

La composición del reactivo de Burton, para 100 ml., es la siguiente:

- Difenilamina (Merck): 1,5g.
- Acido acético (Merck): 98 ml.
- Acido sulfúrico 95% (Merck): 1,5 ml.
- Acetaldehido (solución madre 16 mg/ml, Merck): 500 μ l.

2.4.4. Ensayo de receptores de estrógenos (RE) y de receptores de progesterona (RP) en células intactas.

Para la medida de los niveles intracelulares de receptores de estrógenos (RE) y de receptores de progesterona (RP) hemos utilizado el método de ensayo en células intactas cuya aplicación a líneas celulares cultivadas en monocapa (70) o en suspensión (300) se ha desarrollado previamente en nuestro departamento.

El procedimiento realizado ha sido el siguiente:

Sobre 40 discos Petri de 3 cm de diámetro se adicionan partes alicuotas de 1,5 ml de una suspensión celular en MEM + FCS que contiene entre $2-3 \times 10^4$ células/ml. Transcurridas 24 horas de cultivo para que las

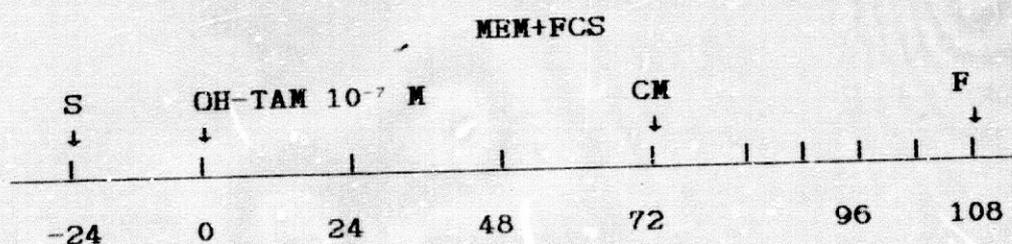
células se adhieran al soporte e inicien su crecimiento exponencial, se suplementa el medio de cultivo con 0,5 ml de una disolución, en MEM + FCS, de OH-TAM 4×10^{-7} M (concentración final de OH-TAM en el medio 10^{-7} M) y se mantiene el cultivo durante 72 horas. Finalizado este periodo, se sustituye el medio de cultivo por otro que contiene MEM + FCS \pm 17- β -E₂ \pm EGF que se deja actuar durante tiempos variables comprendidos entre 0 y 30 horas. La determinación de RE o RP se realiza tras la aspiración del medio nutriente, adicionando sobre cada disco una disolución en MEM, de hormona marcada (17- β -E₂-³H u ORG-2058-³H de 95 Ci/mMol y 87 Ci/mMol de actividad específica respectivamente) a las siguientes concentraciones: 5×10^{-9} , $2,5 \times 10^{-9}$, $1,25 \times 10^{-9}$, $7,5 \times 10^{-10}$ y 5×10^{-10} M. La determinación de los enlaces no específicos se efectúa mediante un experimento paralelo en el que sobre la solución de hormona marcada se añade una cantidad 500 veces superior de la misma sustancia no marcada. La hormona fría compite con la marcada para saturar los sitios específicos de unión con el receptor. El enlace específico se deduce de la diferencia entre unos y otros discos. Cada concentración se ensaya por cuadruplicado.

Tras incubar durante una hora a 37°C y para extraer las hormonas incorporadas a las células, se aspira la solución y el tapiz celular se trata con

1-2 ml de etanol absoluto durante 20 minutos a temperatura ambiente. Una alícuota de esta solución se somete a conteo utilizando 4 ml de mezcla centelleadora Normascint (Scharlau). Los resultados obtenidos mediante la transformación de Scatchard se ajustan por el procedimiento de mínimos cuadrados y, finalmente, se deducen los parámetros de capacidad de enlace máxima (fmol/ μ g DNA) y de constante de asociación (M/l)

2.4.5. Cinética de proliferación de la población celular MCF-7.

El estudio de la cinética de proliferación de la población celular MCF-7 en condiciones de sincronización parcial de los elementos celulares presentes en el cultivo, se ha llevado a cabo utilizando el procedimiento que se esquematiza a continuación:



CM = CAMBIO DE MEDIO.

S = SIEMBRA.

F = FINAL DE LA EXPERIENCIA.

Para realizar el experimento se sembraron 27 discos de 3 cm de diámetro con 5×10^5 células en 1,5 ml de MEM + FCS. Transcurridas 24 horas (tiempo 0 en el esquema) se adiciona a cada disco 0,5 ml de una solución de OH-TAM 4×10^{-7} M en MEM (concentración final de OH-TAM en el disco 10^{-7} M). Por acción del antiestrógeno las células se estancan en la fase G₀-G₁ del ciclo celular. Tras 72 horas, el medio nutriente se separa por aspiración y se sustituye por MEM + FCS fresco. La proliferación celular se cuantifica en términos de DNA a partir de las 12 horas del cambio de medio, a intervalos de 6 horas, hasta completar las 108 horas de subcultivo. Cada determinación de DNA se realiza por triplicado.

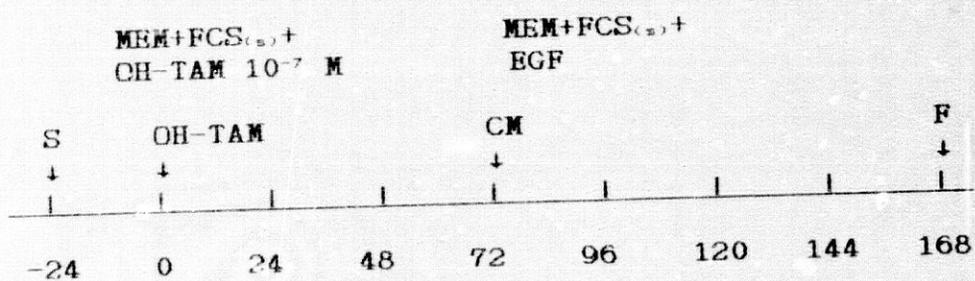
2.4.5.1. Efecto del suero fetal, tratado con carbón-dextrano, sobre el crecimiento de las células MCF-7.

Utilizando el mismo esquema que se ha descrito en el apartado anterior, hemos evaluado la acción del suero de feto de ternera tratado con carbón-dextrano, para eliminar los estrógenos (FCS₀), sobre el crecimiento de células MCF-7 sincronizadas. El número de discos utilizado, la densidad de siembra conseguida, la adición de OH-TAM, los cambios de medio y la obten-

ción de resultados fueron, en todo, semejantes a las condiciones de realización del experimento anterior.

2.4.5.2. Influencia del EGF sobre el crecimiento de la línea MCF-7.

Utilizando suero fetal de ternera tratado con carbón-dextrano (FCS_(s)), hemos investigado la acción del EGF sobre el ritmo mitógeno de células MCF-7 sincronizadas. Para ello se ha desarrollado el procedimiento experimental que se esquematiza a continuación:



CM = CAMBIO DE MEDIO.

S = SIEMERA.

F = FINAL DE LA EXPERIENCIA.

La acción del EGF se estudió a tres concentraciones diferentes (1, 10 y 100 ng/ml) y los resultados

se compararon con los obtenidos en un grupo experimental en el que el rescate se realiza con MEM + FCS, sin suplemento de EGF.

Cada grupo experimental requirió la siembra de 30 discos de 3 cm de diámetro (la determinación de DNA, a las 0, 72, 96, 120, 144 y 168 horas del inicio del experimento se realiza por quintuplicado). La densidad de siembra inicial fue de 6×10^5 células/ml.

2.4.5.3. Crecimiento de células MCF-7 en presencia de EGF. Influencia de los estrógenos endógenos.

Para estudiar comparativamente la acción del EGF en presencia y en ausencia de estrógenos procedentes del suero de feto de ternera (FCS) en el medio nutriente, hemos realizado una experiencia paralela en la que sobre cajas T-25 se cuantificó el número de células en función del tiempo en dos condiciones experimentales distintas:

a) Utilizando como medio de rescate de la población celular MCF-7 sometida a OH-TAM 10^{-7} M, MEM + FCS + EGF (10 ng/ml).

b) Empleando MEM + FCS_{cs} + EGF (10 ng/ml).

FCS_{cs} significa suero de feto de ternera tratado "in vitro" con carbón-dextrano para separar por absorción los estrógenos. Las cajas T-25 se sembraron con 4 ml de una suspensión celular que contenía aproximadamente 10^6 células/ml. Cada determinación de DNA se realizó por triplicado y los puntos experimentales se obtuvieron a las 72, 96, 120 y 144 horas de subcultivo. El valor de 72 horas corresponde al final del tratamiento con OH-TAM 10^{-7} M, mientras que los puntos siguientes recogen la cinética de proliferación de MCF-7 tras el rescate.

2.4.5.4. Cinética de proliferación celular MCF-7 en ausencia de FCS. Efecto del EGF.

La evolución respecto al tiempo de la cantidad de DNA presente en los cultivos de MCF-7 tratados con OH-TAM 10^{-7} M, durante 72 horas y "rescatados" con MEM + EGF (EGF en concentraciones de 1, 10 y 100 ng/ml) se investigó utilizando discos de 3 cm de diámetro, determinándose el DNA a las 72, 96, 120 y 144 horas del inicio del experimento. Cada punto experimental se ensayó por quintuplicado. Los resultados obtenidos se han comparado con los observados en un cultivo de MCF-7

realizado en paralelo, en el que el medio de rescate lo constituye la combinación de MEM con 10 % de FCS(s).

2.4.6. Incorporación de precursores marcados a células MCF-7.

Sobre una población celular de MCF-7 tratada con OH-TAM 10^{-7} M durante 96 horas y a continuación "rescatada" con diferentes medios, se ha medido la incorporación de timidina utilizando el método descrito en nuestro laboratorio (301).

Las células se incuban en medio MEM no suplementado con suero de feto de ternera (FCS) y que contiene la cantidad de timidina radiactiva ($^3\text{HTdR}$) requerida para el ensayo ($1 \mu\text{Ci/ml}$). El tiempo de exposición de las células al precursor marcado ha sido de 1 hora y el resto de las etapas de procedimiento pueden ser sistematizadas en la forma siguiente:

Transcurrido el periodo de exposición, las células se lavan con una solución salina, se elimina el líquido de lavado y se trata el tapiz con ácido tricloroacético (TCA) al 5%, durante 30 minutos a la temperatura de 4°C . Este procedimiento se repite dos veces más y a continuación el tapiz se lava con etanol absoluto

que consigue la total eliminación de la $^3\text{HTdR}$ no enlazada al DNA y fija las células al soporte. Por último las células se someten a la acción del hidróxido sódico 1 N durante 45 minutos a 37°C con lo que se solubiliza todo el material celular residual de las etapas de lavado previas. Una alícuota de esta solución, previamente neutralizada, se somete a contaje utilizando como líquido de centelleo 4 ml de Normascint (Scharlau). El conocimiento del número de células, contenido en DNA y en proteínas, permite expresar los resultados de incorporación de timidina tritiada ($^3\text{HTdR}$) de una forma relativa (DPM de $^3\text{HTdR}$ /nº de células, DPM/ μg DNA o DPM/ μg de proteína).

Los grupos experimentales definidos por la composición del medio de rescate han sido los siguientes:

Grupo A: MEM + FCS.

Grupo B: MEM + FCS + EGF (10 ng/ml).

Grupo C: MEM + FCS_{cs}.

Grupo D: MEM + FCS_{cs} + EGF (10 ng/ml).

El ensayo de incorporación de $^3\text{HTdR}$ se inició tras la eliminación del OH-TAM 10^{-7} M (origen de tiempos en la experiencia) y continuó cada 6 horas tras el "rescate" hasta completar 36 horas. Cada punto experimental se ensayó por duplicado (cajas T-25) y se

sometieron a contaje dos muestras procedentes de cada caja.

2.4.7. Receptores de estrógenos y progesterona en diferentes fases del ciclo celular.

Para investigar la concentración de receptores de estrógenos (RE) y de progesterona (RP) en células MCF-7 en función de la fase del ciclo celular, hemos procedido a efectuar un tratamiento de sincronización de los cultivos, con OH-TAM 10^{-7} M durante 72 horas y rescate con diferentes medios. La determinación de RE y RP se llevó a cabo de acuerdo con la siguiente secuencia de tiempos: 0, 6, 12, 18, 24, 30 y 36 horas después de la eliminación del OH-TAM.

Los medios utilizados para el rescate definen cuatro grupos experimentales:

Grupo A: MEM + FCS.

Grupo B: MEM + FCS + EGF (10 ng/ml).

Grupo C: MEM + FCS_(s).

Grupo D: MEM + FCS_(s) + EGF (10 ng/ml).

En cada determinación de RE y RP se utilizaron 5 concentraciones de hormona marcada para definir el en-

lace total. La cuantificación de los enlaces no específicos se llevó a cabo realizando el ensayo, a las mismas concentraciones de hormona marcada, en presencia de un exceso de 500 veces de competidor frío. Cada punto experimental, enlace total y enlace no específico, se realiza por quintuplicado. El cálculo de la capacidad de enlace máxima y de la constante de asociación del enlace receptor-hormona, se llevó a cabo utilizando la transformación de Scatchard. Los resultados de B_{max} (en fmol) se han expresado, por último, tomando como referencia la cantidad de DNA presente en el cultivo (fmol/ μ g DNA).

RESULTADOS

III. RESULTADOS.

3.1. ESTIMACION DE LA PROBABILIDAD DE SUPERVIVENCIA GLOBAL Y SUPERVIVENCIA LIBRE DE ENFERMEDAD EN CANCER DE MAMA.

Los datos resultantes de la estimación de la probabilidad de supervivencia (P_s) y de la probabilidad de supervivencia libre de enfermedad (P_{se}) en relación a los distintos factores determinantes del pronóstico en cáncer de mama: tamaño tumoral, afectación linfática axilar, fenotipo receptorial, grado histológico de diferenciación y estadio clínico de la enfermedad se exponen en las Tablas III-1 a III-30.

Las curvas de supervivencia actuarial obtenidas en base a estos resultados aparecen en las Figuras 3.1 a 3.30.

TABLA III-1

SUPERVIVENCIA GLOBAL EN CANCER DE MAMA
GRUPO PRIMARIOS

INTERVALO (meses)	j	n _j	n' _j	δ _j	P _j	ERROR TIPICO
0-6	1	87	86	1	0,99	0,011
6-12	2	85	82	3	0,95	0,023
12-18	3	78	76	2	0,93	0,028
18-24	4	70	66	4	0,88	0,037
24-30	5	62	61	1	0,86	0,039
30-36	6	48	45	2	0,82	0,044
36-42	7	32	31	1	0,80	
42-48	8	18	17	1	0,75	
48-54	9	4	4	-	0,75	
>54	10	1	1	-	0,75	

CANCER DE MAMA
SUPERVIVENCIA GLOBAL
GRUPO PRIMARIOS

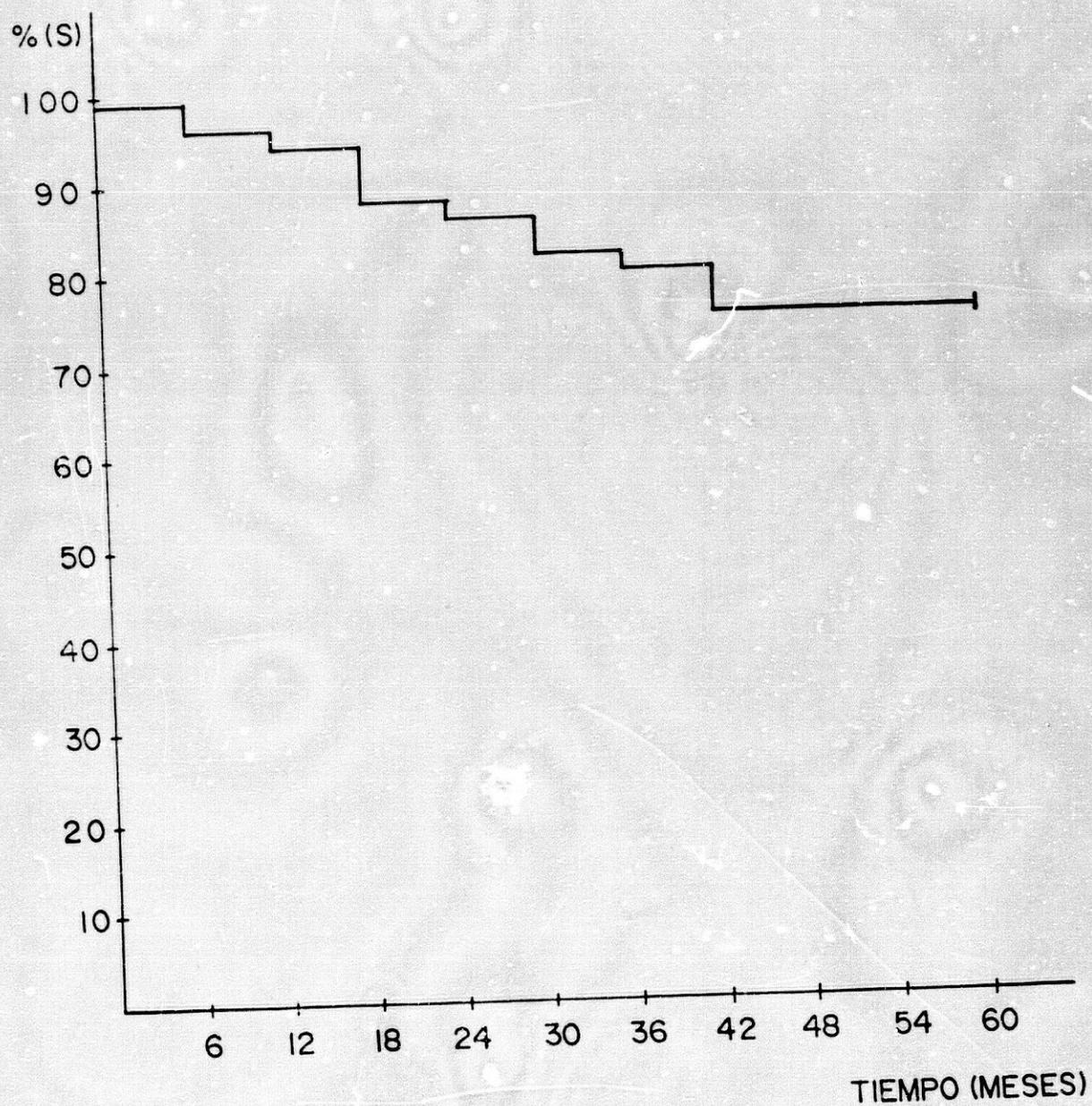


FIG.- 3.1.

