

16-VI-03
para la biblioteca

INSTITUTO NACIONAL DE CANCEROLOGÍA, E.S.E.
Grupo de Patología y Citología

**VALORACIÓN DE LA REACTIVIDAD PARA CK7, CK20 Y PAS EN
ENFERMEDAD DE PAGET MAMARIA Y GRADUACION DEL
CARCINOMA MAMARIO SUBYACENTE EN EL INC**

PROTOCOLO

Autoras

RITA MARIA PAEZ TRUJILLO
Residente de Patología INC

MARIAM CAROLINA ROLOM CADENA
Docente grupo de Patología y Citología
Tutora temática

ELVIRA CASTRO DE PABON
Docente grupo de Patología y Citología
Grupo de investigaciones del INC
Tutora metodológica

TERESA MARTINEZ PALOMINO
Especialista en Epidemiología
Grupo de Epidemiología

Bogotá, Julio de 2002

TABLA DE CONTENIDO

	PAG
1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	4
2. JUSTIFICACIÓN	7
3. MARCO TEÓRICO	9
3.1 GENERALIDADES DE LA ENFERMEDAD DE PAGET	9
3.2 DEFINICION	9
3.3 INCIDENCIA	10
3.4 PRESENTACION CLINICA	10
3.5 APARIENCIA MACROSCOPICA	12
3.6 HISTOPATOLOGIA	12
3.7 HISTOQUIMICA E INMUNOHISTOQUIMICA	13
3.8 HISTOGENESIS	14
3.9 DIAGNOSTICO DIFERENCIAL	15
3.10 PRONOSTICO Y TRATAMIENTO	16
3.11 GRADO TUMORAL DEL CARCINOMA IN SITU	17
3.12 GRADO TUMORAL DEL CARCINOMA INFILTRANTE	19
4. OBJETIVOS	21
5. VARIABLES	22
6. DISEÑO METODOLÓGICO	
6.1 TIPO DE ESTUDIO	23
6.2 POBLACIÓN Y MUESTRA	23

6.3	CRITERIOS DE INCLUSIÓN	24
6.4	CRITERIOS DE EXCLUSIÓN	24
6.5	MÉTODOS E INSTRUMENTOS	24
6.6	PROCEDIMIENTOS	25
7.	PLAN DE TABULACIÓN Y ANÁLISIS	28
8.	ANÁLISIS DE FACTIBILIDAD	32
9.	CRONOGRAMA	34
10.	BIBLIOGRAFIA	35
11.	ANEXOS	37

1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La enfermedad de Paget se encuentra asociada en un 98% de los casos a un carcinoma mamario, en un 10% al intraductal y en un 90% de los casos al infiltrante. El grado de diferenciación tumoral de cada uno de estos relacionado con la enfermedad de Paget ha sido descrito como de alto grado²².

El patrón histológico distintivo de infiltración epidérmica por células tumorales ha conducido al uso del termino “diseminación pagetoide” para indicar cualquier condición donde las células son distribuidas aisladas o en pequeños grupos a través de la epidermis; este patrón es visto en otras condiciones patológicas que pueden afectar la piel (en áreas donde la enfermedad de Paget ha sido reportada). En la mayoría de los casos el diagnóstico correcto puede ser alcanzado con cuidadosa evaluación clínica e histopatológica y la ayuda de un panel de marcadores de histoquímica e inmunohistoquímica, los más frecuentemente empleados son la CK7, HMFG, EMA, CAM5,2 y HER2/neu.^{2,3,4,5}

Las típicas células grandes redondas u ovales con citoplasma amplio pálido, núcleo grande y nucleolo prominente con variable grado de pleomorfismo de la enfermedad de Paget pueden ser un problema diagnóstico y, la expresión de citokeratina 7, citokeratina 20 y PAS con y sin diastasa puede ser usada para distinguir entre enfermedad de Paget y otras neoplasias con células de morfología similar.^{6,7}

La interpretación de la positividad para citokeratina 7, ha sido controversial ⁽¹⁾; esta fue inicialmente considerada 100% específica y sensible como marcador de enfermedad de Paget. Aunque los casos clásicos de enfermedad de Paget son fácilmente diagnosticados con base a su morfología con hematoxilina y eosina, existen presentaciones histológicas no tan clásicas que pueden ser un problema diagnóstico. ^{8,9,10}. Inmunohistoquímica con una amplia variedad de anticuerpos ha sido usada para la identificación de células de Paget con histologías no clásicas, y para su distinción de otras entidades como melanoma de extensión superficial y enfermedad de Bowen con patrón pagetoide ¹⁰

La presencia de citokeratina 7 sola no es diagnóstica de enfermedad de Paget mamario, sin embargo, representa un importante soporte si se usa junto con la morfología de hematoxilina y eosina ⁸ y otros marcadores de histoquímica (PAS con y sin diastasa) e inmunohistoquímica (citokeratina 20).

La realización de este estudio tiene como finalidad describir la presencia de los marcadores citokeratina 7, citokeratina 20 y PAS con y sin diastasa en casos de enfermedad de Paget mamaria diagnosticados en el Instituto Nacional de Cancerología entre los años 1997 y 2002, y el grado de diferenciación tumoral del carcinoma mamario subyacente.

En el Instituto Nacional de Cancerología se diagnostican anualmente un promedio de 400 casos de carcinoma mamario, si tenemos en cuenta que la incidencia de la Enfermedad de Paget corresponde al 1,5% de los casos de carcinoma mamario, tendremos unos 6 casos

por año, los que pueden presentar dificultades diagnósticas, y los marcadores de histoquímica e inmunohistoquímica como Pas con y sin diastasa, Citokeratina 7 y Citokeratina 20 constituyen una valiosa herramienta para realizar un diagnóstico y tratamiento oportuno.

La literatura mundial ha establecido en diferentes estudios la especificidad y sensibilidad de estos marcadores en la Enfermedad de Paget y en el carcinoma mamario subyacente, pero desconocemos la reactividad de estos marcadores en los casos de Enfermedad de Paget entre nuestras pacientes quienes presentan estadios avanzados de carcinoma de seno los cuales en un 80% son IIIb o IV. En el Instituto Nacional de Cancerología el diagnóstico de la enfermedad de Paget se ha realizado con hematoxilina y eosina y se hace necesario encontrar un método costo efectivo para el diagnóstico diferencial en casos problema. En el país no se ha realizado ningún estudio con estas características, por lo que este se constituye en el primer estudio al respecto en el Instituto Nacional de Cancerología.

2. JUSTIFICACIÓN

La enfermedad de Paget del pezón está caracterizada por la presencia de un tipo especial de células neoplásicas en la epidermis, frecuentemente asociada con carcinoma ductal subyacente ^(9,11,12,13), se considera que representan migración de células tumorales hacia la epidermis ^{3,10,14} las cuales son usualmente similares en apariencia histológica, inmunohistoquímica y expresión a los oncogenes⁹.

La Citokeratina 7 se ha descrito como un sensible marcador de células de Paget, pero no lo es en todos los casos⁽¹⁰⁾, puede ayudar en el diagnóstico diferencial de enfermedad de Paget con otros procesos neoplásicos y con células normales presentes en el pezón. Estudios más recientes han encontrado reactividad para citokeratina 7 en enfermedad de Paget mamaria en más del 95% de los casos. ¹⁰ Smith y col ¹⁵ e Inokuchi y col ¹⁶ reportaron que la reactividad contra CK7 era la más específica en relación con otras citokeratinas, y que este marcador colorea todas las células de Paget difusa e intensamente, concluyendo que la citokeratina 7 es el anticuerpo de elección en la detección de la enfermedad de Paget.

