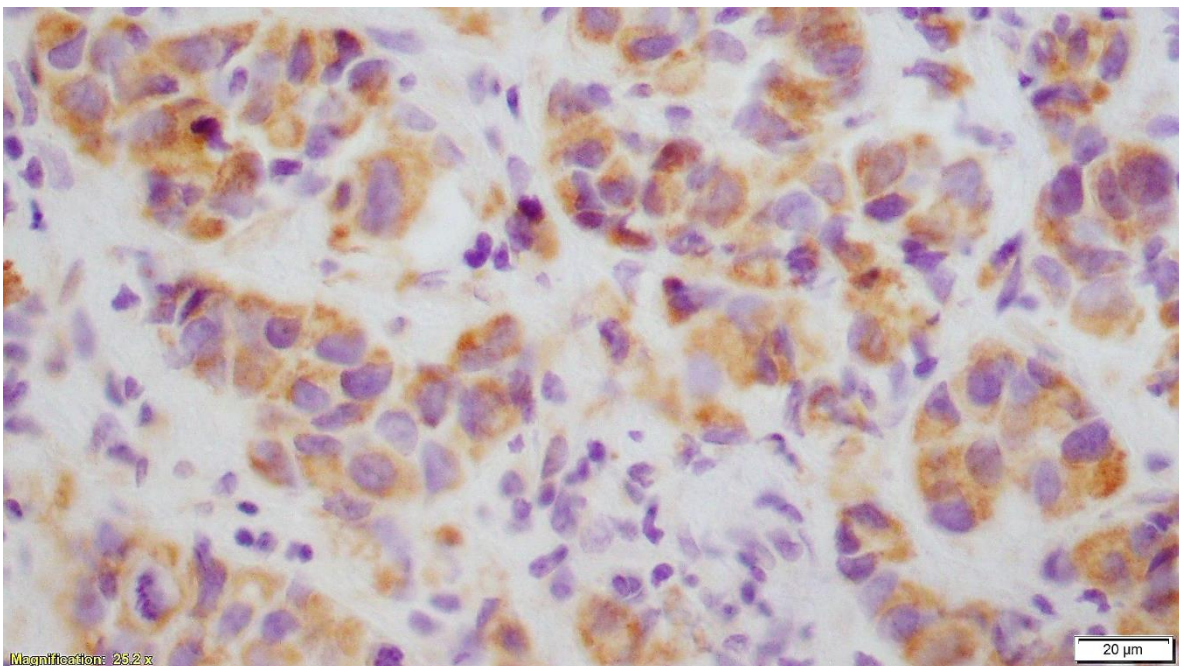


FIGURA 1. CORTE HISTOLÓGICO DE CARCINOMA DUCTAL INFILTRANTE CON INMUNORREACCION CITOPASMÁTICA DE MPM-9. A) 20X, B) AMPLIFICACION A 40X.

DISCUSIÓN.

El carcinoma de mama es el tumor maligno más común, y la principal causa de muerte en mujeres.¹ Se trata de una enfermedad heterogénea, en la que participan diversos factores de riesgo, de pronóstico y de respuesta a terapia.¹ Dentro de los factores pronósticos más importantes, es la presencia de ganglios linfáticos axilares metastásicos.¹ Uno de los mecanismos de diseminación, consiste en la invasión de células tumorales más allá de la membrana basal.^{6,8,9} Para este paso, es necesaria la activación de enzimas, una de ellas, la Metaloproteinasa de Matriz 9 (MPM-9) la cual se encarga de destruir el colágeno IV, el principal componente de la membrana basal.^{6,8,9}

La MPM-9 es una peptidasa que pertenece a la subfamilia de las gelatinasas. Se excreta como una proenzima inactiva que se somete a la activación tras la escisión por diferentes tipos de proteasas extracelulares.¹⁰ Su actividad se cree que está regulada por diferentes estimuladores bioquímicos. Ejerce diferentes funciones en el proceso de difusión, tales como la invasión tumoral, la angiogénesis inducida, y la inmunomodulación del microambiente del tumor. Es instrumento en la creación de los llamados nichos premetastásicos que fomentan la colonización de órganos distantes.¹¹

En el presente estudio, evaluamos la asociación entre la inmunorreacción tumoral de la Metaloproteinasa 9 y el porcentaje de ganglios linfáticos axilares positivos, el grado histológico, tamaño tumoral y edad de las pacientes al momento de la resección quirúrgica, sin encontrar diferencia estadísticamente significativa. La inmunorreacción de la MPM-9 solo se asoció la edad de la paciente ($p=0.011$) y al grado histológico alto (2 y 3) $p=0.04$.