TABLA III-2

SUPERVIVENCIA LIBRE DE ENFERMEDAD
GRUPO PRIMARIOS

INTERVALO (meses)	J	n _i	n' _i	δ _i	P _i	ERROR TIPICO
0-6	1	87	79	8	0,91	0,031
6-12	2	85	72	13	0,77	0,023
12-18	3	78	73	5	0,72	0,028
18-24	4	70	68	2	0,70	0,037
24-30	5	62	60	2	0,68	0,039
30-36	6	48	45	3	0,63	0,044
36-42	7	32	32	-	0,63	
42-48	8	18	18	-	0,63	
48-54	9	4	4	-	0,63	
>54	10	1	1	-	0,63	

CANCER DE MAMA
SUPERVIVENCIA LIBRE DE ENFERMEDAD
GRUPO PRIMARIOS

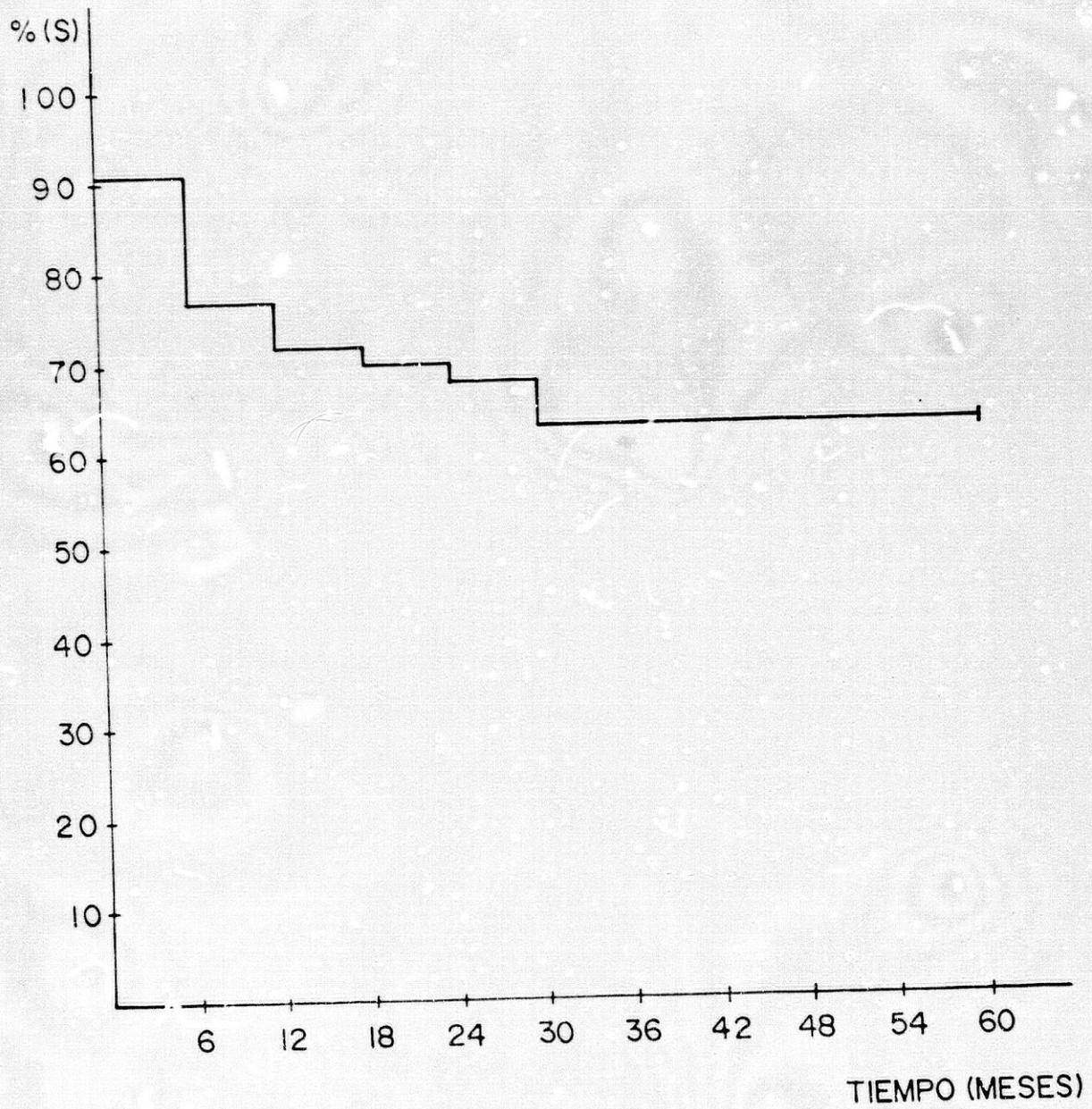


FIG.-3.2.

TABLA III-3

SUPERVIVENCIA GLOBAL,
TAMAÑO TUMORAL NO SUPERIOR A 5 CM.

INTERVALO (meses)	j	n _j	n' _j	δ _j	P _j	ERROR TIPICO
0-6	1	44	44	-	1,00	0,000
6-12	2	44	43	1	0,98	0,023
12-18	3	40	40	-	0,98	0,023
18-24	4	35	34	1	0,95	0,035
24-30	5	32	31	1	0,92	0,045
30-36	6	22	22	-	0,92	0,045
36-42	7	15	14	1	0,86	
42-48	8	8	8	-	0,86	
48-54	9	4	4	-	0,86	
>54	10	2	2	-	0,86	

CANCER DE MAMA
SUPERVIVENCIA GLOBAL
TAMAÑO TUMORAL NO SUPERIOR A 5 cm.

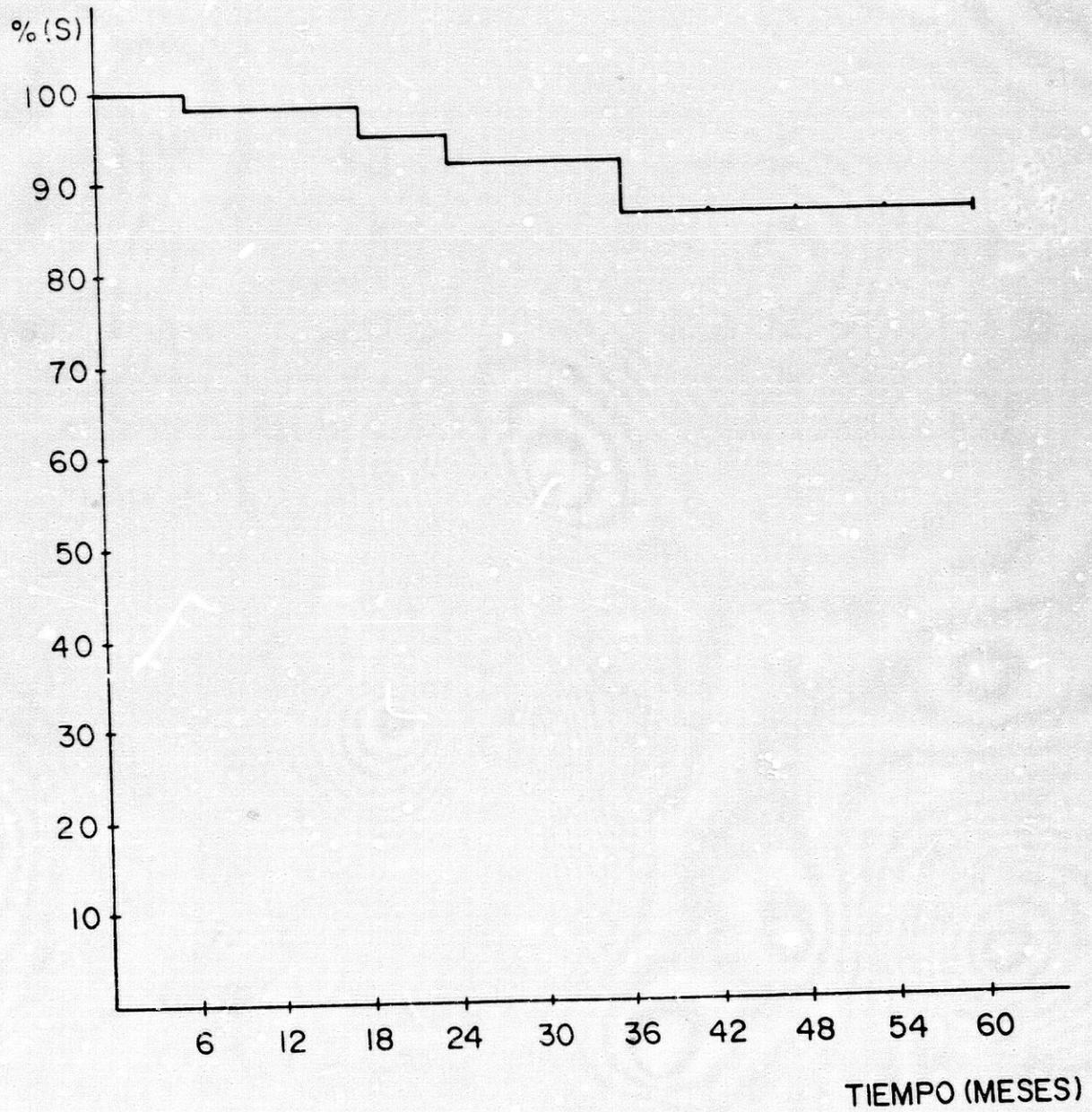


FIG.- 3.3.

TABLA III-4

SUPERVIVENCIA LIBRE DE ENFERMEDAD.
TAMANO TUMORAL NO SUPERIOR A 5 CM.

INTERVALO (meses)	J	n _j	n' _j	δ _j	P _j	ERROR TIPICO
0-6	1	44	42	2	0,95	0,031
6-12	2	44	37	7	0,80	0,059
12-18	3	40	40	-	0,80	0,059
18-24	4	35	35	-	0,80	0,059
24-30	5	32	32	-	0,80	0,059
30-36	6	22	19	3	0,69	0,077
36-42	7	15	15	-	0,69	
42-48	8	8	8	-	0,69	
48-54	9	4	4	-	0,69	
>54	10	2	1	1	0,69	

CANCER DE MAMA
SURVIVENCIA LIBRE DE ENFERMEDAD
TAMAÑO TUMORAL NO SUPERIOR A 5 cm.

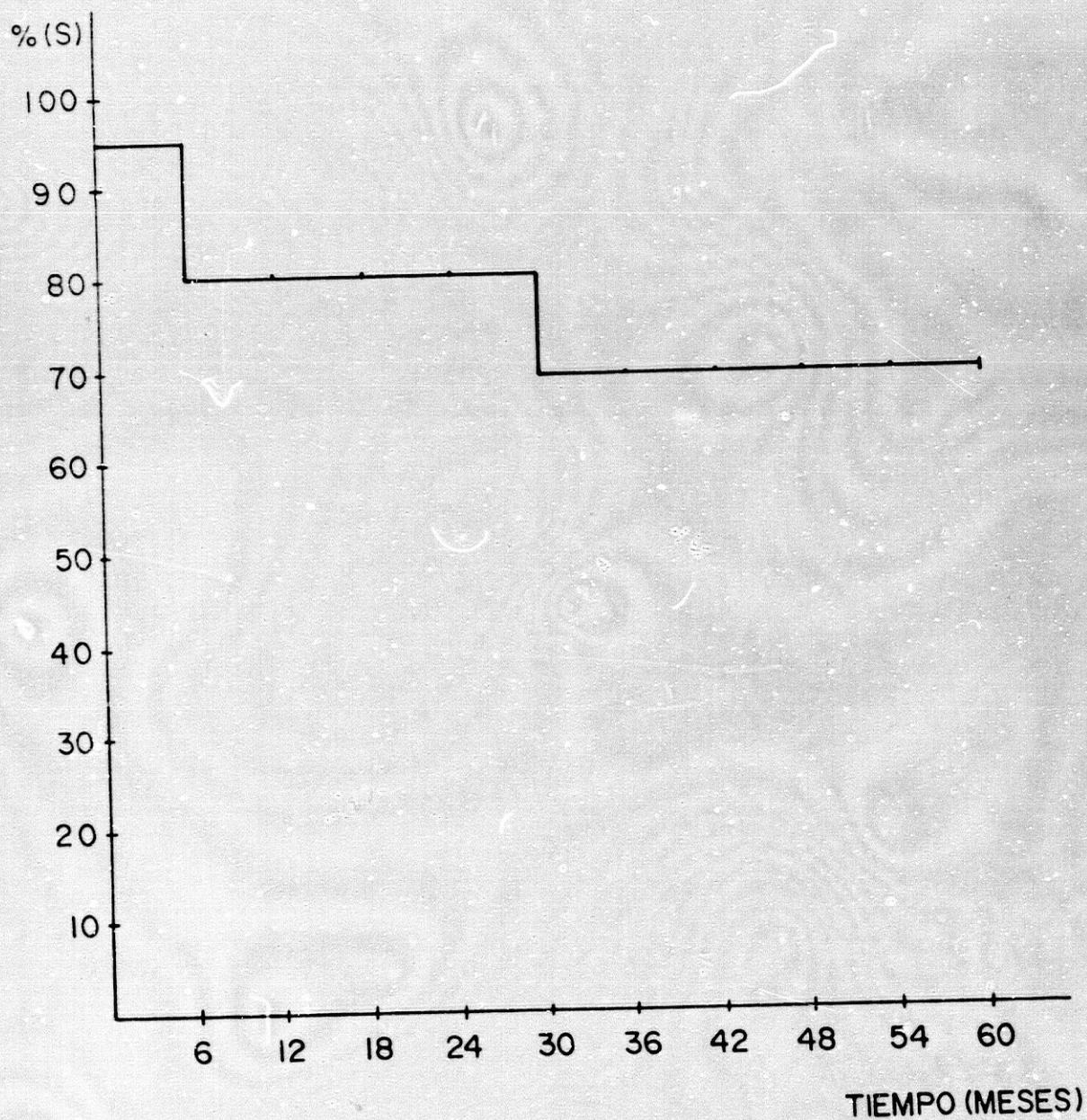


FIG.- 3.4.

TABLA III-5

SUPERVIVENCIA GLOBAL.
TAMAÑO TUMORAL SUPERIOR A 5 CM.

INTERVALO (meses)	j	n _j	n' _j	δ _j	P _j	ERROR TIPICO
0-6	1	42	41	1	0,98	0,024
6-12	2	40	35	5	0,85	0,055
12-18	3	35	33	2	0,81	0,062
18-24	4	32	29	3	0,73	0,070
24-30	5	27	27	-	0,73	0,070
30-36	6	23	21	2	0,67	0,077
36-42	7	16	15	1	0,62	
42-48	8	10	9	1	0,56	
48-54	9	2	2	-	0,56	
>54	10	1	1	-	0,56	

CANCER DE MAMA
SUPERVIVENCIA GLOBAL
TAMAÑO TUMORAL SUPERIOR A 5 cm.