En las células de Paget mamarias la Citokeratina 20 no muestra reactividad ¹⁰ y entre un 50 y 60% han mostrado positividad para PAS sin diastasa. ^{14,17,18}

En el presente estudio pretendemos realizar estudios de histoquímica como el PAS con y sin diastasa y de inmunohistoquímica CK7 y CK20 en las células de Paget mamarias, con

el fin de comparar la positividad y negatividad de la coloración utilizando un método económico y de fácil acceso como el PAS con y sin diastasa en relación con Citokeratina 7 y Citokeratina 20 que no se encuentran fácilmente disponibles en todos los laboratorios de patología y que representan un mayor costo.

Además teniendo en cuenta que el carcinoma mamario subyacente asociado a la enfermedad de Paget ya sea in situ o infiltrante no ha sido relacionada con el grado de diferenciación tumoral, nos proponemos establecer el grado de diferenciación tumoral de cada uno de los carcinomas mamarios de acuerdo a la clasificación de Van Nuys para el carcinoma in situ , la de Bloom Richardson modificada para el carcinoma ductal infiltrante y la específica para las variantes.

Se escogió para el estudio el periodo comprendido entre los años de 1997 y 2002, teniendo en cuenta que la base de datos del Departamento de Patología del Instituto Nacional de Cancerología se encuentra sistematizada a partir de 1997.

3. MARCO TEÓRICO

3.1 HISTORIA DE LA ENFERMEDAD DE PAGET

Sir James Paget fue el primero en describir la enfermedad de Paget de mama en 1874. Él reportó una enfermedad eczematosa crónica de la piel del pezón y areola en 15 mujeres, con un carcinoma intraductal asociado en la glándula mamaria subyacente^{19,20}. En 1881 George Thin ilustró la primera descripción microscópica de enfermedad de Paget. Crocker describe el primer caso de enfermedad de Paget extramamaria (desorden dérmico que se presenta clínicamente similar a enfermedad de Paget mamaria) en pene en el año de 1889. Darier en 1889 informó sobre las células características de la entidad, las denominó disqueratósicas y las asoció a una nueva forma de psorospermosis cutánea, y es lo que hoy en día se denomina universalmente como células de Paget.²¹ En 1901, Dubreuilh reporta un caso de vulva.²² El concepto que la enfermedad de Paget representa la diseminación de células tumorales hacia la epidermis desde un carcinoma mamario fue primero desarrollado en 1904 por Jacobaeus; estas observaciones fueron confirmadas en 1927 por Muir quien describe el fenómeno de enfermedad de Paget “secundaria”, la cual ocurre cuando un carcinoma mamario se extiende directamente hacia la epidermis y se acompaña de diseminación intraepidérmica de las células de Paget.²²

3.2 DEFINICION

El sistema de clasificación de enfermedades de la Organización Mundial de la Salud define la enfermedad de Paget del pezón como una “lesión en la cual células grandes de

coloración pálida están dentro de la epidermis del pezón predominantemente en la mitad profunda.⁸

3.3 INCIDENCIA

La enfermedad de Paget mamaria es una enfermedad poco frecuente que representa el 2-3% de todas las neoplasias de seno, de 1 – 4% de las mujeres con carcinoma de mama desarrollan enfermedad de Paget. Del 1% de los carcinoma mamarios masculinos, 7,4 – 10,6% presentan enfermedad de Paget,²³ con una frecuencia mayor entre los hombres con cáncer mamario²¹. Robledo y col en Colombia en el Instituto Nacional de Cancerología informaron 45 casos en 20 años para una frecuencia de 1,5% de los cánceres mamarios, de los cuales 15 eran carcinomas intracanaliculares (14 sin tumor palpable y 1 con masa palpable) y 30 casos presentaban carcinoma infiltrante (10 sin tumor palpable y 20 con tumor palpable)²⁴. Marquez y col de la Clínica San Pedro Claver de Bogotá informaron en un estudio de 10 años una frecuencia de la enfermedad de Paget del 1,8% de los cánceres mamarios²¹.

3.4 PRESENTACION CLINICA

La enfermedad de Paget mamaria no presenta predisposición racial. El rango de edad entre las pacientes femeninas se encuentra entre 24 y 84 años con una edad promedio al diagnóstico de 55 años. El rango de edad de presentación entre los hombres es de 48 a 80 años.²³

La presentación clínica de la enfermedad de Paget mamaria es igual en hombres y mujeres, se presentan con una larga historia de lesiones eczematosas en la piel del pezón y

áreas adyacentes. Las lesiones eczematosas presentan signos y síntomas que incluyen: eritema, descamación, prurito, ardor, ulceración, exudado con descarga serosanguinolenta, sangrado en diferentes combinaciones. Los signos y síntomas más tempranos están dados por excoriación por rascado, resolución y recurrencia de las pequeñas vesículas dentro de la lesión dérmica. Al examen físico se encuentra típicamente descamación, eritema, costra y placas gruesas sobre el pezón que se diseminan a la areola; una placa eritematosa bien definida a diferencia de las lesiones eczematosas es característica de la enfermedad de Paget. Retracción del pezón o la presencia de nódulo palpable indican un carcinoma mamario invasivo subyacente. La descarga serosanguinolenta puede ser evidente durante el examen físico. Más de dos tercios de las pacientes tienen tumor de seno palpable, las lesiones miden entre 3 mm y 15 cm, con un promedio de 2,8 cm. Invaginación del pezón algunas veces puede ser visto. Los cambios en el pezón están asociados con carcinoma mamario subyacente (in situ o infiltrante) en más del 98% de los casos; de estos intraductal 10% e infiltrante 90% .¹ En la mayoría de los casos los ductos lactíferos directamente conectados a la enfermedad de Paget contienen comedocarcinoma. El carcinoma ductal in situ asociado con enfermedad de Paget característicamente tiene un patrón de crecimiento sólido a comedo. Carcinomas cribiformes han sido encontrados en alrededor del 10% de casos, y cerca del 40% de casos tienen tipos mixtos de carcinoma ductal in situ.²⁵ El compromiso unilateral es la regla; sin embargo, enfermedad de Paget mamaria bilateral ocasionalmente ha sido reportada.²⁵ Se han informado pocos casos de pacientes femeninas con enfermedad de Paget en un pezón supernumerario.^{2,17,22,23,26,27}

3.5 APARIENCIA MACROSCOPICA

Ocasionalmente, los ductos lactíferos aumentados de tamaño pueden ser detectados si el pezón extirpado y la mama subyacente son cuidadosamente examinados. Los tumores clínicamente palpables no tienen características macroscópicas específicas. Entre el 10 y el 28% de las mujeres con enfermedad de Paget no tienen tumor al examen clínico y la evidencia del tumor macroscópico es encontrado en la evaluación de la mastectomía. El tumor es usualmente localizado centralmente pero en ocasiones puede localizarse más periférico. ^{2,17,22,23,25,27}

3.6 HISTOPATOLOGIA

La epidermis exhibe hiperqueratosis, paraqueratosis y acantosis. Con infiltración por un variable número de células grandes, redondas u ovoides, de apariencia maligna que se encuentran en todas las capas de la epidermis. Las células tumorales contienen abundante citoplasma eosinofílico o pálido y un núcleo que varía de vesicular a hiper cromático con nucleolo prominente. Pronunciada atipia nuclear y pleomorfismo están presentes. ^{2,8,9,22}

Las células de Paget se organizan aisladamente o en nidos, con ocasional formación de ductos. En las lesiones ulceradas de enfermedad de Paget mamaria, la epidermis es totalmente reemplazada por células de Paget. La epidermis comprometida por células de Paget no siempre se encuentra inmediatamente adyacente al carcinoma de mama.