Sin embargo, en otros estudios como el de H-C Li et al. en el que analizaron a pacientes con carcinoma de mama, la asociación entre MPM-9 y ganglios linfáticos axilares con tamaño tumoral, grado y tipo histológico, entre otros, sólo encontraron asociación entre MPM-9 positivo y el grado histológico ($p < 0.001$) y a un mayor tamaño tumoral ($p < 0.012$). En contraste con nuestro estudio, si bien se observó a la misma tendencia, no fue estadísticamente significativa: grado histológico ($p < 0.136$) y tamaño tumoral ($p < 0.338$). Sin embargo, a diferencia de

su estudio, en el nuestro, se tomó en cuenta también la edad de la paciente, la cual, como se mencionó, se encontró asociada.¹⁶

Danielle et al, evaluaron la expresión de MPM-9 y MPM-2 en ganglios linfáticos axilares en pacientes con carcinoma de mama; para su análisis incluyeron edad, grado histológico, tamaño tumoral, ganglios linfáticos, entre otros. Sin embargo, solo encontraron asociación con el grado histológico y los antecedentes oncológicos familiares, aunque su método de medición fue de niveles séricos y no por inmunohistoquímica.¹⁷

Yousef et al. estudiaron a 300 pacientes con carcinoma de mama, tomando en cuenta las siguientes variables: edad de la paciente, grado histológico, subtipos moleculares y presencia de metástasis asociándolos con la inmunorreacción de MPM-9, y encontraron un aumento de la inmunorreacción en los subtipos moleculares Her 2 positivo en un 87.9 % y triple negativo en un 79.4% ($p < 0.001$), en luminal A 33.3 % ($p < 0.05$) y luminal B 43.3% ($p < 0.01$). En nuestro caso, no se valoró la inmunorreacción de los subtipos moleculares. En cuanto al grado histológico, solo se encontró una correlación estadísticamente significativa en el grado III ($p < 0.01$). Por último, se encontró asociación estadísticamente significativa entre la inmunorreacción alta y la presencia de metástasis ($p < 0.01$). De estos, los sitios que presentaron significancia estadística fueron: ganglios linfáticos ($p < 0.001$), invasión linfovascular ($p < 0.007$) y metástasis pulmonares ($p < 0.001$).¹¹

Wu Q. et al evaluaron la asociación entre la inmunorreacción de MPM-9 con el tamaño tumoral, ganglio linfático sospechoso y grado histológico, entre otros, sin incluir la edad de la paciente, y solo encontraron significancia estadística en la inmunorreacción positiva de los ganglios linfáticos ($p < 0.001$).¹⁵

Li H et al evaluaron la asociación entre la inmunorreacción tumoral de MPM-2 y MPM-9 y lo correlacionaron con la edad, tamaño tumoral, metástasis a ganglios linfáticos y estadio del tumor, y encontraron una asociación estadísticamente significativa entre la inumnoexpresión tumoral alta con las metástasis a ganglios linfáticos 86.96% ($p < .05$) y los estadios III y IV 88.24% (< 0.05). No se observó asociación significativa con la edad y el tamaño tumoral.¹⁸



Como podemos observar, existe una variabilidad significativa en cuanto a la asociación entre la inmunoexpresión de MPM-9 y las distintas variables incluidas, en donde tomaron en cuenta otras que nosotros no, tales como el subtipo molecular, otros, solo tomaron en cuenta ganglio centinela o solo ganglios linfáticos negativos. Otros lo asociaron al tiempo libre de enfermedad o periodos de recaída.



LIMITACIONES Y/O NUEVAS PERSPECTIVAS DE INVESTIGACIÓN.