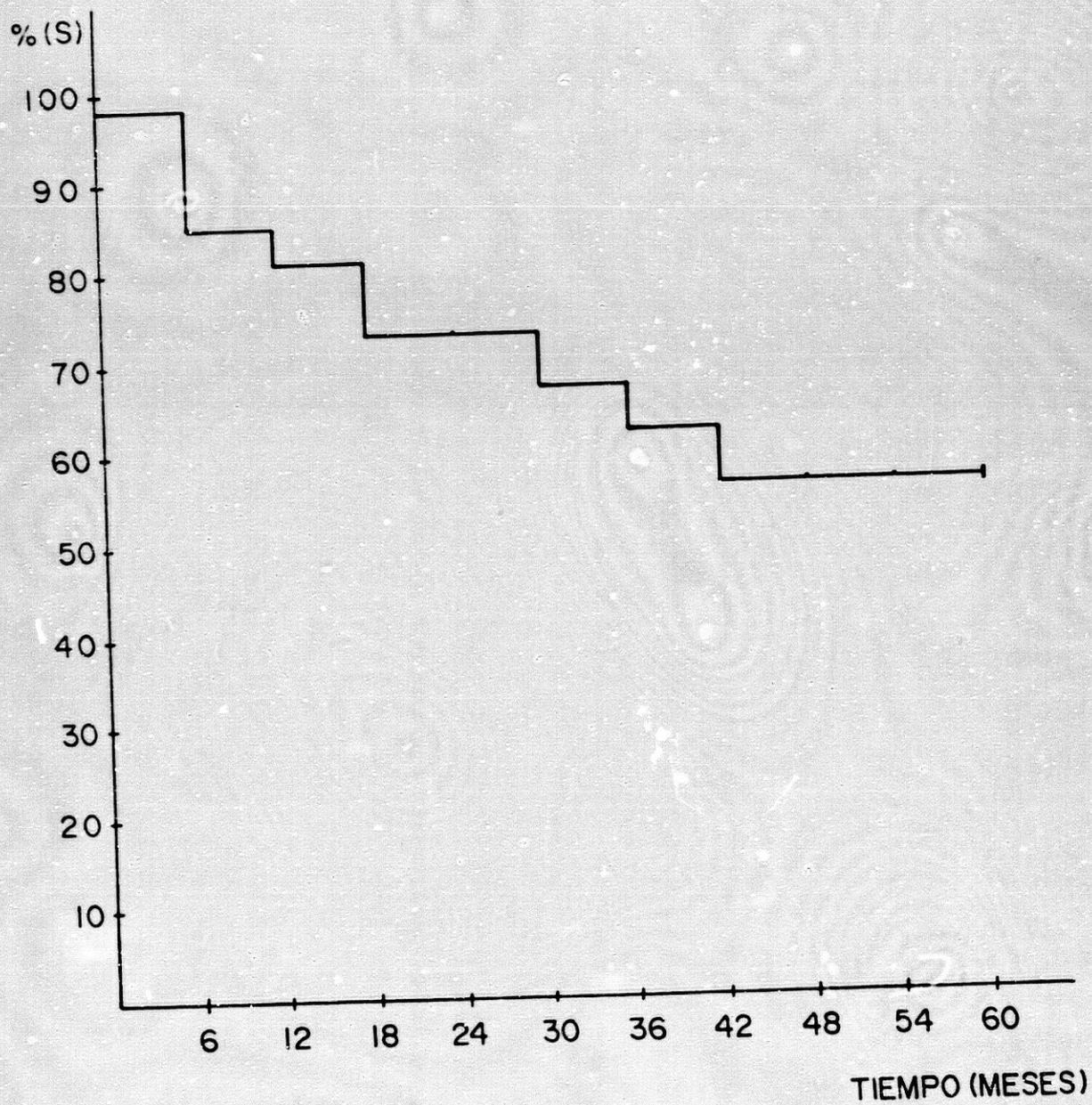


FIG.- 3.5.

TABLA III-6

SUPERVIVENCIA LIBRE DE ENFERMEDAD.
TAMAÑO TUMORAL SUPERIOR A 5 CM.

INTERVALO (meses)	J	n _i	n' _i	δ _i	P _i	ERROR TIPICO
0-6	1	42	34	8	0,81	0,061
6-12	2	40	33	7	0,67	0,070
12-18	3	35	30	5	0,57	0,071
18-24	4	32	31	1	0,55	0,071
24-30	5	27	25	2	0,51	0,071
30-36	6	23	21	2	0,47	0,072
36-42	7	16	16	-	0,47	
42-48	8	10	10	-	0,47	
48-54	9	2	2	-	0,47	
>54	10	1	1	-	0,47	

CANCER DE MAMA
SUPERVIVENCIA LIBRE DE ENFERMEDAD
TAMAÑO TUMORAL SUPERIOR A 5 cm.

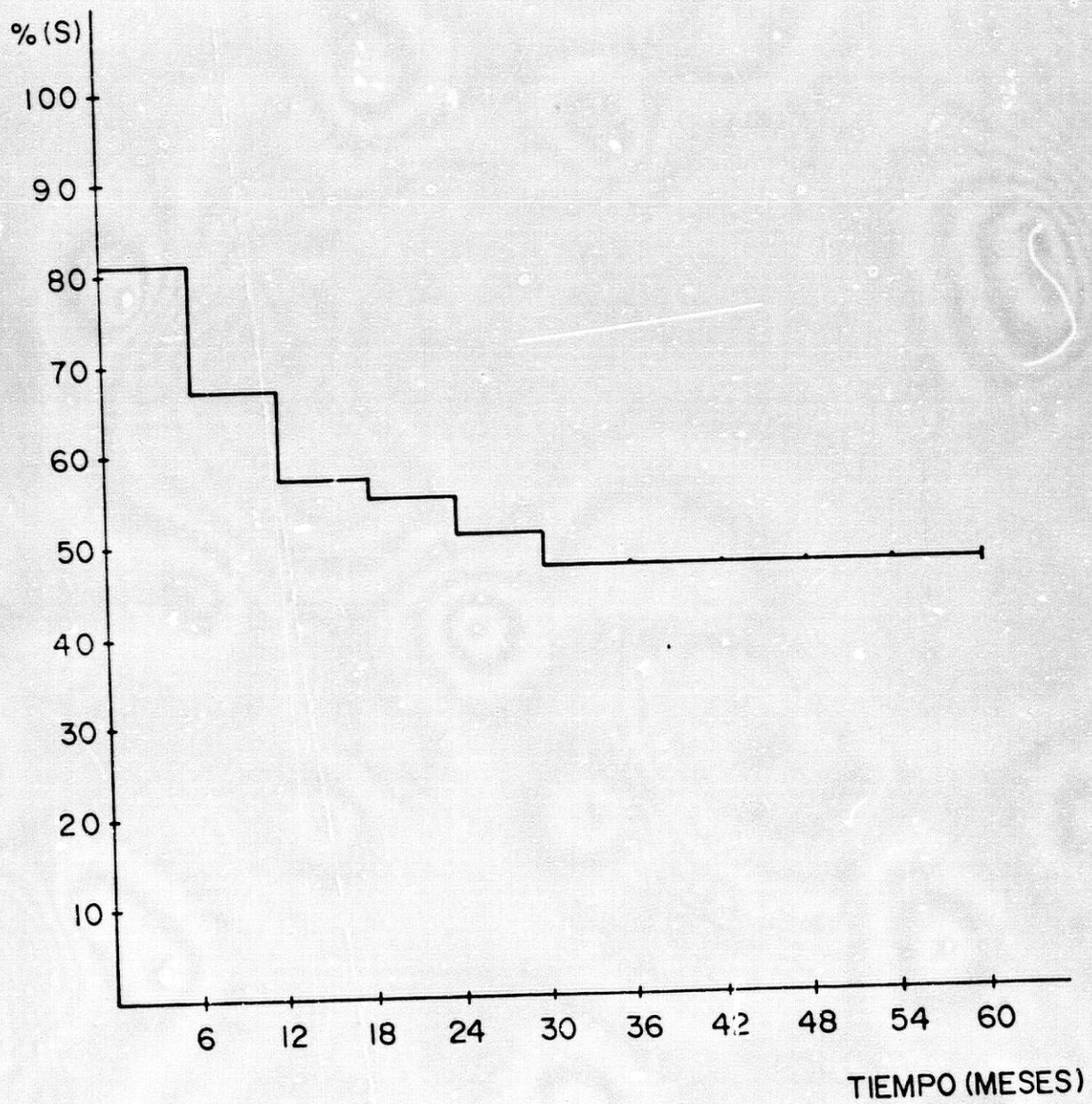


FIG.- 3.6.

TABLA III-7

SUPERVIVENCIA GLOBAL,
ESTADO AXILAR NEGATIVO.

INTERVALO (meses)	J	n _j	n' _j	δ _j	P _j	ERROR TIPICO
0-6	1	27	27	-	1,00	0,000
6-12	2	27	27	-	1,00	0,000
12-18	3	26	26	-	1,00	0,000
18-24	4	23	21	2	0,90	0,058
24-30	5	20	20	-	0,90	0,058
30-36	6	18	18	-	0,90	0,058
36-42	7	11	11	-	0,90	
42-48	8	7	7	-	0,90	
48-54	9	2	2	-	0,90	
>54	10	-	-	-	0,90	

CANCER DE MAMA
SUPERVIVENCIA GLOBAL
ESTADO AXILAR NEGATIVO

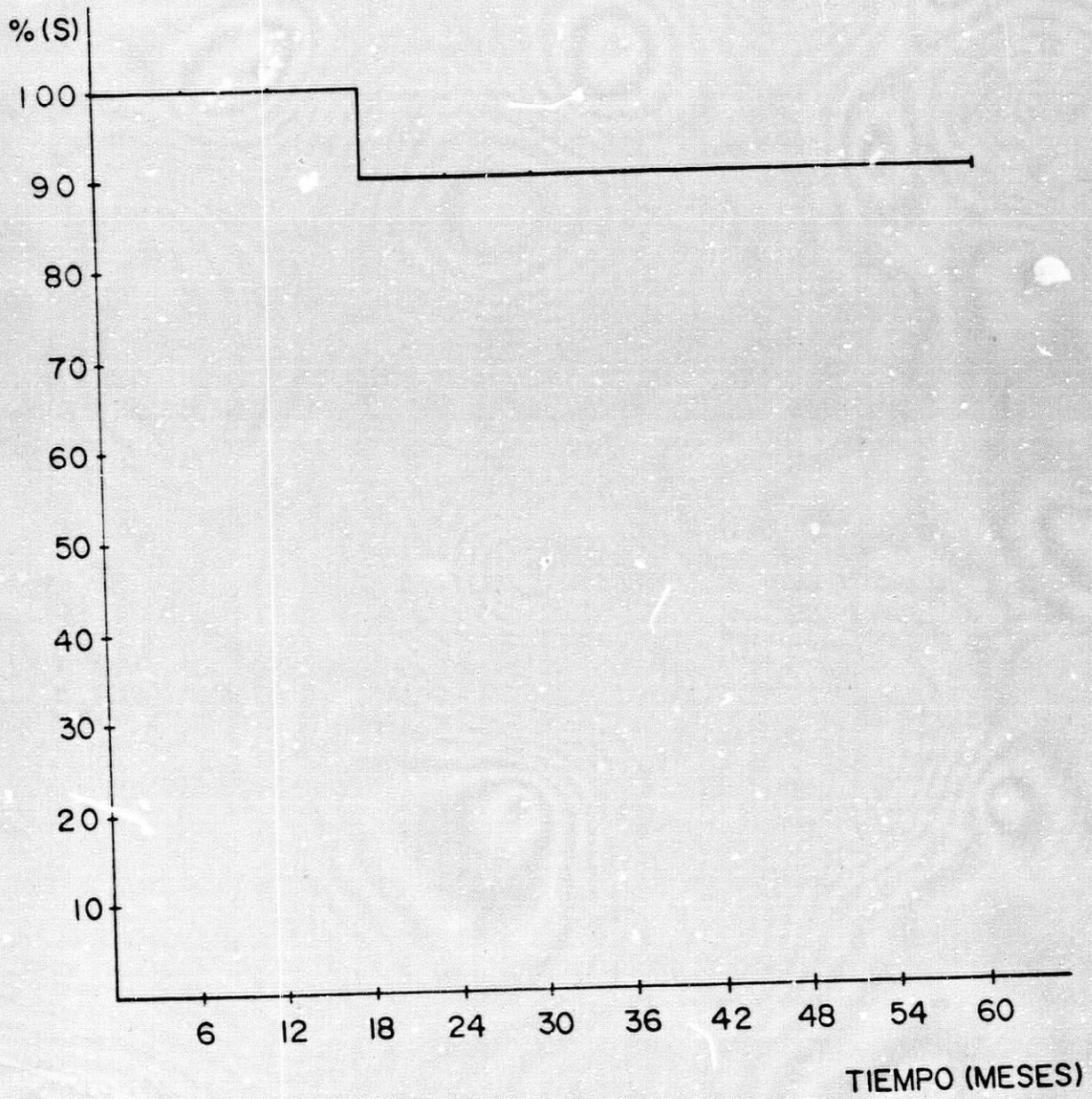


FIG.- 3.7.

TABLA III-8

SUPERVIVENCIA LIBRE DE ENFERMEDAD.
ESTADO AXILAR NEGATIVO.

INTERVALO (meses)	δ	n_i	n'_i	δ_i	P_i	ERROR TIPICO
0-6	1	27	27	-	1,00	0,000
6-12	2	27	25	2	0,93	0,051
12-18	3	26	25	1	0,89	0,060
18-24	4	23	22	1	0,85	0,068
24-30	5	20	20	-	0,85	0,068
30-36	6	18	18	-	0,85	0,068
36-42	7	11	11	-	0,85	
42-48	8	7	7	-	0,85	
48-54	9	2	2	-	0,85	
>54	10	-	-	-	0,85	

CANCER DE MAMA
SUPERVIVENCIA LIBRE DE ENFERMEDAD
ESTADO AXILAR NEGATIVO

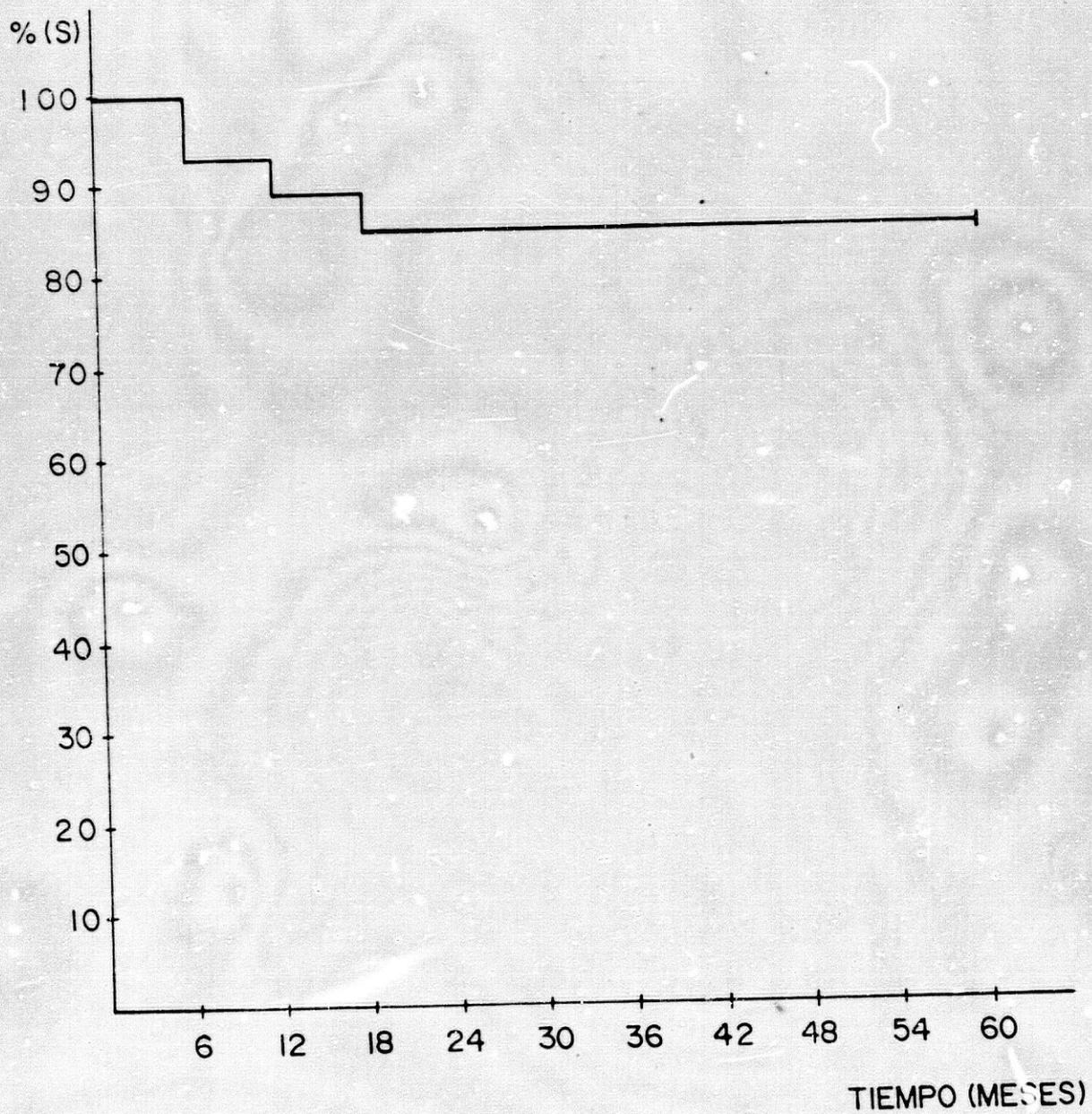


FIG.- 3.8.

TABLA III-9

SUPERVIVENCIA GLOBAL,
ESTADO AXILAR POSITIVO.