^{2,8,17,22,23,27}

3.7 HISTOQUIMICA E INMUNOHISTOQUIMICA

El citoplasma de las células de Paget puede ser PAS positivo (ácido peryódico de Schiff), gránulos diastasa resistentes, indicando la presencia de mucopolisacaridos neutros. Menos frecuentemente, sialomucinas pueden ser identificadas por Alcian Blue.⁸ En un estudio de Ordoñez y col¹⁴ la coloración para alcian blue fue débilmente positiva en el 25% de los casos de enfermedad de Paget mamaria y el PAS sin diastasa fue focalmente positivo en el 63% de los casos, pero invariablemente negativo para el PAS con diastasa. En otro estudio Hitchcock y col¹⁸ encontraron débil positividad para PAS sin diastasa en solo 46% de los casos y para alcian blue en el 61%.

La inmunoreactividad de las células de Paget es similar a la del carcinoma subyacente. La enfermedad de Paget es frecuentemente negativa para receptores de estrógenos y progesterona, porque el carcinoma subyacente tiende a ser pobremente diferenciado. Las células de Paget fueron negativas para S-100 en dos estudios, pero positivas en un 18% de casos en una tercera serie. S-100 y HMB-45 son positivos en los melanomas y la enfermedad de Paget es HMB-45 negativa. La inmumunorreactividad para antígeno carcinoembrionario ACE se encuentra presente en muchos carcinomas mamarios. Ordoñez y col reportaron reactividad para ACE en todos los casos de enfermedad de Paget estudiados. Las células neoplásicas en la enfermedad de Paget tienen propiedades histoquímicas e inmunohistoquímicas en común con los adenocarcinomas de mama.²² Las células de Paget son típicamente reactivas para citokeratinas de bajo peso molecular tales como CAM5.2, antígeno de membrana epitelial EMA, glóbulos de grasa de la leche humana HMFG, HER-2/neu y citokeratina 7 (CK7). CK7 fue inicialmente considerado

con una especificidad y sensibilidad del 100% para enfermedad de Paget, pero CK7 ha sido descrita en células benignas de Toker y células de Merkel⁸; estudios más recientes han encontrado reactividad para CK7 en más del 95% de los casos de enfermedad de Paget.¹⁰ Smith y col, concluyeron que CK7 es el anticuerpo de elección en la detección de la enfermedad de Paget.¹⁵ Zeng y col⁷ y Lundquist¹⁰ advierten acerca de la precaución de la interpretación de la expresión de CK7, porque este marcador identifica células epiteliales de derivación glandular simple, las cuales están presentes en pezones normales (células de Toker), y no necesariamente indican malignidad, a menos que se observe células intraepidérmicas citológicamente malignas; el mismo autor refiere que las células de Paget fueron negativas para Citokeratina 20 en todos los casos de 17 examinados.

3.8 HISTOGENESIS

Se han propuesto varias teorías para explicar el origen de las células de Paget:

La teoría epidermotrópica es la más ampliamente aceptada y considera que la enfermedad de Paget del pezón es un adenocarcinoma que está virtualmente asociado a carcinoma mamario subyacente.²⁸ Una continuidad demostrable entre la enfermedad de Paget del pezón y el carcinoma de los ductos lactíferos está presente en la mayoría de casos²¹. Esta continuidad soporta la hipótesis que la enfermedad de Paget representa una extensión directa o una migración del carcinoma de mama subyacente a través de los ductos lactíferos.⁸ Similitud entre las células tumorales de la enfermedad de Paget y el carcinoma subyacente en términos de apariencia citológica, inmunorreactividad y expresión de oncogenes son también soporte de esta hipótesis.^{9,11}

La teoría de la metaplasia escamosa intraepitelial considera la célula de Paget como una transformación epidérmica in situ sin ninguna conexión directa con un carcinoma adyacente; es decir en la enfermedad de Paget del pezón se manifiestan dos carcinomas independientes pero coexistentes: uno cutáneo y otro parenquimatoso mamario.²²

3.9 DIAGNOSTICO DIFERENCIAL.

La definición adoptada por la Organización Mundial de la Salud no es específica porque existen una variedad de condiciones en las cuales “células de coloración pálida” pueden estar presentes en la epidermis del pezón, incluyendo enfermedad de Bowen, melanoma maligno, linfoma cutáneo de células T, tumores de anexos, y ciertas lesiones inflamatorias de la piel. Las llamadas células de Toker, keratinocitos glicogenizados y las células de Merkel pueden también simular una enfermedad de Paget.⁸

Lesiones benignas proliferativas de los ductos lactíferos del pezón, tales como el papiloma de los ductos del pezón y papilomatosis florida, ambas pueden estar asociadas con masa palpable en el seno, descarga sanguinolenta por el pezón, erosión o costra del pezón, y aun retracción del pezón⁷. La distinción entre lesiones benignas proliferativas de los ductos lactíferos del pezón y la enfermedad de Paget puede ser difícil, sin embargo las características citológicas blandas están a favor de una lesión benigna.

La mucina intracelular, células en anillo de sello y estructuras glandulares presentes en la enfermedad de Paget, se encuentran ausentes en la enfermedad de Bowen. En casos donde la diferenciación glandular se encuentra ausente, la inmunohistoquímica probablemente

resuelva el problema, EMA, HMFG, CK7, CAM5.2 y HER2/neu son positivos en enfermedad de Paget y negativos en la enfermedad de Bowen.^{2,6,8,22,29}

Las células atípicas en el melanoma muestran prominentes cordones a lo largo de la unión dermoepidérmica, mientras en la enfermedad de Paget se encuentran difusamente distribuidas. La formación acinar no es vista en el melanoma y no se encuentra mucina intracelular. S-100 y HMB45 son positivos en la mayoría de casos de melanoma. HMB45 es negativo en la enfermedad de Paget y S-100 es positiva en una minoría de casos; los melanocitos no son reactivos con los anticuerpos que usualmente reaccionan las células de Paget.^{2,6,8,13,14,22,29}

Las células de Toker están dispersas, predominantemente localizadas en la epidermis basal alrededor de los orificios de los ductos lactíferos, son células pequeñas a medianas con citoplasma pálido o claro, son mucina negativa, no presentan la atipia citológica de las células de la enfermedad de Paget y no se asocian con carcinoma subyacente.² En un estudio de Yao y col⁸ encontraron que todas las células Toker fueron negativas para HER2/neu y el 44% mostró reactividad para CK7 y el 42% para CAM5.2

3.10 PRONOSTICO Y TRATAMIENTO

El pronóstico es determinado por la extensión del carcinoma asociado. El 50% de las pacientes con enfermedad de Paget con o sin tumor palpable, presentan metástasis sistémicas²⁴ La mastectomía radical o modificada y el vaciamiento axilar constituyen un

tratamiento apropiado para pacientes con enfermedad de Paget y masa palpable con carcinoma de mama invasivo. En los pacientes con masa palpable el 95% presenta carcinoma infiltrante y un 5% carcinoma intracanalicular. En el grupo de pacientes con enfermedad de Paget sin masa palpable, el 41% presenta carcinoma infiltrante en el espécimen quirúrgico.²⁴ Carcinoma in situ es encontrado en cerca del 65% de los pacientes con enfermedad de Paget mamaria sin masa palpable. Manejo conservador de los casos con carcinoma mamario in situ incluyen una combinación de excisión local del pezón, resección en cuña de la mama subyacente y radioterapia.²² Robledo y col²⁴ considerando el alto índice de carcinoma microinfiltrante observado en pacientes clínicamente como enfermedad de Paget sin tumor palpable en el seno, recomiendan la mastectomía simple ampliada o la mastectomía radical modificada como procedimientos terapéuticos iniciales, ya que éstos permiten un muestreo ganglionar que podrá orientar el manejo postoperatorio de este grupo de pacientes.