Entre las limitaciones de este estudio se encuentran el tamaño de la muestra, que si bien, fue calculado adecuadamente, se utilizó el mínimo requerido.

En nuevos estudios, sería interesante evaluar la asociación de la inmunoexpresión de MPM-9 con el tipo histológico, para observar si se encuentra asociada a tipos histológicos de alto grado. Se requiere además considerar la evaluación por separado de los carcinomas lobulillares con el resto, debido a que el comportamiento de éstos puede ser distinto, es frecuente observar en los carcinomas de este tipo metástasis a distancia más que a ganglios linfáticos axilares. Por tanto, se debe hacer un nuevo estudio enfocado a este tipo histológico.



CONCLUSIONES.

Con base a lo anterior, podemos concluir que si bien, existe un antecedente de asociación entre ganglios linfáticos positivos y la inmunoexpresión de MPM-9, el cuál no incluye variables como la edad, el resto de los trabajos encontrados, al igual que el nuestro, se asocian sólo con el grado histológico y la edad. Futuros estudios deberán determinar si la asociación encontrada entre la edad y MPM-9 positiva se mantiene y correlaciona con otras variables como el tipo de evolución.

BIBLIOGRAFÍA.

- ¹Rosai, Juan y Lauren V Ackerman. Capítulo 20 Mama. En: Amolca. Rosai y Ackerman Patología Quirúrgica vol. 2. 10a Ed. New York, New York, USA: Elsevier Inc; 2011. p. 1681-1722.
- ²Tiao Z, Shi A, Lu C, Song T, Zhang Z, Zhao J. Breast Cancer. Epidemiology and etiology. Cell Biochem Biophys. 2015 jun; 72 (2):333-338.
- ³Hans-Peter Sinn, Hans Kreipe. A Brief Overview of the WHO Classification of Breast Tumors, 4th Edition, Focusing on Issues and Updates from the 3rd Edition. Breast Care (Basel). 2013 May; 8(2): 149-154.
- ⁴P. Arul, Suresh Masilamani. Comparative evaluation of various Cytomorphological grading systems in breast carcinoma. Indian J pediatr Oncol. 2016 April-jun; 37(2): 79-84.
- ⁵Hoda S, Brogi E, Koerner F. Chapter 44 Pathologic examination of breast and Lymph Node Specimens, including sentinel Lymph Nodes. In Lippincott Williams & Wilkins. Rosen's Breast Pathology. Fourth edition. Philadelphia, USA: Wolters Kluwer business; 2014. p. 1289.
- ⁶Sonoda K. Molecular Biology of Gynecological cancer (review). Oncology Letters. 2015. 11: 16-22.
- ⁷Yadav L, Puri N, Rastogi V, et al. Matrix Metalloproteinases and cancer-Roles in threat and therapy. Asian Pac J Cancer Prev. 2014; 15 (3):1085-1091.
- ⁸Kumar V, Abul K, Jon Capítulo 7 Neoplasias. En: Elsevier. Robbins y Cotran Patología Estructural y Funcional. 9ª Ed. España: Elsevier Inc; 2015. pp. 265-340.
- ⁹Liu Y, Xin T, Jiang T et al. CD147, MMP9 expression and clinical significance of basal-like Breast Cancer. Med Oncol. 2013. 30:366. P1-15.
- ¹⁰Ren F, Tang R, Zhang X, et al. Overexpression of MMP Family Members functions as Prognostic Biomarker for Breast Cancer Patients: A Systematic Review and Meta-Analysis. PLoS One. 2015 August 13: 10(8): <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0135544>.