INTERVALO (meses)	j	n _j	n' _j	δ _j	P _j	ERROR TIPICO
0-6	1	49	49	-	1,00	0,000
6-12	2	49	46	3	0,94	0,034
12-18	3	44	43	1	0,92	0,040
18-24	4	41	39	2	0,87	0,049
24-30	5	36	36	-	0,87	0,049
30-36	6	27	27	-	0,87	0,049
36-42	7	20	19	1	0,83	
42-48	8	11	10	1	0,75	
48-54	9	2	2	-	0,75	
>54	10	1	1	-	0,75	

CANCER DE MAMA
SUPERVIVENCIA GLOBAL
ESTADO AXILAR POSITIVO

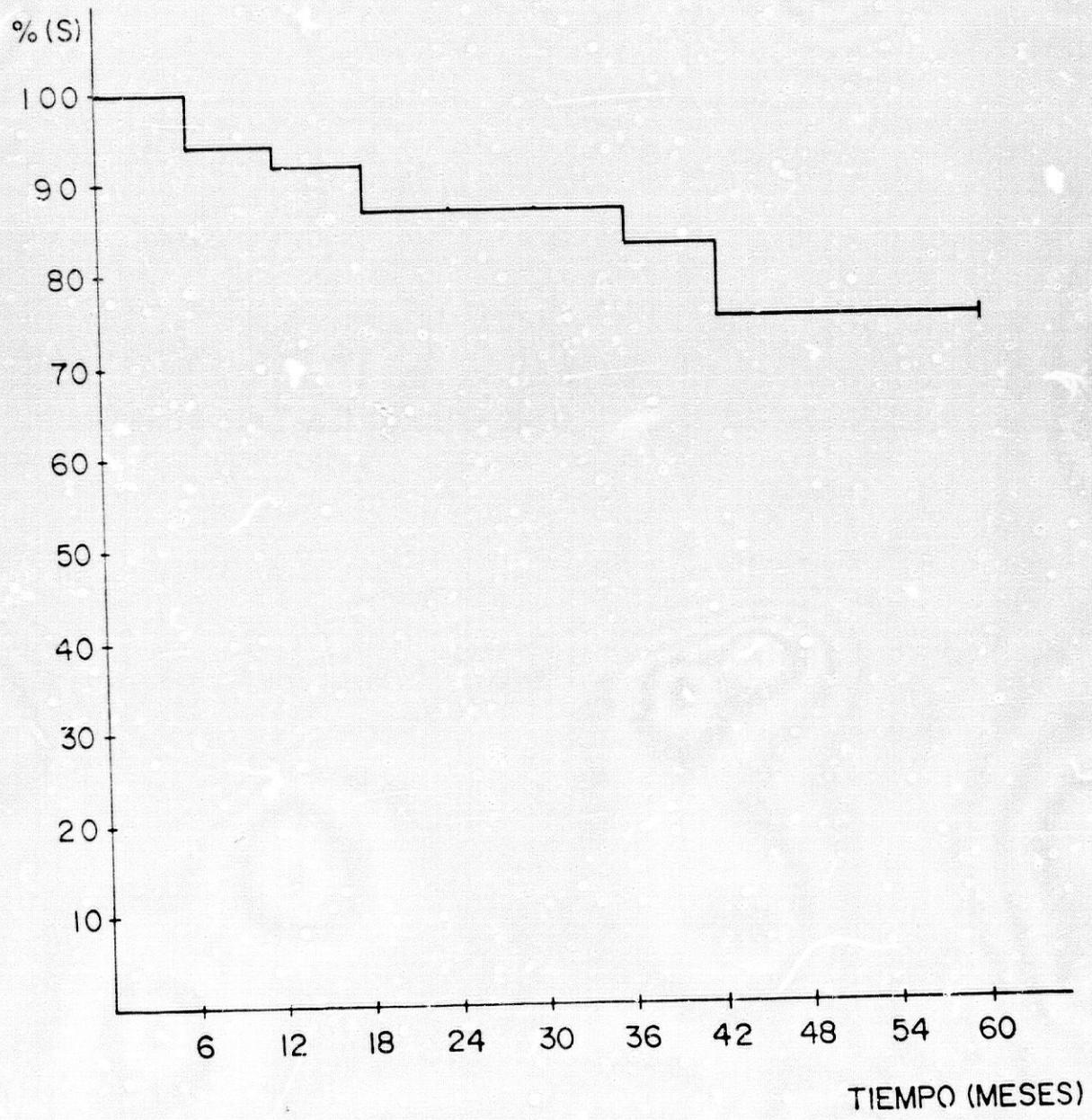


FIG.- 3.9.

TABLA III-10

SUPERVIVENCIA LIBRE DE ENFERMEDAD.
ESTADO AXILAR POSITIVO.

INTERVALO (meses)	j	n _j	n' _j	δ _j	P _j	ERROR TIPICO
0-6	1	49	45	4	0,92	0,039
6-12	2	49	39	10	0,73	0,061
12-18	3	44	41	3	0,68	0,063
18-24	4	41	40	1	0,66	0,063
24-30	5	36	33	3	0,61	0,066
30-36	6	27	27	-	0,61	0,066
36-42	7	20	20	0	0,61	
42-48	8	11	11	-	0,61	
48-54	9	2	2	-	0,61	
>54	10	1	1	-	0,61	

CANCER DE MAMA
SUPERVIVENCIA LIBRE DE ENFERMEDAD
ESTADO AXILAR POSITIVO

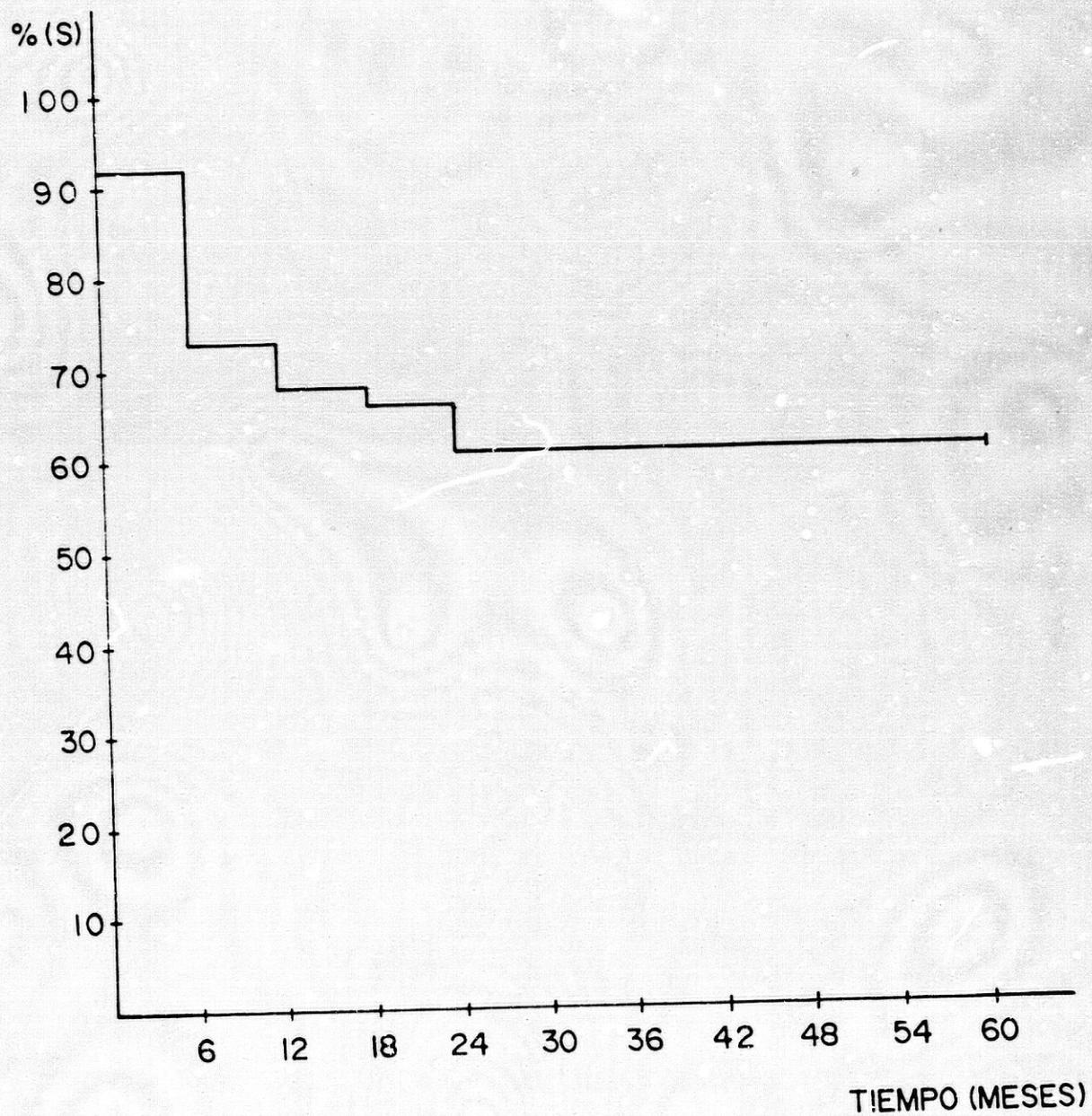


FIG.- 3.10.

TABLA III-11

SUPERVIVENCIA GLOBAL.
ESTADO AXILAR POSITIVO: 1 A 3 GANGLIOS.

INTERVALO (meses)	j	n _j	n' _j	δ _j	P _j	ERROR TIPICO
0-6	1	18	18	-	1,00	0,000
6-12	2	18	16	2	0,89	0,074
12-18	3	15	15	-	0,89	0,074
18-24	4	13	12	1	0,82	0,092
24-30	5	12	12	-	0,82	0,092
30-36	6	10	10	-	0,82	0,092
36-42	7	7	7	-	0,82	
42-48	8	3	3	-	0,82	
48-54	9	-	-	-	0,82	
>54	10	-	-	-	0,82	

CANCER DE MAMA
SUPERVIVENCIA GLOBAL
ESTADO AXILAR POSITIVO: 1 A 3 GANGLIOS

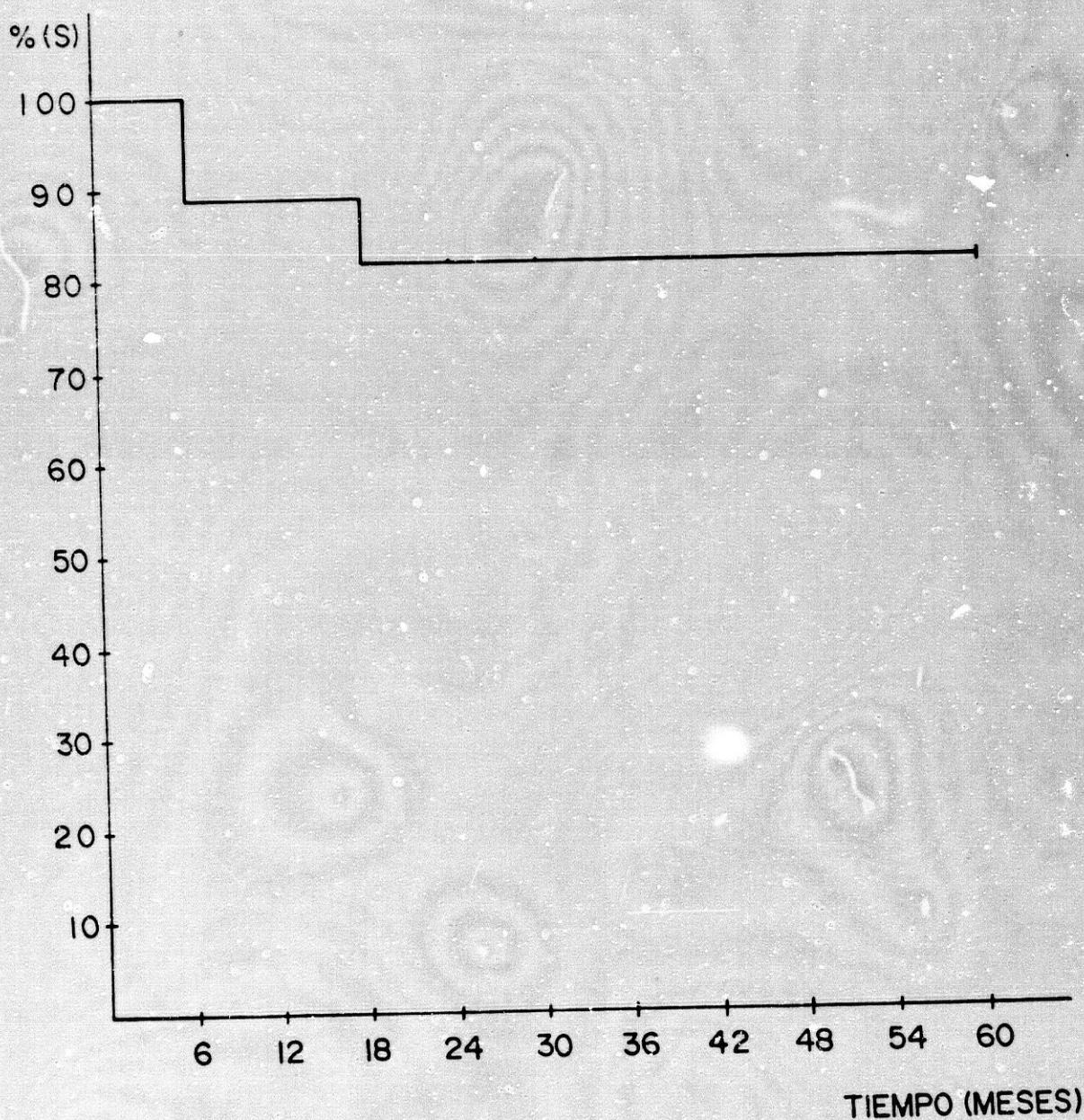


FIG- 3.II.

TABLA III-12

SUPERVIVENCIA LIBRE DE ENFERMEDAD.
ESTADO AXILAR POSITIVO: 1 A 3 GANGLIOS.

INTERVALO (meses)	j	n _j	n' _j	δ _j	P _j	ERROR TIPICO
0-6	1	19	17	1	0,94	0,054
6-12	2	18	15	3	0,79	0,094
12-18	3	15	15	-	0,79	0,094
18-24	4	13	13	-	0,79	0,094
24-30	5	12	10	2	0,66	0,116
30-36	6	10	10	-	0,66	0,116
36-42	7	7	7	-	0,66	
42-48	8	3	3	-	0,66	
48-54	9	-	-	-	0,66	
>54	10	-	-	-	0,66	

CANCER DE MAMA
SUPERVIVENCIA LIBRE DE ENFERMEDAD
ESTADO AXILAR POSITIVO: 1 A 3 GANGLIOS

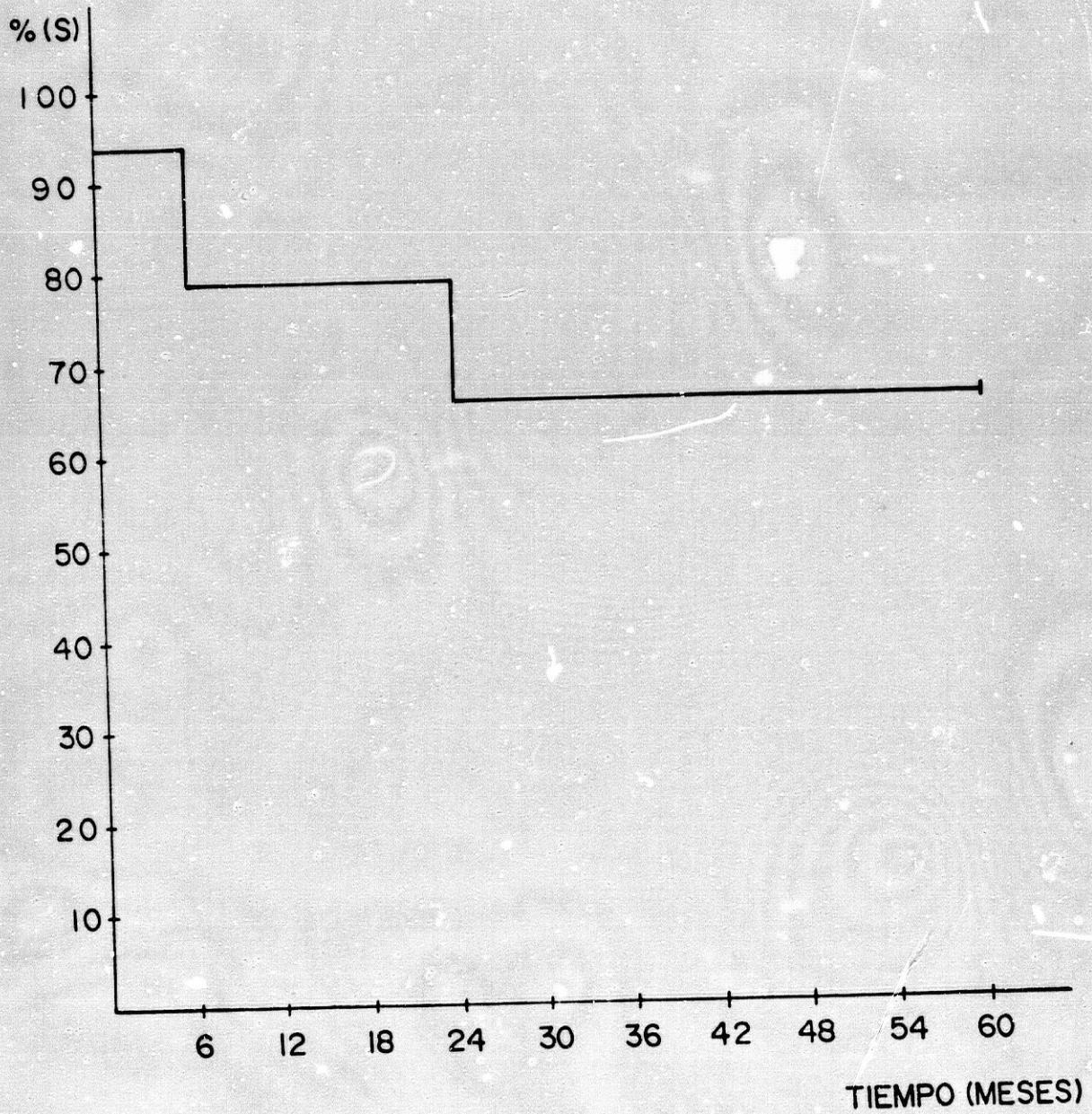


FIG.- 3.12.

TABLA III-13

SUPERVIVENCIA GLOBAL.
ESTADO AXILAR POSITIVO:
4 O MAS GANGLIOS.