3.11 GRADO DE DIFERENCIACION TUMORAL DEL CARCINOMA DUCTAL IN SITU

El carcinoma ductal in situ es una proliferación de células epiteliales malignas dentro del sistema ductolobular de la glándula mamaria que no muestra evidencia microscópica de invasión a través de la membrana basal hacia el estroma circundante.³⁰ El carcinoma ductal in situ constituye un espectro de lesiones epiteliales proliferativas no invasivas con una predilección por la unidad ducto lobular terminal de la glándula mamaria.³¹ El concepto de espectro es basado tanto en los hallazgos moleculares y citogenéticos como en

la evidencia clínica, mostrando una alta tasa de recurrencia local en carcinoma ductal in situ con alto grado nuclear o comedonecrosis.³²

El carcinoma ductal in situ ha sido clasificado de acuerdo a la arquitectura, apariencia citológica, presencia de necrosis, o una combinación de estas características. Aunque estos sistemas pueden ser usados por la mayoría de patólogos, la discordancia es común, aún entre expertos, y la clasificación no siempre genera diferentes subgrupos pronósticos.³²

Una clasificación de carcinoma ductal in situ debería ser simple, rápida y reproducible. En un estudio realizado por Douglas y col³³ encontraron que el sistema de Van Nuys mostró cumplir estas características con la menor variación interobservador entre los diferentes sistemas.

El sistema de Van Nuys define tres grupos de pacientes con carcinoma ductal in situ de acuerdo al grado nuclear y a la presencia de necrosis. El grado nuclear es definido teniendo en cuenta la forma y tamaño del núcleo de la célula tumoral. Esencialmente el bajo grado nuclear (grado 1) fue definido como un núcleo con un tamaño entre 1 y 1,5 veces el diámetro de un eritrocito con cromatina difusa y nucleolo inaparente. El núcleo de grado intermedio (grado 2) fue definido como un núcleo entre 1 y 2 veces el diámetro de un eritrocito con cromatina en grumos y nucleolo infrecuente. El alto grado nuclear (grado 3) fue definido como un núcleo con un diámetro mayor de dos veces el de un eritrocito, con cromatina vesicular, y uno o más nucleolos.³²

La necrosis es calificada como la presencia o ausencia de necrosis y es definida como detritos celulares eosinofílicos que contengan cinco o más núcleos picnóticos.³³

El grupo 1 o de bajo grado comprende aquellos con grado nuclear bajo o intermedio sin necrosis, el grupo 2 o de grado intermedio comprende aquellos con grado nuclear bajo o intermedio y necrosis y el grupo 3 o de alto grado incluye alto grado nuclear con o sin necrosis.^{32,33,34}

3.12 GRADO DE DIFERENCIACION TUMORAL DEL CARCINOMA INFILTRANTE

El grado de un carcinoma es un estimativo de diferenciación. Varios sistemas de graduación histológica han sido descritos, el más frecuentemente usado está basado en el de Bloom Richardson, modificado por Elston que valora la formación de túbulos, el pleomorfismo nuclear y la actividad mitótica.

La formación de túbulos es calificada como 1 cuando es > del 75%, 2 entre 10 y 75% y 3 cuando es < del 10%. El pleomorfismo nuclear es calificada como 1 cuando el núcleo es pequeño, regular y uniforme, 2 con moderada variación en la forma y medida y 3 con marcada variación en forma y medida. La actividad mitótica es valorada en 10 campos de alto poder (40X) en un microscopio marca Olympus con un campo de 0,53 mm de diámetro y recibe un puntaje de 1 cuando las mitosis se encuentran entre 0 y 7, 2 entre 8 y 15 mitosis y 3 cuando las mitosis son mayores de 16 en 10 campos de alto poder.³⁵

El grado de diferenciación tumoral está dado por la sumatoria de la calificación de cada uno de los tres variables (formación de túbulos, pleomorfismo nuclear y actividad mitótica) y se denomina bien diferenciado (grado I) entre 3 y 5, moderadamente

diferenciado (grado II) 6 y 7 y pobremente diferenciado (grado III) para calificaciones de 8 y 9.³⁵

4. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Describir la presencia de los marcadores Citokeratina 7, Citokeratina 20 y PAS con y sin diastasa, en las células de Paget en la glándula mamaria, en el cáncer subyacente y el grado de diferenciación de este en las pacientes con diagnóstico de enfermedad de Paget en el Instituto Nacional de Cancerología entre 1997 y 2002.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Establecer la intensidad y extensión de la reactividad para CK7 de las células de Paget en la enfermedad de Paget del pezón y del carcinoma mamario subyacente.

- Establecer la intensidad y extensión de la reactividad para CK20 de las células de Paget en la enfermedad de Paget del pezón y del carcinoma mamario subyacente.

- Establecer la intensidad y extensión de la reactividad para PAS con y sin diastasa de las células de Paget en la enfermedad de Paget del pezón y del carcinoma mamario subyacente.

- Identificar y establecer el grado de diferenciación tumoral del carcinoma mamario subyacente, de acuerdo a la clasificación de Van Nuys para el carcinoma in situ y el Bloom Richardson modificado para el infiltrante, para correlacionar el grado del carcinoma con la enfermedad de Paget.

5. VARIABLES

VARIABLE	DEFINICIÓN	NIVEL DE MEDICIÓN	NIVEL OPERATIVO
Citokeratina 7	Intensidad (Contra un control interno)	Ordinal	Fuertemente positivo Débilmente positivo Negativo
	Extensión	Ordinal	< 30% 31 – 60% > 61%
Citokeratina 20	Intensidad (Contra un control interno)	Ordinal	Fuertemente positivo Débilmente positivo Negativo
	Extensión	Ordinal	< 30% 31 – 60% > 61%
PAS sin diastasa	Intensidad (Contra un control interno)	Ordinal	Fuertemente positivo Débilmente positivo Negativo
	Extensión	Ordinal	< 30% 31 – 60% > 61%
PAS con diastasa	Intensidad (Contra un control interno)	Ordinal	Fuertemente positivo Débilmente positivo Negativo
	Extensión	Ordinal	< 30% 31 – 60% > 61%
Enfermedad de Paget Mamaria con carcinoma subyacente	Presencia de las típicas células de Paget con un carcinoma mamario subyacente	Ordinal	Con tumor subyacente Sin tumor subyacente
Grado de diferenciación tumoral para carcinoma ductal in situ	Clasificación de Van Nuys Anexo # 4	Ordinal	Bajo grado Grado intermedio Alto grado
Grado de diferenciación tumoral para carcinoma ductal infiltrante	Clasificación de Bloom Richardson modificada Anexo #3	Ordinal	Bien diferenciado Moderadamente diferenciado Mal diferenciado
Carcinoma de otras variantes	Discriminación de subtipos diferentes al ductal	Nominal	Lobulillar Tubular Medular Mucinoso Escamoso Papilar Adenoide quístico Secretor Apocrino Otros

6. DISEÑO METODOLÓGICO

6.1 TIPO DE ESTUDIO

Se realizará un estudio descriptivo retrospectivo para determinar la reactividad de las células de Paget en el pezón de la enfermedad de Paget y en las células tumorales del carcinoma mamario subyacente, y el grado de diferenciación tumoral de este último, con marcadores de histoquímica (PAS con y sin diastasa) e inmunohistoquímica (Citokeratina 7 y Citokeratina 20).

6.2 POBLACIÓN Y MUESTRA

La muestra son todos los casos de enfermedad de Paget mamaria diagnosticados en el INC entre 1997 y 2002, los cuales cumplen con los criterios de inclusión.