- ¹¹ Yousef E, Thair R, St-Pierre Y, Gaboury L. MMP-9 expression varies according to molecular subtypes of breast cancer. *BMC cancer*: 14(609).
- ¹² Radisky E, Radisky D. Matrix Metalloproteinases as breast cancer drivers and therapeutic targets. *Frontiers in Bioscience, Landmarck*. June 1, 2015; 20: 1144-1163.
- ¹³ Mehner Ch, Hockla A, Miller E. Tumor cell –producer matrix metalloproteinase 9 (MMP-9) drives malignant progression and metastasis of basal like triple negative breast cancer. *Oncotarget*. 2014; 5(9); 2736-2749.
- ¹⁴ Benson Ch, Babu S, Radhakrishna S, et al. Expression of Matrix Metalloproteinases in Human Breast Cancer Tissues. *Desease Markers*. 2013; 34: 395-405. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3810109/>
- ¹⁵ Wu Q-W, Yang Q-M, Huang Y-F, et al. Expression and Clinical Significance of Matrix Metalloproteinase-9 in Lymphatic Invasiveness and Metastasis of Breast Cancer. *PLoS ONE*. 2014 9(5).
- ¹⁶ Li He, Cao D, Li Y et al. Prognostic value of matrix metalloproteinases (MMP-2 and MMP-9) in patients with lymph node-negative breast carcinoma. *Breast Cancer Research and Treatment*. 2004;8: 75-85.
- ¹⁷ Danielle A, Zito A, Giannelli G. et al. Expression of metalloproteinases MMP-2 and MMP-9 in sentinel lymph node and serum of patients with metastatic and non-metastatic breast cancer. *Anticancer research*. 2010; 30: 3521-3528.
- ¹⁸ Li H, Qiu Z, Li F, et al. The relationship between MMP-2 and MMP-9 expression levels with breast cancer incidence and prognosis. *Oncology letters*. 2017; 14: 5865-5870.

ANEXOS

ANEXO 1. Clasificación de las metaloproteinasas.

Lalita Yadav et al

Table 1. Classification of MMPs, their Chromosomal Location and Substrate

Type	Common Name	Chromosomal Location	Substrate	
Collagenases	MMP-1	Collagenase-1	11q _{22.2-22.3}	Collagen (I,II,III,VII,VIII,X),Casein,Perlecan,Entactin,Laminin,Pro-MMP-1,2,9 & Serpins
	MMP-8	Collagenase-2 (Neutrophil Collagenases)	11q _{22.2-22.3}	Collagen (I-III,V,VII,VIII,X), Gelatin,Aggrecan,Fibronectin.
Gelatinases	MMP-13	Collagenase-3	11q _{22.2-22.3}	Collagen(IV,IX,X,XIV),Gelatin,Plasminogen,Aggrecan,Perlecan ,Fibronectin
	MMP-18	Collagenase-4	Not in humans	Type I Collagen
Stromelysins	MMP-2	Gelatinase A	16q13	Gelatin, Collagen(IV-VI,X), Elastin, Fibronectin
	MMP-9	Gelatinase B	20q _{11.2-13.1}	Gelatin,Collagens(IV,V,VII,X,XIV),Elastin, Fibrillin&Osteonectin
Stromelysin like MMPs	MMP-3	Stromelysin-1	11q _{22.2-22.3}	Laminin,Aggrecan,Gelatin,Fibronectin
	MMP-10	Stromelysin-2	11q _{22.2-22.3}	Collagens(III-V),Gelatin,Casein,Aggrecan, Elastin,MMP-1,8
Matrilysins	MMP-11	Stromelysin-3	22q 11.2	Fibronectin ,Laminin,Aggrecan,Gelatin
	MMP-12	Metalloelastase	11q _{22.2-22.3}	Elastin,Gelatin,CollagenI,IV,Fibronectin, Laminin,Vitronectin, Proteoglycan
Membrane type MMPs	MMP-7	Matrilysin	11q _{22.2-22.3}	Collagen(IV-X), Fibronectin, Laminin, Gelatin, Aggrecan,Pro-MMP-9
	MMP-26	Matrilysin-2	11q 22.2	Gelatin,Collagen IV,Pro-MMP-9
Other MMPs	MMP-14	MT-1 MMP	14q 12.2	Collagen(I,II,III),Gelatin,Fibronectin,LamininAggrecan,Tenascin.
	MMP-15	MT-2 MMP	16q 12.2	Fibronectin,Laminin,Aggrecan,Perlecan.
	MMP-16	MT-3 MMP	8q 21	Collagen III,Gelatin,Casein
	MMP-17	MT-4 MMP	12q24	Fibrinogen,TNF Precursor
	MMP-24	MT-5 MMP	20q 11.2	Proteoglycans
	MMP-25	MT-6 MMP	16p13.3	Collagen IV, Gelatin,Fibronectin,Fibrin
Other MMPs	MMP-19	-	12q14	Type I Collagen
	MMP-20	Enamelysin	11q22	Amelogenin,Aggrecan
	MMP-21	XMMP(Xenopus)	-	Gelatin
	MMP-22	CMMP(Chicken)	11q24	-
	MMP-23	Cysteine array	1p36.3	Gelatin
	MMP-27	-	11q24	-
	MMP-28	epilysin	17q11.2	Casein



ANEXO 2. Firmas autógrafas.