INTERVALO (meses)	J	n _j	n' _j	δ_j	P _j	ERROR TIPICO
0-6	1	31	31	-	1,00	0,000
6-12	2	31	30	1	0,97	0,032
12-18	3	29	28	1	0,93	0,045
18-24	4	28	27	1	0,90	0,054
24-30	5	24	24	-	0,90	0,054
30-36	6	17	17	-	0,90	0,054
36-42	7	13	12	1	0,83	
42-48	8	8	7	1	0,73	
48-54	9	2	2	-	0,73	
>54	10	1	1	-	0,73	

CANCER DE MAMA
SUPERVIVENCIA GLOBAL
ESTADO AXILAR POSITIVO: 4 O MAS GANGLIOS

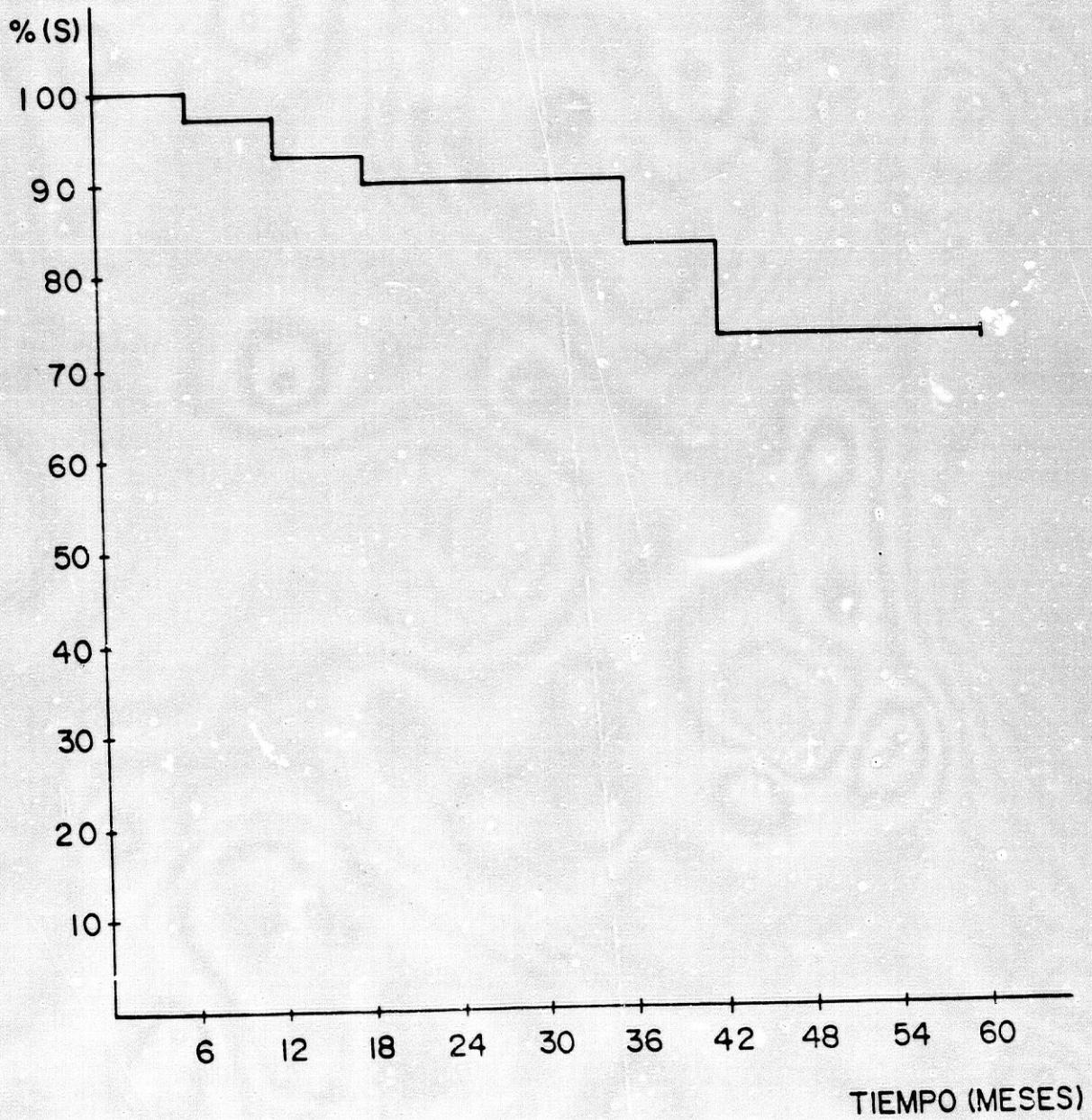


FIG.- 3.13.

TABLA III-14

SUPERVIVENCIA LIBRE DE ENFERMEDAD.
ESTADO AXILAR POSITIVO;
4 O MAS GANGLIOS.

INTERVALO (meses)	J	n _i	n' _i	δ_i	P _i	ERROR TIPICO
0-6	1	31	28	3	0,90	0,053
6-12	2	31	24	7	0,70	0,079
12-18	3	29	26	3	0,63	0,081
18-24	4	28	27	1	0,60	0,081
24-30	5	24	23	1	0,58	0,082
30-36	6	17	17	-	0,58	0,082
36-42	7	13	13	-	0,58	
42-48	8	8	8	-	0,58	
48-54	9	2	2	-	0,58	
>54	10	1	1	-	0,58	

CANCER DE MAMA
SUPERVIVENCIA LIBRE DE ENFERMEDAD
ESTADO AXILAR POSITIVO: 4 O MAS GANGLIOS

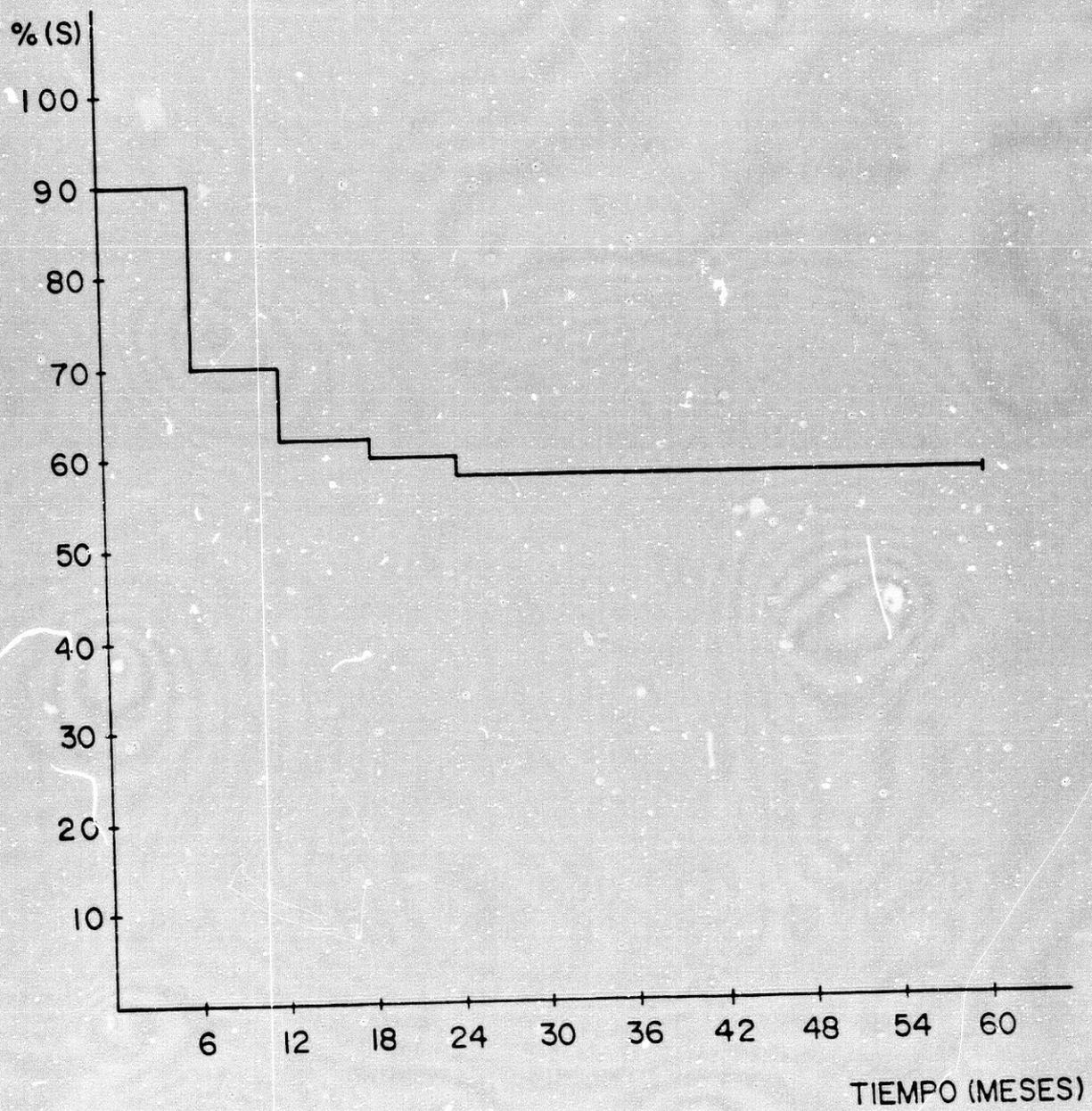


FIG.- 3.14.

TABLA III-15

SUPERVIVENCIA GLOBAL,
GRUPO RECEPTORES ESTROGENICOS POSITIVOS.

INTERVALO (meses)	J	n _j	n' _j	δ _j	P _j	ERROR TIPICO
0-6	1	55	55	-	1,00	0,000
6-12	2	55	55	-	1,00	0,000
12-18	3	53	53	-	1,00	0,000
18-24	4	48	47	1	1,00	0,021
24-30	5	43	43	-	0,98	0,021
30-36	6	35	34	1	0,95	0,034
36-42	7	22	21	1	0,91	
42-48	8	13	12	1	0,84	
48-54	9	4	4	-	0,84	
>54	10	1	1	-	0,84	

CANCER DE MAMA
SUPERVIVENCIA GLOBAL
GRUPO RECEPTORES ESTROGENICOS POSITIVOS

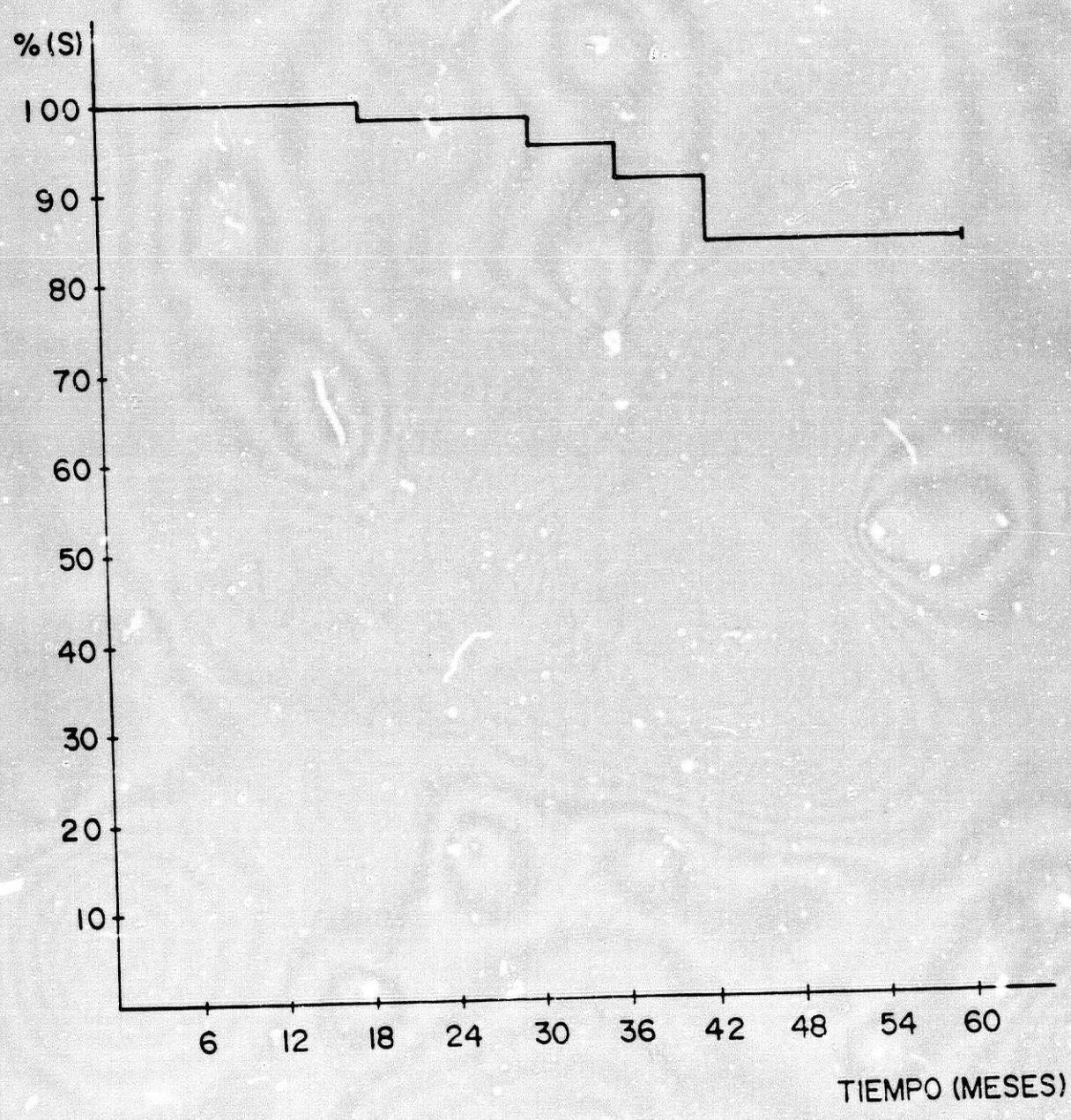


FIG.- 3.15.

TABLA III-16

SUPERVIVENCIA LIBRE DE ENFERMEDAD.
GRUPO RECEPTORES ESTROGENICOS POSITIVOS.

INTERVALO (meses)	j	n _i	n' _i	δ _i	P _i	ERROR TIPICO
0-6	1	55	51	4	0,93	0,035
6-12	2	55	48	7	0,81	0,052
12-18	3	53	50	3	0,76	0,055
18-24	4	48	46	2	0,73	0,057
24-30	5	43	41	2	0,70	0,060
30-36	6	35	34	1	0,68	0,061
36-42	7	22	22	-	0,68	
42-48	8	13	13	-	0,68	
48-54	9	4	4	-	0,68	
>54	10	1	1	-	0,68	

CANCER DE MAMA
SUPERVIVENCIA LIBRE DE ENFERMEDAD
GRUPO RECEPTORES ESTROGENICOS POSITIVOS

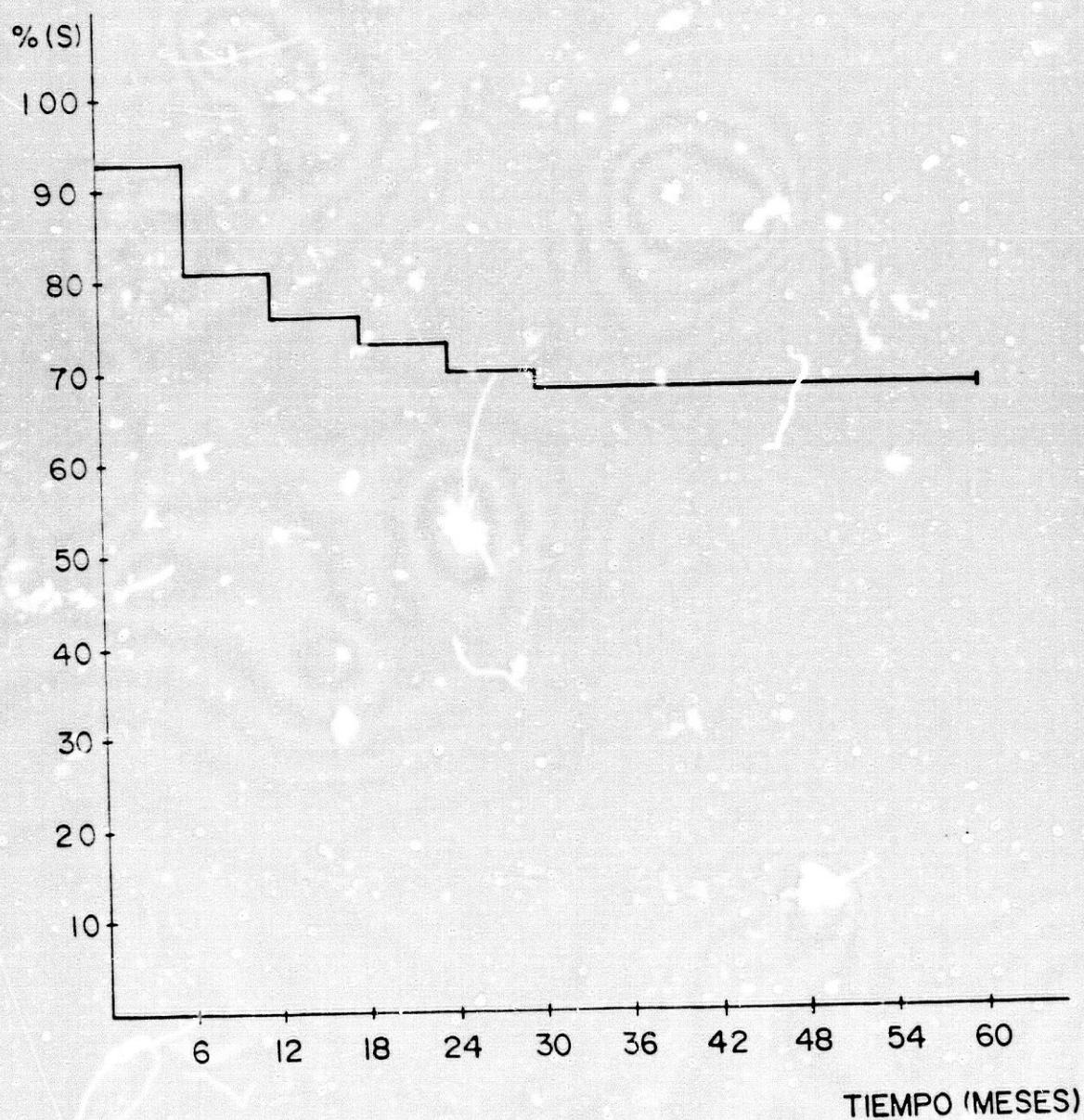


FIG.- 3.16.