El cálculo de la muestra es realizado teniendo en cuenta que en el Instituto Nacional de Cancerología se diagnostican 400 casos nuevos de carcinoma de mama por año, para 2400 casos en 6 años, si tenemos en cuenta que la Enfermedad de Paget mamaria presenta una incidencia entre el 1 y el 2% de los carcinomas mamaros y en el Instituto Nacional de Cancerología representa el 1,5%²⁴, tendremos 36 casos para el periodo de estudio propuesto.

Cálculo de la muestra:

$N=36$, $\alpha = 95\%$, Precisión(D) = 5%, P (% de presencia de marcadores)= 50% y ajuste 10% (por desgaste del bloque).

$N_{total} = 28$

Si se halla un número de casos mayor al estipulado se tomaran todos los casos que se presenten.

6.3 CRITERIOS DE INCLUSIÓN

Protocolos con diagnóstico de enfermedad de Paget del pezón con o sin carcinoma mamario subyacente, que se tengan en el laboratorio de Patología del I.N.C. láminas histológicas y bloques de parafina para la realización de estudios de inmunohistoquímica.

6.4 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

Se excluyen del estudio los casos de los cuales no esten presentes para la lectura de coloraciones las células de paget y aquellos casos donde el bloque de parafina estuviese agotado y no permita la realización de las coloraciones de histoquímica e inmunohistoquímica.

6.5 MÉTODOS E INSTRUMENTOS

La recolección y consignación de los datos se realizará en el laboratorio de patología del Instituto Nacional de Cancerología por parte del grupo investigador.

Los pasos a seguir son los siguientes:

- ◆ Revisión de la base de datos en el computador con diagnóstico de enfermedad de Paget.
- ◆ Búsqueda de láminas y bloques de parafina

- ◆ Lectura de láminas y selección de bloques de parafina
- ◆ Aplicación de criterios de inclusión y exclusión.
- ◆ Coloraciones de histoquímica e inmunohistoquímica a los bloques seleccionados
- ◆ Interpretación de coloraciones
- ◆ Realización de la base de datos
- ◆ Análisis de datos
- ◆ Descripción del resultado del análisis.

Los datos serán consignados en un formato diseñado para este fin, (anexo 1).

6.6 PROCEDIMIENTOS

Se realizarán los procedimientos descritos a continuación:

- ◆ Revisión de la base de datos del Departamento de Patología del I.N.C. del periodo comprendido entre 1997 y 2002 por parte de la médica en formación en patología.
- ◆ Revisión de las láminas histológicas por parte de la médica en formación en patología y la médica patóloga que es la tutora temática, para confirmar el diagnóstico de enfermedad de Paget y carcinoma mamario.
- ◆ Graduación histológica del carcinoma mamario subyacente mediante la escala de Bloom Richardson Modificada (anexo 3) y Van Nuys (anexo 4) por parte de la médica en formación en patología, con revisión de la patóloga que es la tutora temática; y consignación de los datos obtenidos por parte de la médica en formación en patología responsable del proyecto.

- ◆ Aplicación de las coloraciones de histoquímica (PAS con y sin diastasa) e inmunohistoquímica (citokeratina 7 y citokeratina 20), por parte del personal de histotecnología, según procedimiento estandarizado en el departamento de patología del Instituto Nacional de Cancerología..
- ◆ Interpretación de las coloraciones de histoquímica e inmunohistoquímica por parte de la médica en formación en patología y por la patóloga que es la tutora temática; y consignación de los datos obtenidos por parte de la médica en formación en patología responsable del proyecto (anexo 1).
- ◆ Realización del informe final por el equipo investigador.
- ◆ Presentación del informe final del proyecto por parte del equipo investigador.

Para la realización de CK7 y CK20 se utilizara el procedimiento estandarizado, un corte del bloque se colocará en una laminilla de vidrio previamente tratada con adhesivo tisular, los restos de parafina serán removidos con alcohol y xilol; la hidratación del tejido se realizará mediante alcoholes descendentes, agregando peróxido de hidrógeno para desaparecer trazas de hemoglobina; la exposición antigénica se logrará mediante una solución reactivante (*retrieval solution*), con posterior colocación del material en autoclave a una presión de 15 libras por 15 minutos.

Posteriormente se agregará a la lámina suero normal de caballo incubándose a temperatura ambiente en cámara de húmeda por media hora, seguido de la aplicación del anticuerpo o suero primario (*citokeratina 7 y citokeratina 20 Dako*) incubándose por 1 hora, se lavará

con buffer de fosfatos (PBS) y se agregara suero de caballo anti-ratón (suero de enlace o anticuerpo secundario), incubándose por media hora y lavándose con PBS.

Luego se aplicará estreptavidina por media hora logrando hacer perceptible la reacción mediante diamino – benzidina, dando una coloración café a las zonas positivas, el contraste de color se realizara con hematoxilina de Harris, finalmente se deshidratará con alcoholes ascendentes hasta llegar a xilol; se pondrá resina y laminilla.

La expresión de CK7 y CK20, se interpretará como positiva tinción café citoplasmática o negativa (no tinción); los resultados obtenidos con las pruebas de inmunohistoquímica serán consignados en el formulario de recolección de datos.

Para la realización del PAS sin diastasa un corte del bloque se colocará en una laminilla de vidrio previamente tratada con adhesivo tisular, se procede a desparafinar e hidratar de acuerdo a lo descrito anteriormente, posteriormente se aplica el ácido peryódico al 0,5% por 5 minutos, se lava con agua destilada y se aplica el reactivo de Shiff de 15 a 30 minutos, se lava en agua corriente por 5 minutos, se introduce en hematoxilina de Harris por 30 a 60 segundos, se lava en agua corriente por 5 minutos, se pasa por agua amoniacal, se deshidrata, se aclara y se monta; dando una característica coloración rojo fucsia cuando es positiva. Para el PAS con diastasa antes de la aplicación del ácido peryódico se aplica diastasa por 10 minutos , y el resto del procedimiento se continua igual que para el PAS sin diastasa.

7. PLAN DE TABULACIÓN Y ANÁLISIS

Se diseñará una base de datos en SPSS.9 con las siguientes variables:

1. Número del protocolo: Para los quirúrgicos externos constará de la letra M seguida de 6 dígitos los dos últimos serán del año en que llegó el quirúrgico o lámina histológica al INC. Los protocolos resultado de procedimientos realizados en el Instituto Nacional de Cancerología constarán de 6 dígitos, los dos últimos serán del año en que fue recibido el quirúrgico.

2. Presencia de carcinoma mamario subyacente. Consta de dos variables: 1. Con tumor subyacente y 2. Sin tumor subyacente.

3. Reactividad para citokeratina 7 de las células de Paget. Consta de dos variables: intensidad y extensión. A. Intensidad: se le asignará el número 1 si es fuertemente positiva, el número 2 si es débilmente positiva y 3 si es negativa. Lo anterior valorado contra un control interno. B. Extensión: Se le asignará el número 1 si es < del 30%, el número 2 si está entre 31 – 60% y el número 3 si es > del 61%.

4. Reactividad para citokeratina 7 de las células tumorales en el carcinoma subyacente. Consta de dos variables: intensidad y extensión. A. Intensidad: se le asignará el número 1 si es fuertemente positiva, el número 2 si es débilmente positiva y 3 si es negativa. Lo anterior valorado contra un control interno. B. Extensión: Se le asignará el número 1 si es < del 30%, el número 2 si está entre 31 – 60% y el número 3 si es > del 61%.

5. Reactividad para citokeratina 20 de las células de Paget. Consta de dos variables: intensidad y extensión. A. Intensidad: se le asignará el número 1 si es fuertemente positiva, el número 2 si es débilmente positiva y 3 si es negativa. Lo anterior valorado contra un control interno. B. Extensión: Se le asignará el número 1 si es < del 30%, el número 2 si está entre 31 – 60% y el número 3 si es > del 61%.