1. DATOS GENERALES.

TÍTULO DEL ESTUDIO: Asociación entre la expresión tumoral de la Metaloproteinasa de Matriz 9 con la presencia de ganglios linfáticos axilares positivos a células neoplásicas en pacientes con carcinoma de mama invasor a través de estudio de inmunohistoquímica.

LÍNEA DE GENERACIÓN Y APLICACIÓN INNOVADORA DEL CONOCIMIENTO (LGAC): Patología Quirúrgica oncológica de glándula mamaria.

INVESTIGADOR PRINCIPAL:

Nombre: Patricia Anchondo Núñez

Adscripción: Hospital Central Dr. Ignacio Morones Prieto departamento de Anatomía Patológica.

Cargo: Médico Residente de tercer año

Nivel máximo de estudios: licenciatura

Pertenece a: H.C: si

U.A.S.L.P. si

Departamento: Anatomía Patológica

Firma 

DIRECTOR DE TESIS O CO-INVESTIGADOR:

Nombre: Nadia Judith Gómez Hernández

Adscripción: Hospital Central Dr. Ignacio Morones Prieto departamento de Anatomía Patológica.

Cargo: Médico Adscrito

Nivel máximo de estudios: Postgrado

Pertenece a: H.C si

U.A.S.L.P. si

Departamento: Anatomía Patológica

Firma 

ASESOR METODOLÓGICO O CO-INVESTIGADOR:

Nombre: Dr. Juan Francisco Hernández Sierra

Adscripción: Facultad de Medicina U.A.S.L.P

Cargo: Coordinador de la maestría en ciencias en investigación clínica

Nivel máximo de estudios: maestría en ciencias Médicas

Pertenece a: H.C: no

U.A.S.L.P. si

Firma 



DEPARTAMENTOS PARTICIPANTES:

División: Anatomía Patológica

Nombre del jefe de división: Dr. Cuauhtémoc Oros Ovalle

Firma _____

División: Departamento de inmunohistoquímica

Nombre del jefe del departamento: Dra. Mary Carmen Gutiérrez Gil

Firma: _____

INTENCIÓN APLICATIVA:

- Licenciatura ()
- Especialidad (x)
- Maestría ()
- Doctorado ()
- Línea de investigación ()

AUTORIZADO POR:

Comité de Investigación con fecha:

Comité de Ética en Investigación con fecha:

Número de autorización:



ANEXO 3. Carta “pendiente aprobación”.



HOSPITAL CENTRAL
 “DR. IGNACIO
 MORONES PRIETO”

San Luis Potosí, S.L.P., a 31 de agosto de 2017

Dra. Patricia Anchondo Núñez
Investigador Principal
 Departamento Anatomía Patológica
 Hospital Central “Dr. Ignacio Morones Prieto”
 PRESENTE.

Estimada Investigadora:

Por este conducto se le comunica que el protocolo de investigación titulado **“Asociación entre la inmun expresión tumoral de la metaloproteinas de matriz 9 con la presencia de ganglios linfáticos axilares positivos en pacientes con carcinoma de mama invasor a través de estudio de inmunohistoquímica”**, fue evaluado por el Comité de Ética en Investigación de esta Institución, con registro CONBIOETICA-24-CEI-001-20160427. El dictamen para este protocolo fue el siguiente:

PENDIENTE DE APROBACIÓN

Se asignará un número de registro a este protocolo de investigación una vez que se hayan realizado, revisado y aceptado las modificaciones indicadas a continuación, para lo cual tiene un máximo 15 días naturales a partir de la recepción de este documento.