TABLA III-17

SUPERVIVENCIA GLOBAL.
GRUPO RECEPTORES ESTROGENICOS NEGATIVOS.

INTERVALO (meses)	J	n ₁	n'	δ ₁	P ₁	ERROR TIPICO
0-6	1	32	31	1	0,97	0,031
6-12	2	30	27	3	0,87	0,060
12-18	3	25	23	2	0,80	0,072
18-24	4	22	19	3	0,69	0,086
24-30	5	19	18	1	0,66	0,089
30-36	6	13	13	-	0,66	0,089
36-42	7	10	10	-	0,66	
42-48	8	5	5	-	0,66	
48-54	9	-	-	-	0,66	
>54	10	-	-	-	0,66	

CANCER DE MAMA
SUPERVIVENCIA GLOBAL
GRUPO RECEPTORES ESTROGENICOS NEGATIVOS

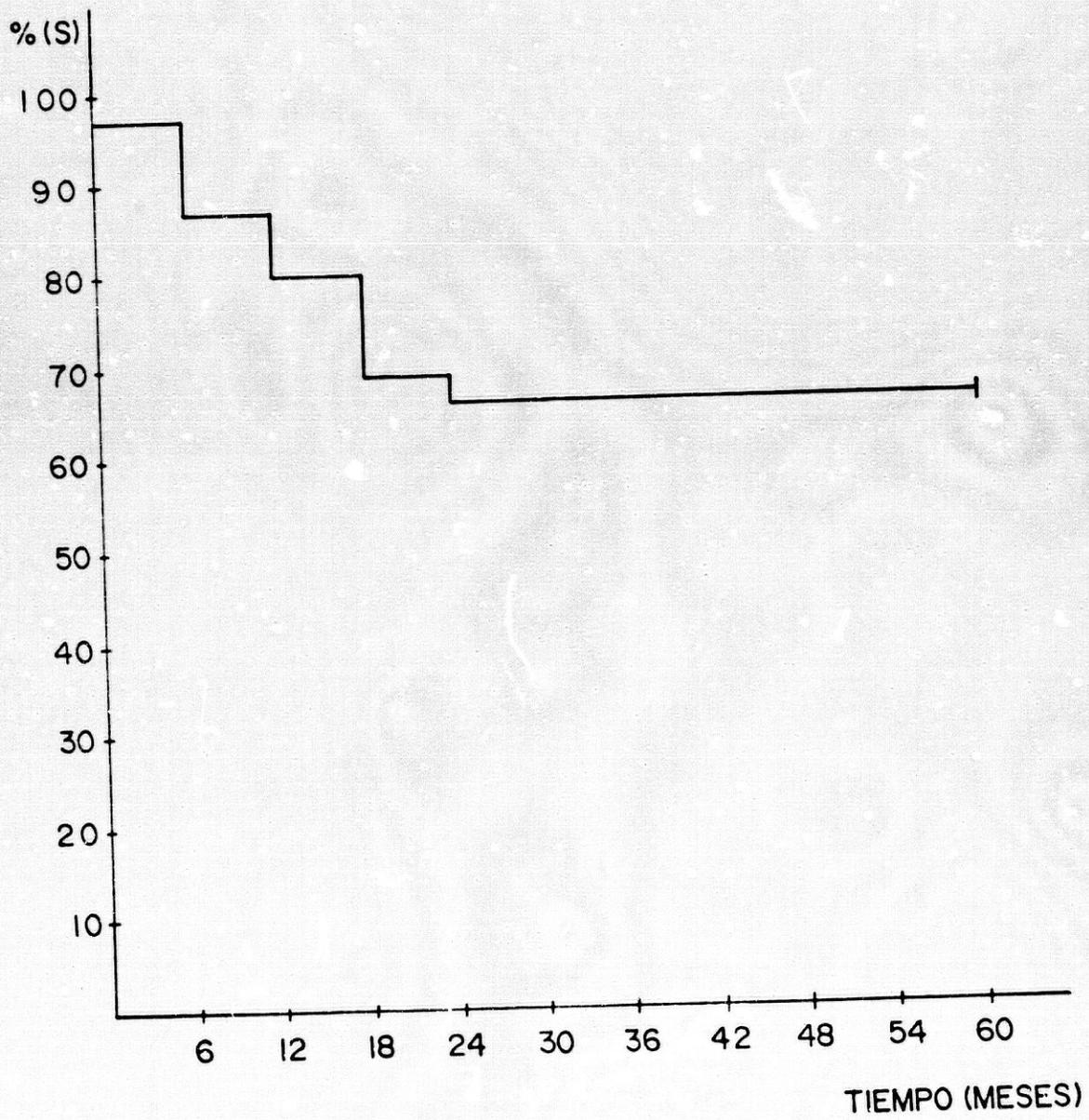


FIG.- 3.17.

TABLA III-18

SUPERVIVENCIA LIBRE DE ENFERMEDAD.
GRUPO RECEPTORES ESTROGENICOS NEGATIVOS.

INTERVALO (meses)	J	n _i	n' _i	δ _i	P _i	ERROR TIPICO
0-6	1	32	28	4	0,88	0,059
6-12	2	30	24	6	0,70	0,079
12-18	3	25	23	2	0,64	0,082
18-24	4	22	22	-	0,64	0,082
24-30	5	19	19	-	0,64	0,082
30-36	6	13	11	2	0,54	0,094
36-42	7	10	10	-	0,54	
42-48	8	5	5	-	0,54	
48-54	9	-	-	-	0,54	
>54	10	-	-	-	0,54	

CANCER DE MAMA
SUPERVIVENCIA LIBRE DE ENFERMEDAD
GRUPO RECEPTORES ESTROGENICOS NEGATIVOS

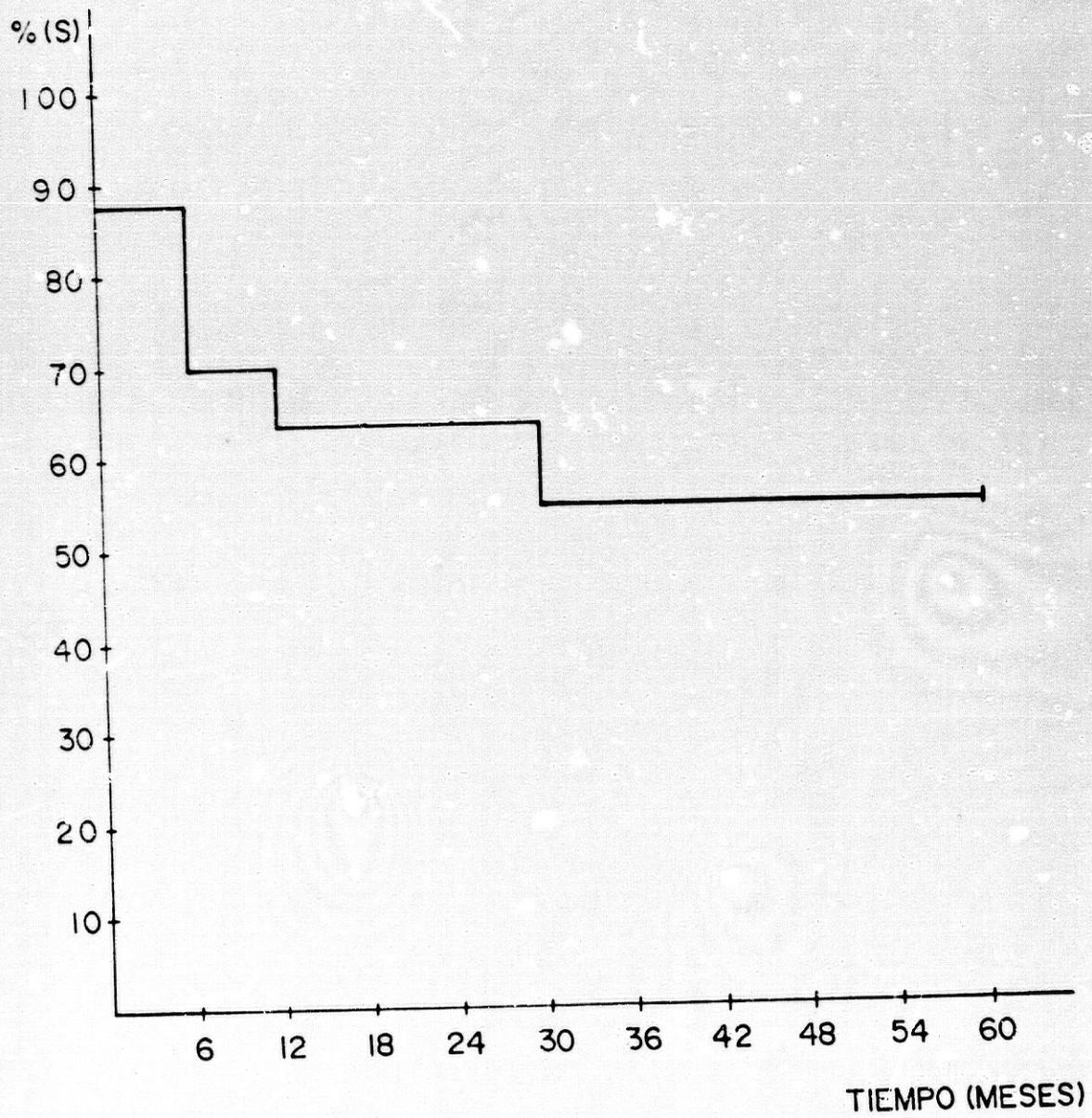


FIG.- 3.18.

TABLA III-19

SUPERVIVENCIA GLOBAL.
GRUPO RECEPTORES DE ESTROGENOS
Y PROGESTERONA POSITIVOS.

INTERVALO (meses)	J	n _i	n' _i	δ _i	P _i	ERROR TIPICO
0-6	1	18	18	-	1,00	0,000
6-12	2	18	17	1	0,94	0,054
12-18	3	16	16	-	0,94	0,054
18-24	4	15	15	-	0,94	0,054
24-30	5	13	12	-	0,94	0,054
30-36	6	11	11	-	0,94	0,054
36-42	7	6	6	-	0,94	
42-48	8	1	1	-	0,94	
48-54	9	1	1	-	0,94	
>54	10	-	-	-	0,94	

CANCER DE MAMA
SUPERVIVENCIA GLOBAL
GRUPO RECEPTORES DE ESTROGENOS
Y PROGESTERONA POSITIVOS

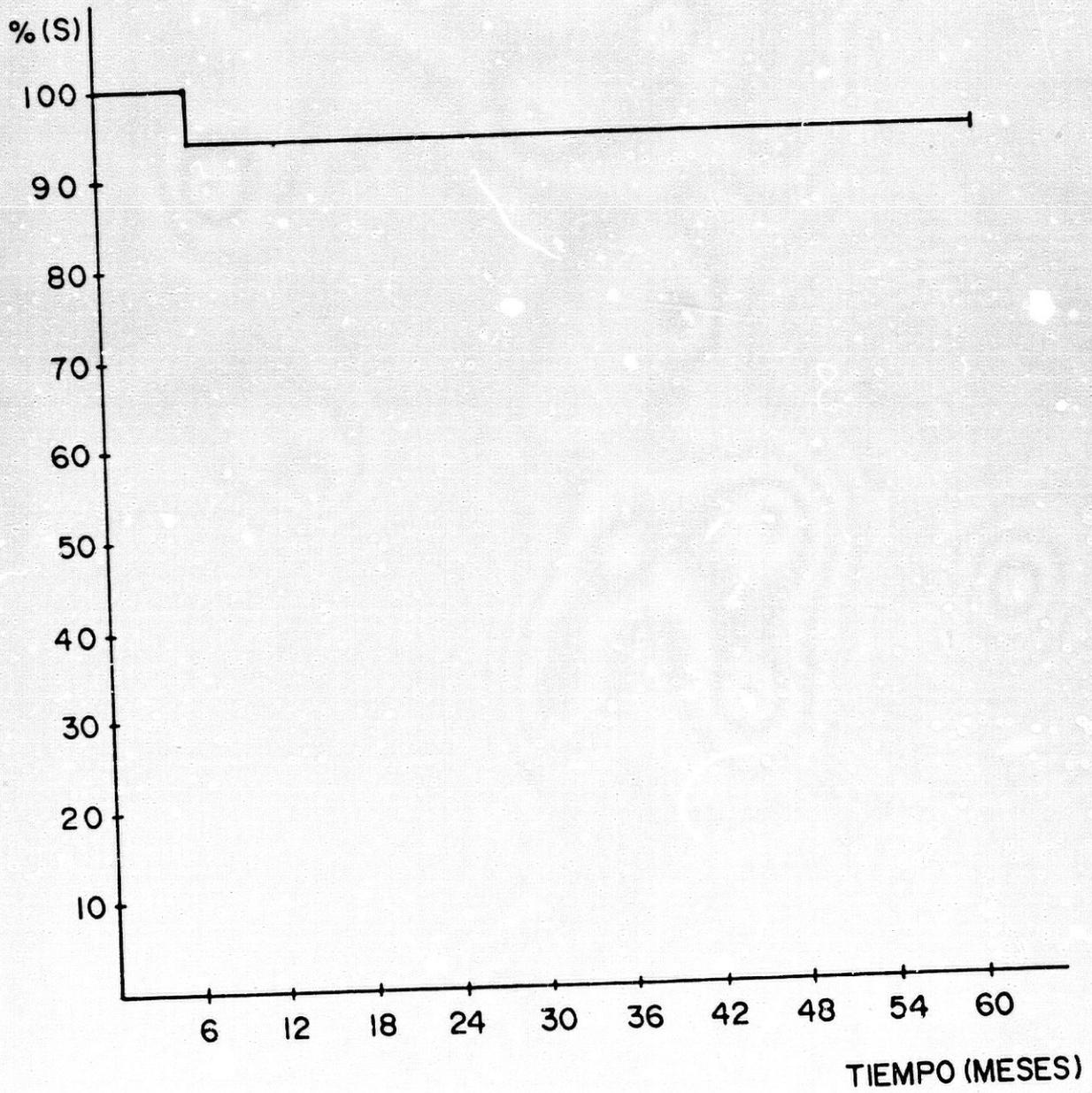


FIG. - 3.19.

TABLA III-20

SUPERVIVENCIA LIBRE DE ENFERMEDAD
GRUPO DE RECEPTORES DE ESTROGENOS
Y PROGESTERONA POSITIVOS

INTERVALO (meses)	j	n _i	n' _i	δ_i	P _i	ERROR TIPICO
0-6	1	18	17	1	0,94	0,054
6-12	2	18	17	1	0,89	0,071
12-18	3	16	16	-	0,89	0,071
18-24	4	15	14	1	0,83	0,088
24-30	5	13	13	-	0,83	0,088
30-36	6	11	10	1	0,76	0,108
36-42	7	6	6	-	0,76	
42-48	8	1	1	-	0,76	
48-54	9	1	1	-	0,76	
>54	10	-	-	-	0,76	

CANCER DE MAMA
SUPERVIVENCIA LIBRE DE ENFERMEDAD
GRUPO RECEPTORES DE ESTROGENOS
Y PROGESTERONA POSITIVOS

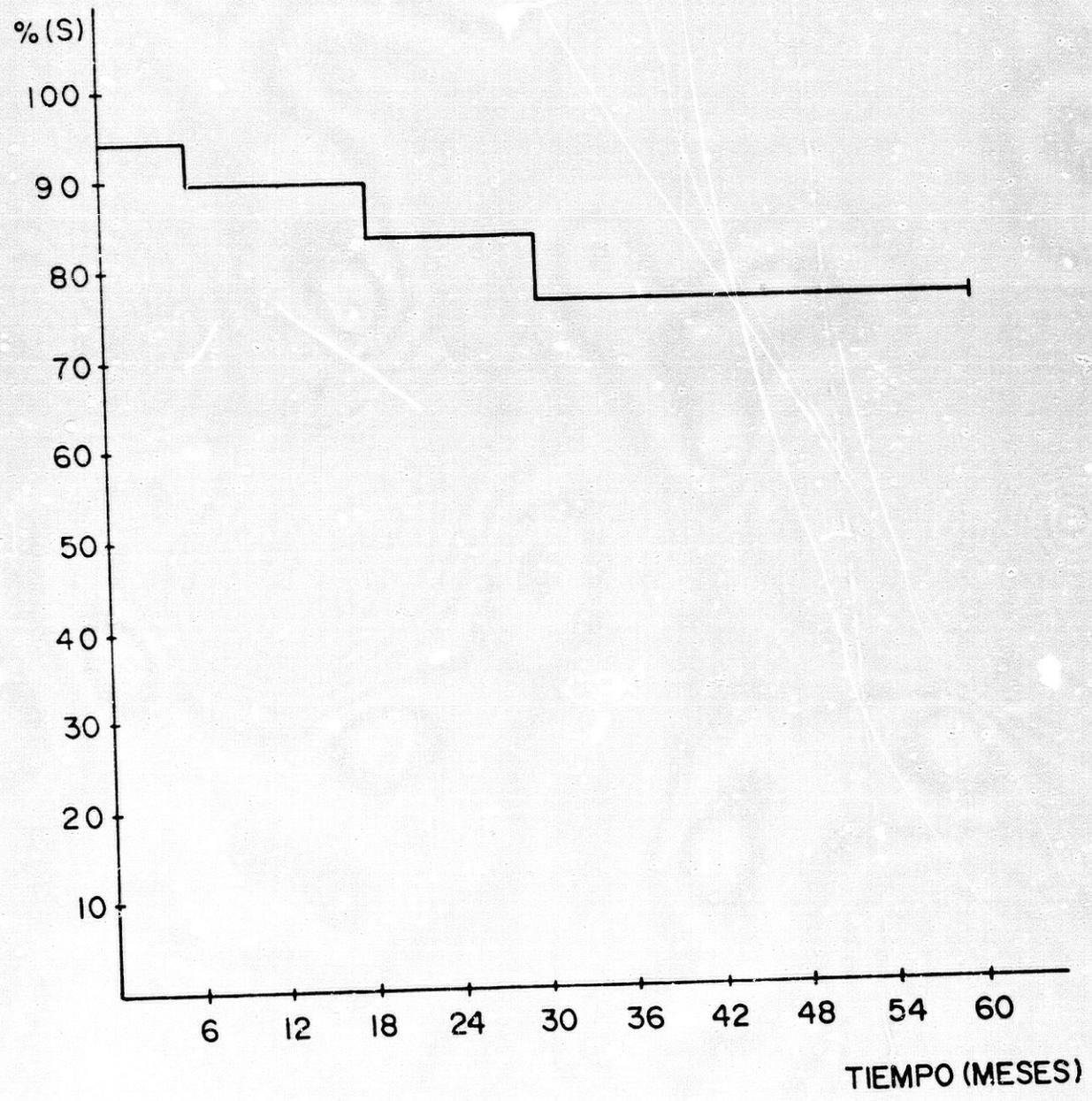


FIG.- 3.20.