6. Reactividad para citokeratina 20 de las células tumorales en el carcinoma subyacente. Consta de dos variables: intensidad y extensión. A. Intensidad: se le asignará el número 1 si es fuertemente positiva, el número 2 si es débilmente positiva y 3 si es negativa. Lo anterior valorado contra un control interno. B. Extensión: Se le asignará el número 1 si es < del 30%, el número 2 si está entre 31 – 60% y el número 3 si es > del 61%.

7. Reactividad para PAS sin diastasa de las células de Paget. Consta de dos variables: intensidad y extensión. A. Intensidad: se le asignará el número 1 si es fuertemente positiva, el número 2 si es débilmente positiva y 3 si es negativa. Lo anterior valorado contra un control interno. B. Extensión: Se le asignará el número 1 si es < del 30%, el número 2 si está entre 31 – 60% y el número 3 si es > del 61%.

8. Reactividad para PAS sin diastasa de las células tumorales en el carcinoma subyacente. Consta de dos variables: intensidad y extensión. A. Intensidad: se le asignará el número 1 si es fuertemente positiva, el número 2 si es débilmente positiva y 3 si es negativa. Lo anterior valorado contra un control interno. B. Extensión: Se le asignará el número 1 si es < del 30%, el número 2 si está entre 31 – 60% y el número 3 si es > del 61%.

9. Reactividad para PAS con diastasa de las células de Paget. Consta de dos variables: intensidad y extensión. A. Intensidad: se le asignará el número 1 si es fuertemente positiva, el número 2 si es débilmente positiva y 3 si es negativa. Lo anterior valorado contra un control interno. B. Extensión: Se le asignará el número 1 si es < del 30%, el número 2 si está entre 31 – 60% y el número 3 si es > del 61%.

10. Reactividad para PAS con diastasa de las células tumorales en el carcinoma subyacente. Consta de dos variables: intensidad y extensión. A. Intensidad: se le asignará el número 1 si es fuertemente positiva, el número 2 si es débilmente positiva y 3 si es negativa. Lo anterior valorado contra un control interno. B. Extensión: Se le asignará el número 1 si es < del 30%, el número 2 si está entre 31 – 60% y el número 3 si es > del 61%.

11. La escala de Bloom Richardson consta de 3 variables: A. Formación de túbulos, B. Pleomorfismo nuclear y C. Número de figuras mitóticas. A cada una de ellas se le asignará una puntuación de 1 a 3. El grado histológico (D) será el resultado de la sumatoria de las tres variables anteriormente citadas; grado 1 si la sumatoria está entre 3 y 5 puntos al cual se le asignará el número 1, grado 2 si la sumatoria está entre 6 y 7 puntos al cual se le asignara el número 2 y grado 3 si la sumatoria está entre 8 y 9 puntos al cual se le asignará el número 3.

12. La escala de Van Nuys consta de dos variables: A. Grado nuclear , se le asignará el número 1 para bajo grado nuclear, 2 para grado intermedio y 3 para alto grado; B. Necrosis, Se le asignara el número 1 si se encuentra presente y 2 si está ausente; C. El grado histológico, el grupo 1 o de bajo grado comprende aquellos con grado nuclear bajo o intermedio sin necrosis, el grupo 2 o de grado intermedio comprende aquellos con grado nuclear bajo o intermedio y necrosis y el grupo 3 o de alto grado incluye alto grado nuclear con o sin necrosis, se le asignara el número 1 para el grupo 1 o de bajo grado, el número 2 para el grupo 2 o de grado intermedio y el número 3 para el grupo de alto grado.

13. Carcinoma de otras variantes específicas, en caso de ser encontradas: Se le asignará el número 1 para el lobulillar, el número 2 para el tubular, el número 3 para el medular, el número 4 para el mucinoso, el número 5 para el escamoso, el número 6 para el papilar, el número 7 para el adenoide quístico, el número 8 para el secretor, el número 9 para el apocrino y 10 para otrasvariantes.

8. ANÁLISIS DE FACTIBILIDAD Y PRESUPUESTO

RECURSO HUMANO: El grupo investigador está conformado por la Doctora Mariam Carolina Rolóm, la Doctora Elvira Castro de Pabón y la Doctora Rita María Páez Trujillo.

TIEMPO: Se ha calculado un tiempo de 24 meses para la ejecución del proyecto iniciando en Julio de 2002 y terminando en Junio de 2004. (Ver cronograma adjunto).

RECURSO FINANCIERO: Se realizará con los medios que dispone el investigador y el Departamento de Patología del Instituto Nacional de Cancerología. Para realizar el análisis financiero, se elaboró el siguiente presupuesto:

PRESUPUESTO

RECURSO HUMANO	NÚMERO	HORAS DEDICADAS	VALOR TOTAL	ASUMIDO POR
Director del proyecto	1	400	MD en formación	MD en formación
Asesor científico	1	100	\$1.687.475	INC
Asesor epidemiología	1	100	\$1.687.475	INC
VALOR TOTAL RECURSO HUMANO			\$3.374.950	INC
INMUNOHISTOQUÍMICA Código laboratorio de patología 20105 x 8 (\$30.800 x 8)	36		\$8.870.400	INC
GASTOS DE OFICINA			\$1.200.000	MD en formación
GASTOS INDIRECTOS			PENDIENTE	
VALOR TOTAL DEL PROYECTO			\$13.445.350	

El valor de kit de CK7 y CK20 marca Dako, que incluyen: suero normal, suero de enlace secundario y peroxidasa – antiperoxidasa tiene un costo de \$ 790.000 cada uno; alcanza para la realización de 1.000 pruebas por kit.

El valor de las coloraciones de histoquímica e inmunohistoquímica se calculó en el presupuesto a tarifas del manual tarifario, sin embargo, el costo real es mucho menor si tenemos en cuenta el valor en el mercado de los kits utilizados y que el I.N.C. no necesita adquirirlos porque se utilizarán existencias próximas a vencerse de los reactivos de CK7 y CK20.

Los gastos de asesoría científica, epidemiológica y los marcadores de inmunohistoquímica serán asumidos por el Instituto Nacional de Cancerología como parte de las actividades académicas e investigativas que se llevan a cabo en los programas de postgrado, sin que esto implique gastos adicionales por parte del I.N.C. ; los gastos de oficina serán asumidos por la médica en formación en patología.

Al analizar los requerimientos de recurso humano, tiempo requerido y recursos financieros necesarios, y contando con el apoyo del INSTITUTO NACIONAL DE CANCEROLOGÍA el proyecto se considera factible para su completa ejecución.