Observaciones al protocolo:

1. Es necesario presentar la carta compromiso de financiamiento por parte de la UASLP para la adquisición de los materiales y reactivos necesarios para el desarrollo experimental de la tesis o en su defecto, una copia del convenio del proyecto de investigación del cual se obtendrán los recursos. Esta información deberá ser incluida en el documento del protocolo.

Este documento deberá enviarse en formato impreso y formato electrónico a la Subdirección de Educación e Investigación del Hospital Central “Dr. Ignacio Morones Prieto” y se deberán incluir los detalles del mismo en el protocolo del estudio de investigación presentado, en la sección correspondiente. El protocolo deberá ser enviado nuevamente con los cambios solicitados.

Atentamente,

Dr. Josué Sidonio Rodríguez Cuevas
 Presidente del Comité de Ética en Investigación
 Hospital Central “Dr. Ignacio Morones Prieto”



C.c.p. Archivo

Av. Venustiano Carranza No. 2395
 Zona Universitaria
 San Luis Potosí, S.L.P. C.P. 78290
 Tel. 01 (444) 198-10-00
 www.hospitalcentral.gob.mx
 www.slp.gob.mx



ANEXO 4. Carta compromiso de financiamiento por parte de la UASLP para la adquisición de los materiales y reactivos necesarios para el desarrollo experimental de la tesis.



SAN LUIS POTOSÍ, S.L.P. A 27 SEPTIEMBRE 2017

DRA. MA. DEL PILAR FONSECA LEAL.
 SUBDIRECTOR DE ENSEÑANZA E INVESTIGACION
 "HOSPITAL CENTRAL DR. IGNACIO MORONES PRIETO".
 P R E S E N T E.

Respetable Dra. FONSECA:

Por medio de la presente hago de su conocimiento que el Departamento de Patología e Inmunohistoquímica apoyaran el protocolo de investigación de la **Dra. Patricia Anchondo Núñez** con motivo de su tesina:

“Asociación Entre La Inmunoexpresión Tumoral De La Metaloproteinasas De Matriz 9 Con La Presencia De Ganglios Linfáticos Axilares Positivos En Pacientes Con Carcinoma De Mama Invasor A Través De Estudio De Inmunohistoquímica”

El apoyo se le dará mediante el financiamiento con la aportación del anticuerpo metaloproteinasas de matriz 9 para fines de que pueda obtener su grado de especialista en Anatomía Patológica.

Agradeciendo de antemano, quedo a sus órdenes para cualquier duda o aclaración.

ATENTAMENTE

DRA. MARY CARMEN GUTIÉRREZ GIL.
 JEFE DE DEPARTAMENTO DE INMUNOHISTOQUIMICA.
 FACULTAD DE MEDICINA.



FACULTAD DE
MEDICINA

Av. Venustiano Carranza 2405
 CP 78210 - San Luis Potosí, S.L.P.
 tel. (444) 826 2344 al 49
 tel. Dirección (444) 826 2350
 fax (444) 826 2352
 www.uaslp.mx

C.C.P. COMITÉ DE ETICA DE INVESTIGACION EN HOSPITAL CENTRAL.
 C.C.P. ARCHIVO

DRA'MCGG/mtr

ANEXO 5. Inseto MMP-9.

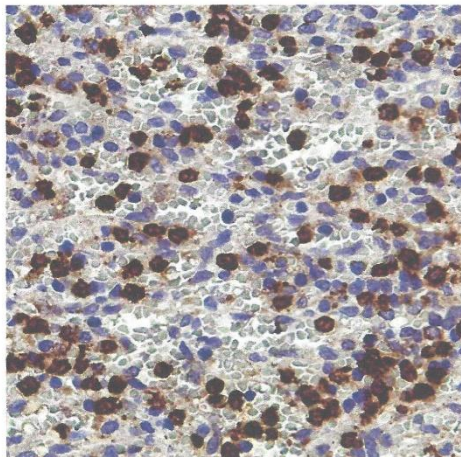
28/11/2016

MMP9 - EP127: Rabbit Monoclonal : products



Epitomics Portfolio

Primary Antibodies / Epitomics Portfolio / MMP9 (EP127)