TABLA III-21

SUPERVIVENCIA GLOBAL.
GRUPO RECEPTORES DE ESTROGENOS Y
PROGESTERONA NEGATIVOS.

INTERVALO (meses)	j	n _i	n' _i	δ _i	P _i	ERROR TIPICO
0-6	1	21	20	1	0,95	0,046
6-12	2	19	18	1	0,90	0,065
12-18	3	16	14	2	0,79	0,094
18-24	4	13	10	3	0,61	0,118
24-30	5	10	10	-	0,61	0,118
30-36	6	6	6	-	0,61	0,118
36-42	7	3	3	-	0,61	
42-48	8	-	-	-	0,61	
48-54	9	-	-	-	0,61	
>54	10	-	-	-	0,61	

CANCER DE MAMA
SUPERVIVENCIA GLOBAL
GRUPO RECEPTORES DE ESTROGENOS
Y PROGESTERONA NEGATIVOS

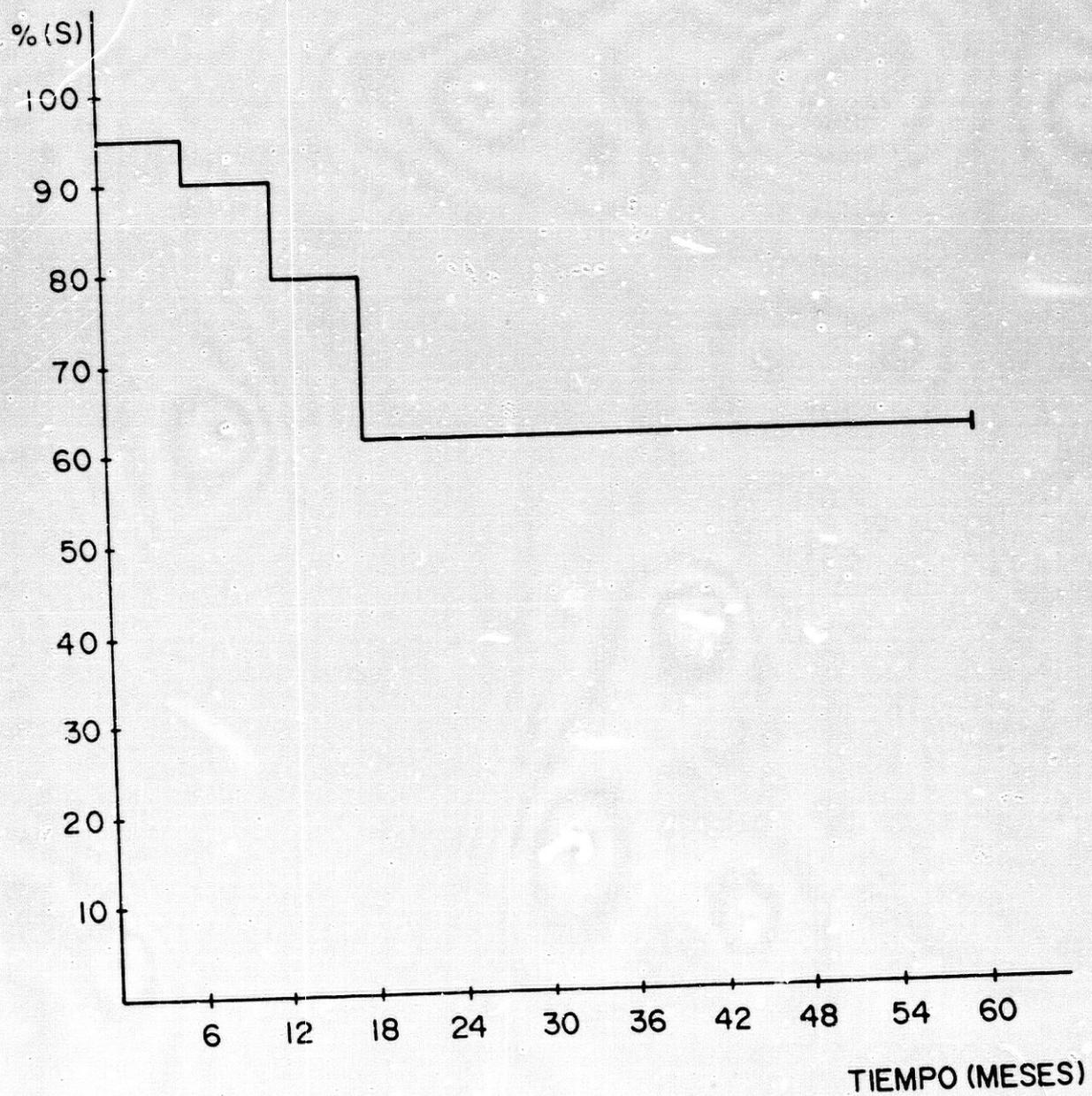


FIG.- 3.21.

TABLA III-22

SUPERVIVENCIA LIBRE DE ENFERMEDAD
GRUPO RECEPTORES DE ESTROGENOS Y
PROGESTERONA NEGATIVOS

INTERVALO (meses)	J	n _j	n'	δ_j	P _j	ERROR TIPICO
0-6	1	21	19	2	0,90	0,064
6-12	2	19	15	4	0,71	0,098
12-18	3	16	14	2	0,62	0,104
18-24	4	13	13	-	0,62	0,104
24-30	5	10	10	-	0,62	0,104
30-36	6	6	5	1	0,52	0,128
36-42	7	3	3	-	0,52	
42-48	8	-	-	-	0,52	
48-54	9	-	-	-	0,52	
>54	10	-	-	-	0,52	

CANCER DE MAMA
SUPERVIVENCIA LIBRE DE ENFERMEDAD
GRUPO RECEPTORES DE ESTROGENOS
Y PROGESTERONA NEGATIVOS

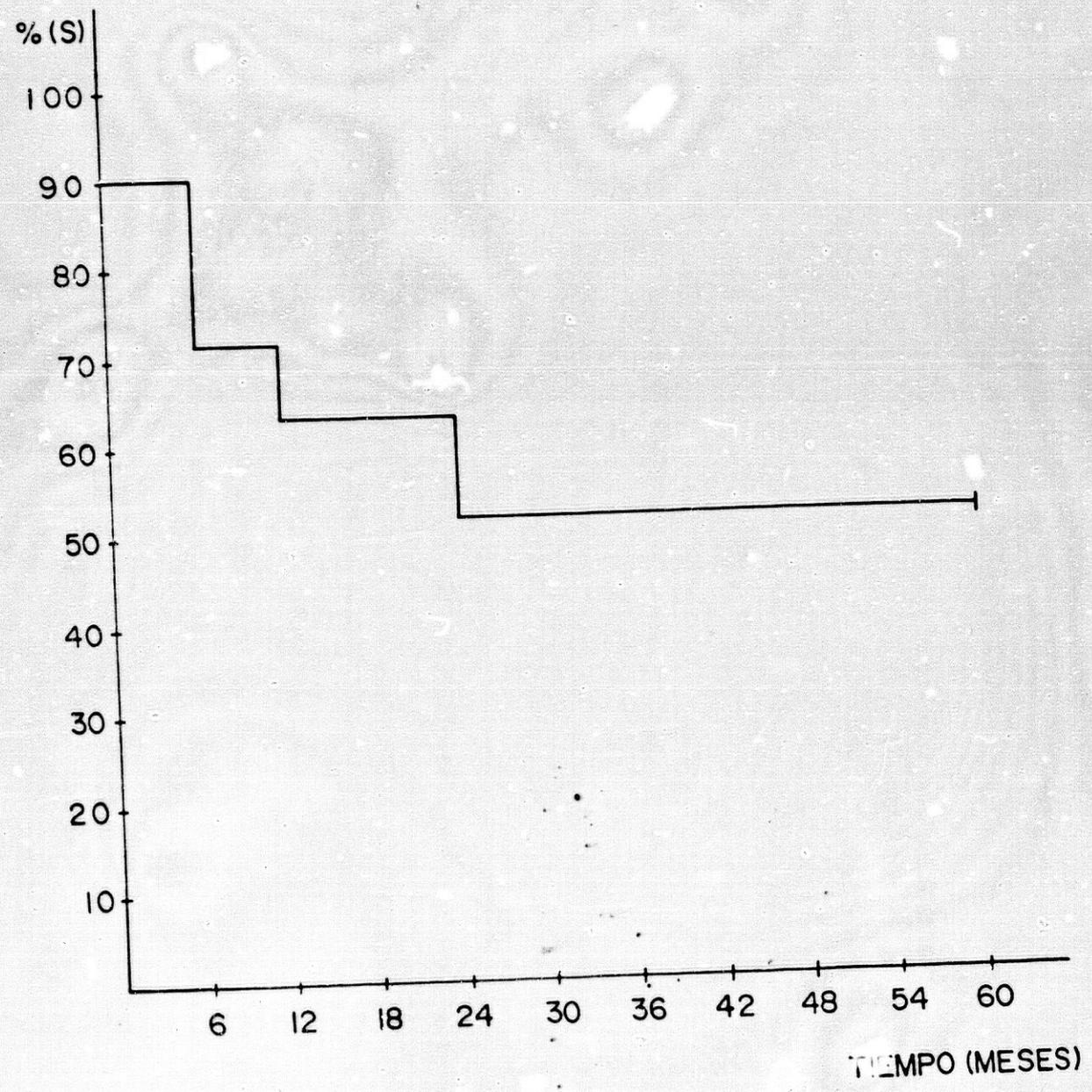


FIG.- 3.22.

TABLA III-23

SUPERVIVENCIA GLOBAL.
GRADO I-I

INTERVALO (meses)	j	n.	n'	δ .	P.	ERROR TIPICO
0-6	1	22	22	-	1,00	0,000
6-12	2	22	22	-	1,00	0,000
12-18	3	21	21	-	1,00	0,000
18-24	4	20	20	-	1,00	0,000
24-30	5	19	19	-	1,00	0,000
30-36	6	10	10	-	1,00	0,000
36-42	7	8	8	-	1,00	
42-48	8	3	3	-	1,00	
48-54	9	1	1	-	1,00	
>54	10	1	1	-	1,00	

CANCER DE MAMA
SUPERVIVENCIA GLOBAL
GRADO HISTOLOGICO 1-II

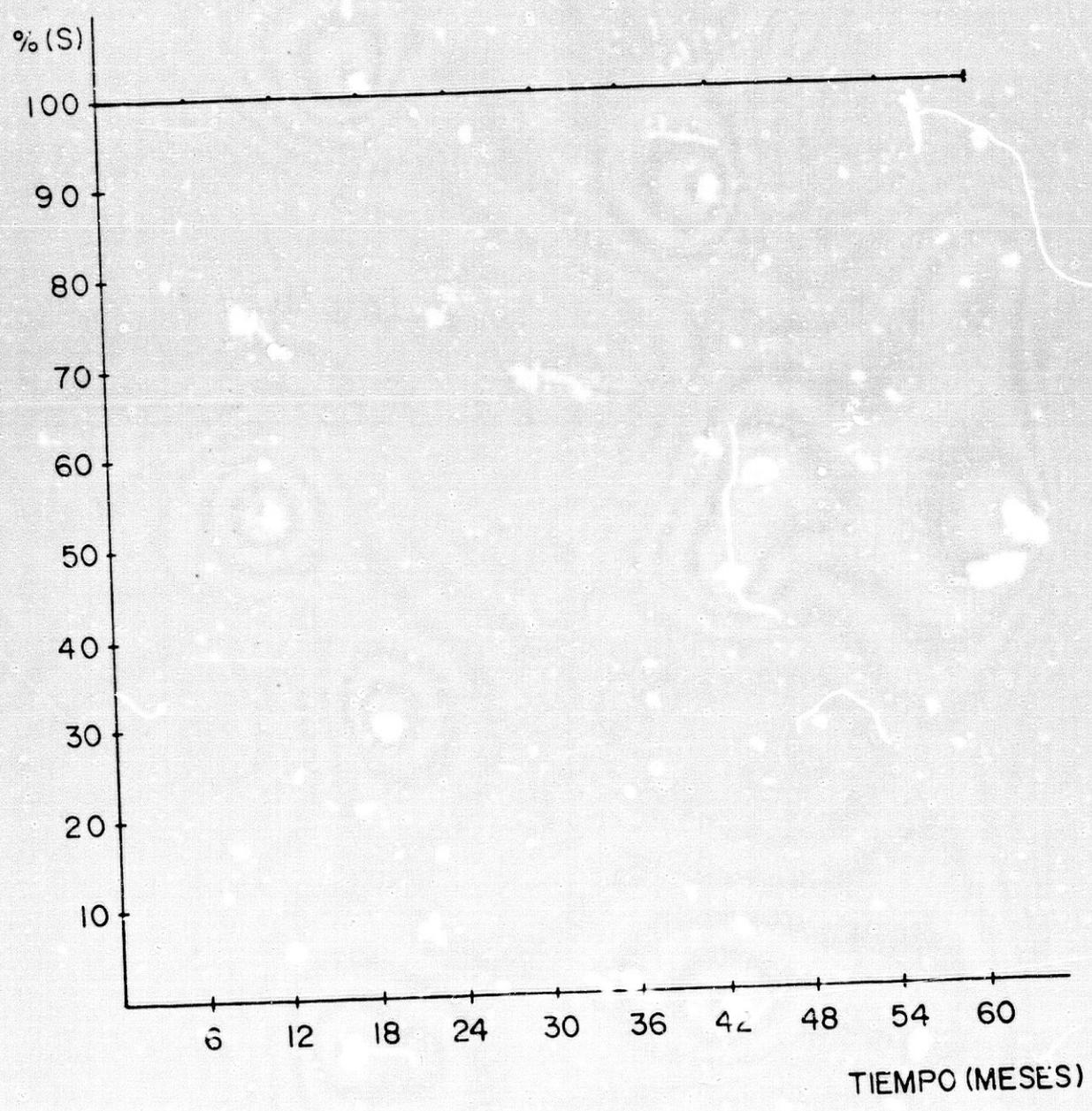


FIG.- 3.23.

TABLA III-24

SUPERVIVENCIA LIBRE DE ENFERMEDAD,
GRADO I-II.