10. BIBLIOGRAFIA y REFERENCIAS

1. Kao GF. Paget disease mammary. *eMedicine Journal*, Nov 1 2001, vol 2, number 11
2. Lloyd J, Flanagan A M. Mammary and extramammary Paget's disease. *J Clin Pathol* 2000; 53(10), 742-9
3. Watanabe S, Ohnishi T, Takahashi H, Ishibashi Y. A comparative study of cytokeratin expression in Paget cells located at various sites. *Cancer* 1993;72(11),3323-30
4. Kohler S, Rose R V, Smoller B R. The differential diagnosis of pagetoid cells in the epidermis. *Mod Pathol* 1998--Abstracts;11,79
5. Guldhammer B, Norgaard T. The differential diagnosis of intraepidermal malignant lesions using immunohistochemistry. *Am J Dermatopathol* 1986--Abstracts;8(4),295
6. Shah K D, Tabibzadeh S S, Gerber M A. Immunohistochemical distinction of Paget's disease from Bowen's disease and superficial spreading Melanoma with the use of monoclonal cytokeratin antibodies. *Am J Clin Pathol* 1987; 88, 689-695
7. Zeng Z, melamed J, Symmans P, Cangiarella J, Shapiro R, Peralta H, Symmans F. Bening proliferative nipple duct lesions frequently contain CAM 5.2 and anti-cytokeratin 7 immunoreactive cells in the overlying epidermis. *Am J Surg Pathol* 1999; 23(11), 1349-1355
8. Yao D X, Hoda S A, Chiu A, Ying L & Rosen. Intraepidermal cytokeratin 7 immunoreactive cells in the non-neoplastic nipple may represent interepithelial extension of lactiferous duct cells. *Histopathology* 2002; 40, 230-236.
9. Mai K T. Morphological evidence for field effect as a mechanism for tumor spread in mammary Paget's disease. *Histopathology* 1999; 35, 567-576
10. Lundquist K, Kohler S, Rouse R V. Intraepidermal Cytokeratin 7 expression is not restricted to paget cells but is also seen in toker cells and merkel cells. *Am J Surg Pathol* 1999, 23(2), 212-219
11. Cohen C, Guarner J, DeRose P B. Mammary Paget's disease and associated carcinoma. An immunohistochemical study. *Arch Pathol Lab Med* 1993;117(3),291-4
12. Kariniemi A L, Forsman L, Wahlstrom T, Vesterinen E, Andersson L. Expression of differentiation antigens in mammary and extramammary Paget's disease. *Br J Dermatol* 1984--Abstracts;110(2),203-10
13. Mori O, Hachisuka H, Sasai Y. Immunohistochemical demonstration of epithelial membrane antigen (EMA), carcinoembryonic antigen (CEA), and keratin on mammary and extramammary Paget's disease. *Acta Histochem* 1989--Abstracts;85(1),93-100
14. Ordoñez N G, Awalt H, Mackay B. Mammary and extramammary Paget's disease. An immunocytochemical and ultrastructural study. *Cancer* 1987;59(6),1173-83
15. Smith K J, Tuur S, Corvette D, Lupton G P, Skelton H G. Cytokeratin 7 staining in mammary and extramammary Paget's disease. *Modern Pathology* 1997--Abstracts: 10(11)1069
16. Inokuchi K, Sasai Y. Histochemical analysis of sialomucin in the Paget cells of mammary and extramammary Paget's disease. *Acta Histochem* 1992--Abstracts;92(2),216-23

17. Tavassoli F. Pathology of the breast. 2ed. Appleton-Lange. 1999. Chapter 14. Pp 731-741
18. Hitchcock A, Topham S, Bell J, Elston C W, Ellis I O. Routine diagnosis of mammary Paget's disease. The American Journal of Surgical Pathology 1992;16 (1):58-61
19. Gómez M. D. Tratamiento quirúrgico conservador de la enfermedad de Paget en el seno. Instituto Nacional de Cancerología; Bogotá 1997
20. Holleb A, Braun M. Classics in oncology. American Cancer Society. 1987:73-5
21. Abaunza, Facs, Andrade. Enfermedad de Paget del pezón. Revista Colombiana de Cirugía. 1995; 10(3),153-157
22. Rosen PP. Paget's disease of the nipple. In Rosen's breast pathology. 2nd edn. Philadelphia: Lippincott-Raven, 2001;565-580.
23. Rosse P. Obermaud S. Tumors of the mammary Gland. Atlas of tumor Pathology, 3rd series, Fascicle 7. Washington, DC. Armed Forces Institute of Pathology, 1993. Chapter 12. Pp 266-270
24. Robledo J. F, Gómez E J. Enfermedad de Paget del seno. Instituto Nacional de Cancerología; Bogotá 1987
25. Sahoo S, Green I, Rosen PP. Bilateral paget disease of the nipple associated with lobular carcinoma in situ. Arch Pathol Lab Med 2002; 126(1),90-2
26. Martin VG, Pelletiere EV, Gress D, Miller AW. Paget's disease in an adolescent arising in a supernumerary nipple. J Cutan Pathol. 1994 Jun--Abstracts;21(3):283-6
27. Elder D, Elenitsas R, Jaworsky C, Johnson B. Lever Histopathology of the skin. Eighth Edition. Philadelphia: Lippincott Raven, 2000 Chapter 30. Pp 734-736
28. Dabbs DJ. Diagnostic immunohistochemistry. Churchill Livingstone. 2002. Chapter 17. Pp 544-5
29. Vanstapel M, Gatter K C, De Wolf-Peeters C, Millard P R, Desmet V J & Mason D Y. Immunohistochemical study of mamma and extra-mammary aget's disease. Histopathology 1984;8,1013-1023
30. Silverstein M. Ductal carcinoma in situ of the breast. Fortnightly review. Brithish Medical Journal 1998;317:734-9
31. The consensus conference committee. Consensus conference on the classification of ductal carcinoma in situ. Cancer November 1, 1997/ volume 80 / number 9/ Pp 1798-1802
32. Silverstein M, Poller D, Waisman J, Colburn W, Barth A, Gierson E, Lewinsky, Gamagami P, Slamon D. Prognostic classification of breast ductal carcinoma in situ. The Lancet 1995;345:1154-57
33. Douglas_Jones A G, Morgan JM, Appleton MAC, Attanoos RL, Caslin A, Champ CS. Consistency in the observation of features used to classify duct carcinoma in situ (DCIS) of the breast. J Clin Pathol 2000;53:596-602
34. Douglas_Jones AG, Logan J, Morgan JM, Johnson R, Williams R. Effect of margins of excision on recurrence after local excision of ductal carcinoma in situ of the breast. J. Clin Pathol 2002;55:581-586
35. Sternberg S. Diagnostic Surgical Pathology. Third ed 1999, Chapter 9

ANEXO 2

VALORACIÓN DE LA REACTIVIDAD PARA CK7, CK20 Y PAS EN ENFERMEDAD DE PAGET MAMARIA Y GRADUACION DEL CARCINOMA MAMARIO SUBYACENTE EN EL INC

INSTRUCTIVO PARA EL DILIGENCIAMIENTO DEL FORMATO DE RECOLECCIÓN DE DATOS

1. NÚMERO DEL PROTOCOLO:

Los protocolos externos (quirúrgicos, biopsias o láminas histológicas que lleguen al I.N.C, remitidas de otras instituciones) están constituidos por la letra M y 6 dígitos, los dos últimos corresponden al año en que fue recibido el espécimen. Por ejemplo: M2103-00. Los protocolos de intervenciones realizadas en el I.N.C. constan de 6 dígitos, siendo los dos últimos correspondientes al año en que fue procesado. Por ejemplo: 6570-00. Coloque en la casilla “NUMERO DEL PROTOCOLO”, de acuerdo con lo antes enunciado.

2. PRESENCIA DE CARCINOMA MAMARIO SUBYACENTE.

1. Con tumor subyacente
2. Sin tumor subyacente.

3. REACTIVIDAD PARA CITOKERATINA 7 DE LAS CÉLULAS DE PAGET.

Consta de dos variables:

- A. Intensidad: Marque el número 1 si es fuertemente positiva, el número 2 si es débilmente positiva y 3 si es negativa. Lo anterior valorado contra un control interno.
- B. Extensión: Marque el número 1 si es < del 30%, el número 2 si está entre 31 – 60% y el número 3 si es > del 61%.

4. REACTIVIDAD PARA CITOKERATINA 7 DE LAS CÉLULAS TUMORALES EN EL CARCINOMA SUBYACENTE, SI EXISTE. Consta de dos variables:

- A. Intensidad: Marque el número 1 si es fuertemente positiva, el número 2 si es débilmente positiva y 3 si es negativa. Lo anterior valorado contra un control interno.
- B. Extensión: Marque el número 1 si es < del 30%, el número 2 si está entre 31 – 60% y el número 3 si es > del 61%.