Spleen stained with anti-MMP9

MMP9 (EP127)

Rabbit Monoclonal

Matrix metalloproteinases (MMPs), a family of peptidase enzymes, plays a critical role in degradation of extracellular matrix components in normal physiological processes, such as embryonic development, reproduction, and tissue remodeling, as well as in disease processes. MMP-9, also designated as 92-kDa Type IV Collagenase or gelatinase B is a member of MMPs, which is produced as a 92-kDa pro-enzyme by neutrophils and macrophages as a normal constituent and released into the extracellular environment after activation in inflammatory tissues. MMP-9 is predominantly expressed in neutrophils, macrophages, mast cells and stromal cells. The expression levels of MMP-9 in tumors are elevated compared with the corresponding normal tissues in a variety of cancer types, including breast, colon, gastric and nasopharyngeal cancers.

Last updated: 2015-09-11 10:38:21

Ordering Information

For research use only (RUO) in USA

Description	Cat. No.
0.1 ml, concentrate	AC-0122RUO
1 ml, concentrate	AC-0122RUOC

Call Today — (800) 665-7284

Specifications

Reactivity: paraffin

Visualization: cytoplasmic

Control: spleen, breast carcinoma

Isotype: IgG

Dilution Range: 1:100 - 1:200*

IFU

IFU included with product

SDS

Download your SDS

[Download](#)



ANEXO 6. Carta de aprobación por comité de investigación.



San Luis Potosí, S.L.P., a 18 de octubre de 2017

Dra. Patricia Anchondo Núñez
Investigador Principal:

Por este medio se le comunica que su protocolo de investigación titulado **“Asociación entre la inmunoeexpresión tumoral de la metaloproteinasa de matriz 9 con la presencia de ganglios linfáticos axilares positivos en pacientes con carcinoma de mama invasor a través de estudio de inmunohistoquímica”**, fue evaluado por el Comité de Investigación, con Registro en COFEPRIS 17 CI 24 028 093, así como por el Comité de Ética en Investigación de esta Institución con Registro CONBIOETICA-24-CEI-001-20160427, y fue dictaminado como:


APROBADO

El número de registro es **73-17**, el cual deberá agregar a la documentación subsecuente, que presente a ambos comités.

De igual forma pido sea tan amable de comunicar a los Comités de Investigación y de Ética en Investigación: la fecha de inicio de su proyecto, la evolución y el informe final pertinente.

*Se le recuerda que todos los pacientes que participen en el estudio deben firmar la versión sellada del formato de consentimiento informado.

Atentamente


Dra. Ma. Del Pilar Fonseca Leal
Sub-Directora de Educación e Investigación en Salud
Hospital Central “Dr. Ignacio Morones Prieto”



C.C.P. Archivo



ANEXO 7. Carta de aprobación por comité de ética en investigación.



HOSPITAL CENTRAL
"DR. IGNACIO
MORONES PRIETO"

San Luis Potosí, S.L.P., a 18 de octubre de 2017

Dra. Patricia Anchondo Núñez
Departamento Anatomía Patológica
Hospital Central "Dr. Ignacio Morones Prieto"
Investigador Principal
PRESENTE.


Estimada Dra. Anchondo:

Por este conducto se le comunica que el protocolo de investigación titulado **Asociación entre la inmunoeexpresión tumoral de la metaloproteinasas de matriz 9 con la presencia de ganglios linfáticos axilares positivos en pacientes con carcinoma de mama invasor a través de estudio de inmunohistoquímica**", fue evaluado por el Comité de Ética en Investigación de esta Institución, con registro CONBIOETICA-24-CEI-001-20160427. El dictamen para este protocolo fue el siguiente:

APROBADO

El investigador principal deberá comunicar a este Comité la fecha de inicio y término del proyecto, y presentar el informe final correspondiente. Asimismo, el Comité de Ética e Investigación podrá solicitar información al investigador principal referente al avance del protocolo en el momento que considere pertinente.

Atentamente,


Dr. Josué Sidonio Rodríguez Cuevas
Presidente del Comité de Ética en Investigación
Hospital Central "Dr. Ignacio Morones Prieto"



C.c.p. Archivo