5. REACTIVIDAD PARA CITOKERATINA 20 DE LAS CÉLULAS DE PAGET.

Consta de dos variables:

- A. Intensidad: Marque el número 1 si es fuertemente positiva, el número 2 si es débilmente positiva y 3 si es negativa. Lo anterior valorado contra un control interno.

- B. Extensión: Marque el número 1 si es < del 30%, el número 2 si está entre 31 – 60% y el número 3 si es > del 61%.

6. REACTIVIDAD PARA CITOKERATINA 20 DE LAS CÉLULAS TUMORALES EN EL CARCINOMA SUBYACENTE, SI EXISTE. Consta de dos variables:

- A. Intensidad: Marque el número 1 si es fuertemente positiva, el número 2 si es débilmente positiva y 3 si es negativa. Lo anterior valorado contra un control interno.
B. Extensión: Marque el número 1 si es < del 30%, el número 2 si está entre 31 – 60% y el número 3 si es > del 61%.

7. REACTIVIDAD PARA PAS SIN DIASTASA DE LAS CÉLULAS DE PAGET. Consta de dos variables: intensidad y extensión.

- A. Intensidad: Marque el número 1 si es fuertemente positiva, el número 2 si es débilmente positiva y 3 si es negativa. Lo anterior valorado contra un control interno.
B. Extensión: Marque el número 1 si es < del 30%, el número 2 si está entre 31 – 60% y el número 3 si es > del 61%.

8. REACTIVIDAD PARA PAS SIN DIASTASA DE LAS CÉLULAS TUMORALES EN EL CARCINOMA SUBYACENTE, SI EXISTE. Consta de dos variables: intensidad y extensión.

- A. Intensidad: Marque el número 1 si es fuertemente positiva, el número 2 si es débilmente positiva y 3 si es negativa. Lo anterior valorado contra un control interno.
B. Extensión: Marque el número 1 si es < del 30%, el número 2 si está entre 31 – 60% y el número 3 si es > del 61%.

9. REACTIVIDAD PARA PAS CON DIASTASA DE LAS CÉLULAS DE PAGET. Consta de dos variables: intensidad y extensión.

- A. Intensidad: Marque el número 1 si es fuertemente positiva, el número 2 si es débilmente positiva y 3 si es negativa. Lo anterior valorado contra un control interno.
B. Extensión: Marque el número 1 si es < del 30%, el número 2 si está entre 31 – 60% y el número 3 si es > del 61%.

10. REACTIVIDAD PARA PAS CON DIASTASA DE LAS CÉLULAS TUMORALES EN EL CARCINOMA SUBYACENTE, SI EXISTE. Consta de dos variables: intensidad y extensión.

- A. Intensidad: Marque el número 1 si es fuertemente positiva, el número 2 si es débilmente positiva y 3 si es negativa. Lo anterior valorado contra un control interno.
B. Extensión: Marque el número 1 si es < del 30%, el número 2 si está entre 31 – 60% y el número 3 si es > del 61%.

11. ESCALA DE BLOOM RICHARDSON:

Consta de 4 ítems:

- A. Formación de túbulos: Coloque en la casilla los números 1, 2 ó 3 de acuerdo a la valoración histológica.

- B. Pleomorfismo nuclear: Coloque en la casilla los números 1, 2 ó 3 de acuerdo a la valoración histológica.
- C. Número de figuras mitóticas: Coloque en la casilla los números 1, 2 ó 3 de acuerdo a la valoración histológica.
- D. D. Grado histológico: Coloque grado 1, si la sumatoria de las tres casillas anteriores está entre 3 y 5 puntos; coloque grado 2 si la sumatoria está entre 6 y 7 puntos y coloque grado 3 si la sumatoria está entre 8 y 9 puntos.

12. LA ESCALA DE VAN NUYS consta de dos variables:

- A. Grado nuclear , se le asignará el número 1 para bajo grado nuclear, 2 para grado intermedio y 3 para alto grado
- B. Necrosis, Se le asignara el número 1 si se encuentra presente y 2 si está ausente
- C. El grado histológico: se le asignara el número 1 para el grupo 1 o de bajo grado, el número 2 para el grupo 2 o de grado intermedio y el número 3 para el grupo de alto grado.

13. CARCINOMA DE OTRAS VARIANTES ESPECÍFICAS, en caso de ser encontradas:

Se le asignará el número 1 para el lobulillar, el número 2 para el tubular, el número 3 para el medular, el número 4 para el mucinoso, el número 5 para el escamoso, el número 6 para el papilar, el número 7 para el adenoide quístico, el número 8 para el secretor, el número 9 para el apocrino y el número 10 para otros.

ANEXO 3

VALORACIÓN DE LA REACTIVIDAD PARA CK7, CK20 Y PAS EN ENFERMEDAD DE PAGET MAMARIA Y GRADUACION DEL CARCINOMA MAMARIO SUBYACENTE EN EL INC

ESCALA DE BLOOM RICHARDSON PARA LA GRADUACIÓN DE DIFERENCIACIÓN TUMORAL DEL CARCINOMA DUCTAL INFILTRANTE

(NOS)

I. FORMACIÓN DE TÚBULOS

- | | |
|-------------------|----------|
| A. MAYOR DEL 75%: | 1 PUNTO |
| B. DEL 10 AL 75%: | 2 PUNTOS |
| C. MENOS DEL 10%: | 3 PUNTOS |

II. PLEOMORFISMO NUCLEAR

- | | |
|--------------------------------|----------|
| A. NÚCLEO UNIFORME PEQUEÑO: | 1 PUNTO |
| B. MODERADA VARIACIÓN NUCLEAR: | 2 PUNTOS |
| C. MARCADA VARIACIÓN NUCLEAR: | 3 PUNTOS |

III. NÚMERO DE FIGURAS MITÓTICAS (FM)

- | | |
|----------------------------|----------|
| A. 0 a 7 FM EN 10 HPF: | 1 PUNTO |
| B. 8 a 15 FM EN 10 HPF: | 2 PUNTOS |
| C. MÁS DE 16 FM EN 10 HPF: | 3 PUNTOS |

GRADO HISTOLÓGICO:

- I. 3 A 5 PUNTOS: BIEN DIFERENCIADO
- II. 6 A 7 PUNTOS: MODERADAMENTE DIFERENCIADO
- III. 8 A 9 PUNTOS: POBREMENTE DIFERENCIADO

ANEXO 4

VALORACIÓN DE LA REACTIVIDAD PARA CK7, CK20 Y PAS EN ENFERMEDAD DE PAGET MAMARIA Y GRADUACION DEL CARCINOMA MAMARIO SUBYACENTE EN EL INC

ESCALA DE VAN NUYS PARA LA GRADUACIÓN DE DIFERENCIACIÓN TUMORAL DEL CARCINOMA DUCTAL IN SITU

I. GRADO NUCLEAR

GRADO I: núcleo 1,0 – 1,5 diámetro de un eritrocito con cromatina difusa y nucleolo inaparente

GRADO II: núcleo 1,0 – 2,0 diámetro de un eritrocito con cromatina en grumos y nucleolo infrecuente

GRADO III: núcleo > 2,0 diámetro de un eritrocito con cromatina vesicular y uno o más nucleolos

II. NECROSIS

A. PRESENTE: presencia de detritos celulares eosinofílicos que contengan cinco o más núcleos picnóticos.

A. AUSENTE: ausencia de detritos celulares eosinofílicos que contengan cinco o más núcleos picnóticos.

GRADO HISTOLÓGICO:

I. BAJO GRADO: grado nuclear bajo o intermedio sin necrosis

II. GRADO INTERMEDIO: grado nuclear bajo o intermedio con necrosis

III. ALTO GRADO: alto grado nuclear con o sin necrosis

Instituto Nacional de Cancerología



INC002735