INTERVALO (meses)	j	n _j	n' _j	δ _j	P _j	ERROR TIPICO
0-6	1	22	22	-	1,00	0,000
6-12	2	22	18	4	0,82	0,082
12-18	3	21	20	1	0,78	0,087
18-24	4	20	20	-	0,78	0,087
24-30	5	19	18	1	0,74	0,092
30-36	6	10	10	-	0,74	0,092
36-42	7	8	8	-	0,74	
42-48	8	3	3	-	0,74	
48-54	9	1	1	-	0,74	
>54	10	1	-	1	0,74	

CANCER DE MAMA
SUPERVIVENCIA LIBRE DE ENFERMEDAD
GRADO HISTOLOGICO I-II

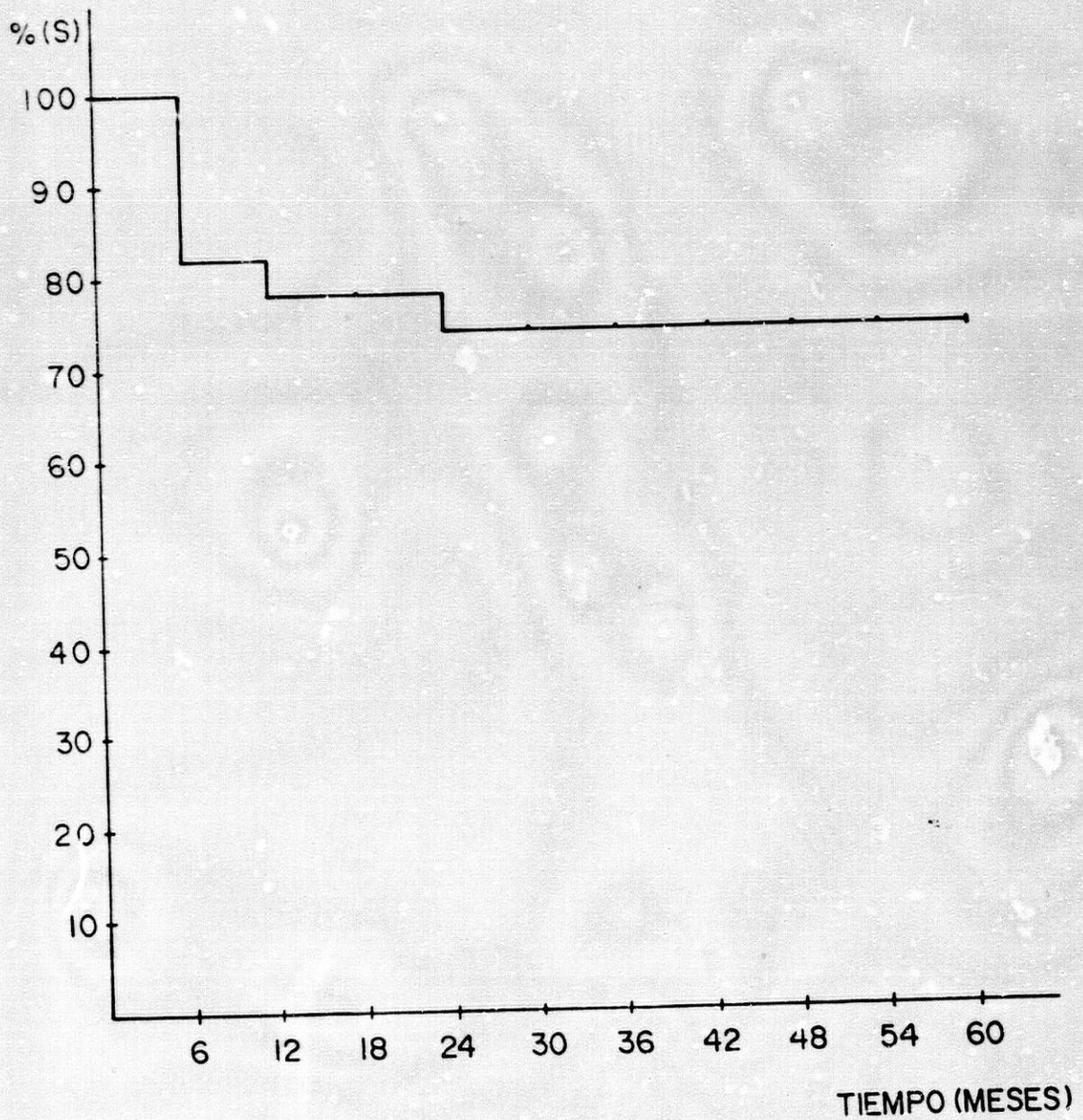


FIG.- 3.24.

TABLA III-25

SUPERVIVENCIA GLOBAL.
GRADO III.

INTERVALO (meses)	J	n _i	n' _i	ε _i	P _i	ERROR TIPICO
0-6	1	20	20	-	1,00	0,000
6-12	2	19	17	2	0,89	0,070
12-18	3	16	16	-	0,89	0,070
18-24	4	15	14	1	0,84	0,088
24-30	5	14	13	1	0,78	0,100
30-36	6	12	12	-	0,78	0,100
36-42	7	10	8	2	0,62	
42-48	8	5	5	-	0,62	
48-54	9	4	4	-	0,62	
>54	10	4	3	1	0,47	

CANCER DE MAMA
SUPERVIVENCIA GLOBAL
GRADO HISTOLOGICO III

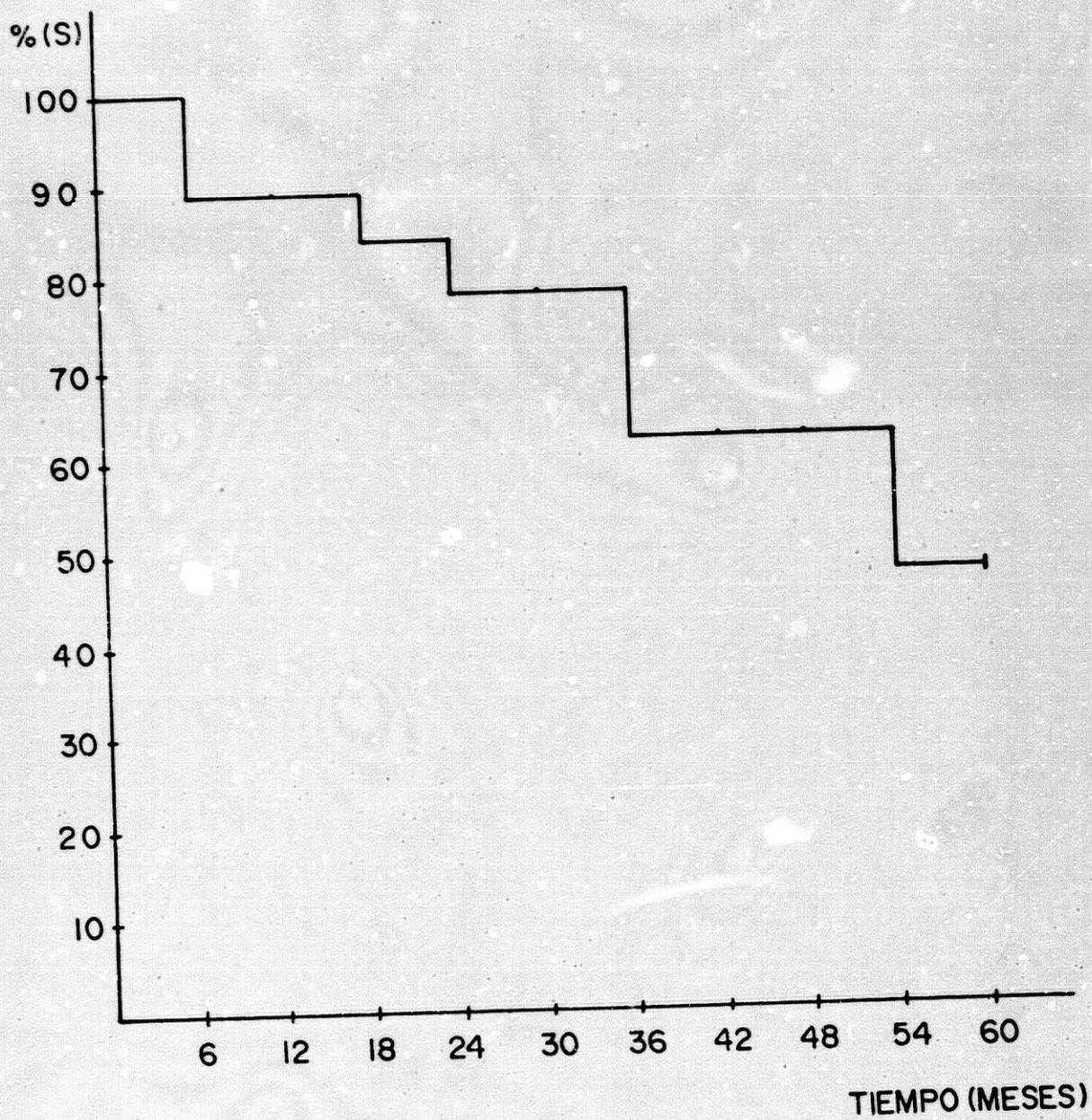


FIG.- 3.25.

TABLA III-26

SUPERVIVENCIA LIBRE DE ENFERMEDAD,
GRADO III.

INTERVALO (meses)	j	n _j	n' _j	δ _j	P _j	ERROR TIPICO
0-6	1	20	15	5	0,75	0,097
6-12	2	19	18	1	0,71	0,099
12-18	3	16	14	2	0,62	0,105
18-24	4	15	14	1	0,58	0,106
24-30	5	14	11	3	0,46	0,106
30-36	6	12	10	2	0,38	0,100
36-42	7	10	10	-	0,38	
42-48	8	5	5	-	0,38	
48-54	9	4	4	-	0,38	
>54	10	4	3	1	0,28	

CANCER DE MAMA
SUPERVIVENCIA LIBRE DE ENFERMEDAD
GRADO HISTOLOGICO III

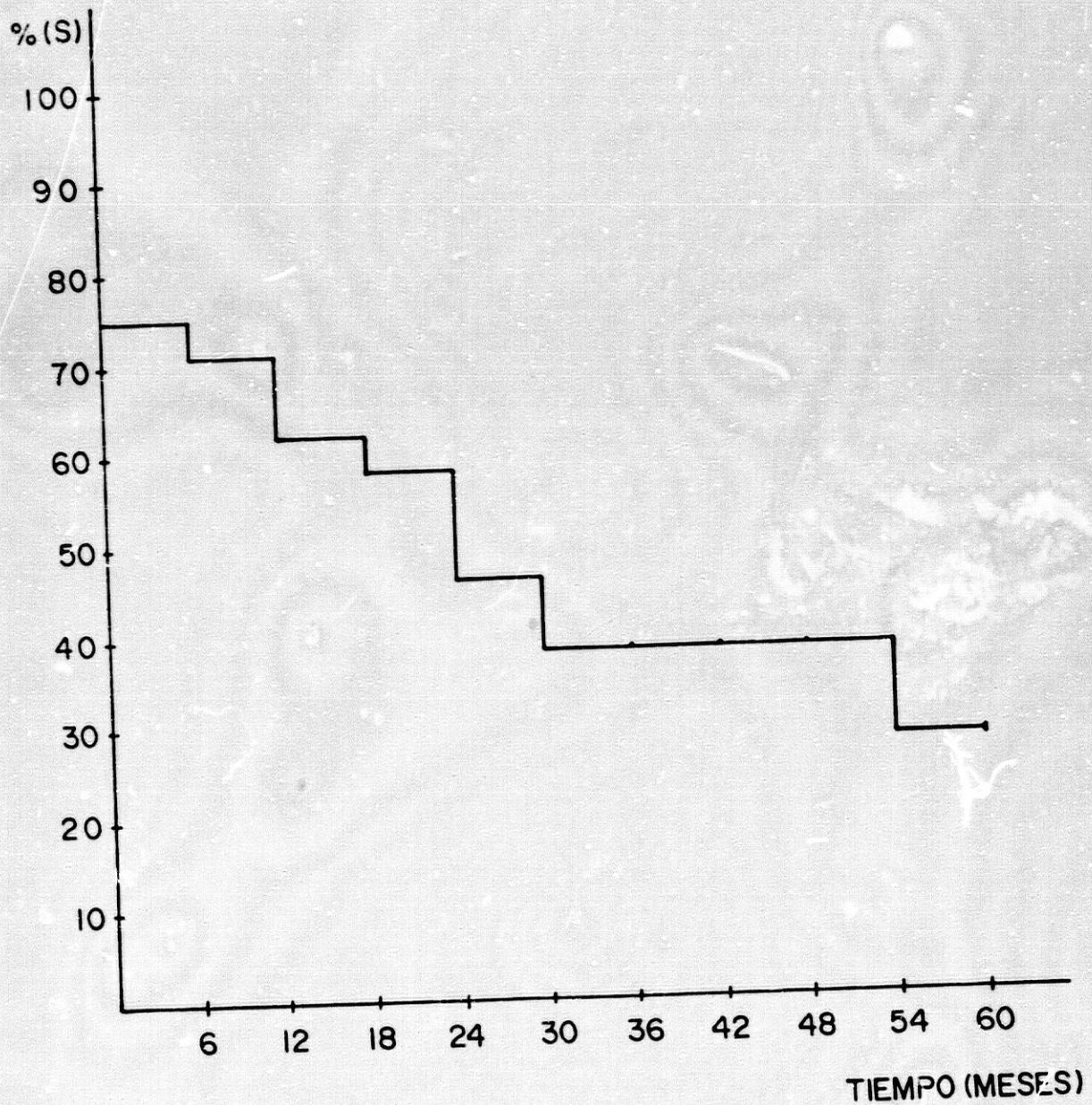


FIG.- 3.26.

TABLA III-27

SUPERVIVENCIA GLOBAL.
ESTADIOS I-II.

INTERVALO (meses)	J	n _j	n' _j	δ _j	P _j	ERROR TIPICO
0-6	1	44	44	-	1,00	0,000
6-12	2	44	43	1	0,98	0,023
12-18	3	40	40	-	0,98	0,023
18-24	4	36	35	1	0,95	0,044
24-30	5	33	32	1	0,92	0,050
30-36	6	22	22	-	0,92	0,051
36-42	7	15	15	-	0,92	
42-48	8	8	8	-	0,92	
48-54	9	2	2	-	0,92	
>54	10	-	-	-	0,92	

CANCER DE MAMA
SUPERVIVENCIA GLOBAL
ESTADIOS I-II

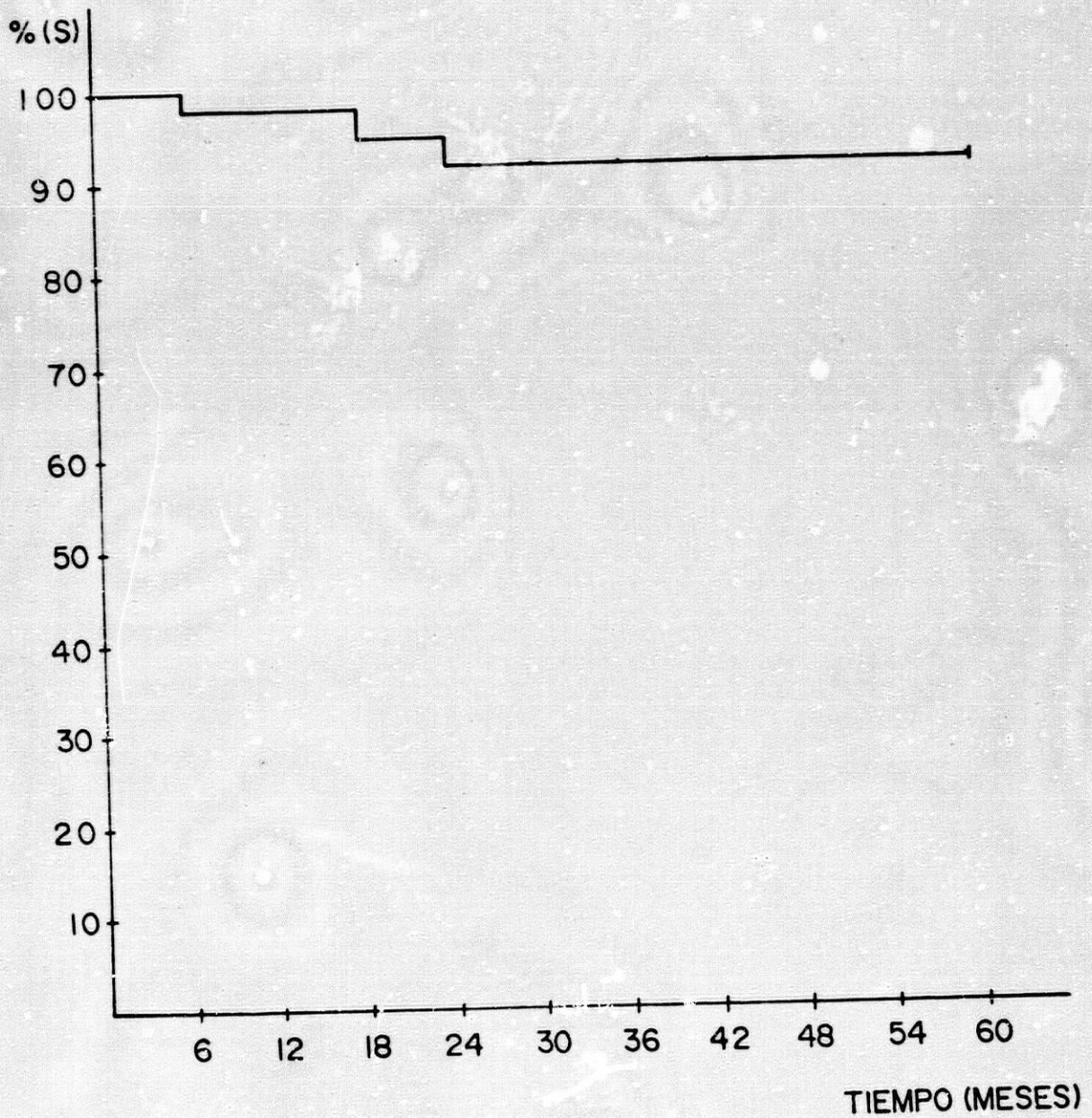


FIG.- 3.27.

TABLA III-28

SUPERVIVENCIA LIBRE DE ENFERMEDAD.
ESTADIOS I-II.

INTERVALO (meses)		n ₁	n' ₁	δ ₁	P ₁	ERROR TIPICO
0-6	1	44	43	1	0,98	0,023
6-12	2	44	38	6	0,84	0,054
12-18	3	40	40	-	0,84	0,054
18-24	4	36	35	1	0,82	0,057
24-30	5	33	33	-	0,82	0,057
30-36	6	22	21	1	0,78	0,066
36-42	7	15	15	-	0,78	
42-48	8	8	8	-	0,78	
48-54	9	2	2	-	0,78	
>54	10	-	-	-	0,78	

CANCER DE MAMA
SUPERVIVENCIA LIBRE DE ENFERMEDAD
ESTADIOS I-II

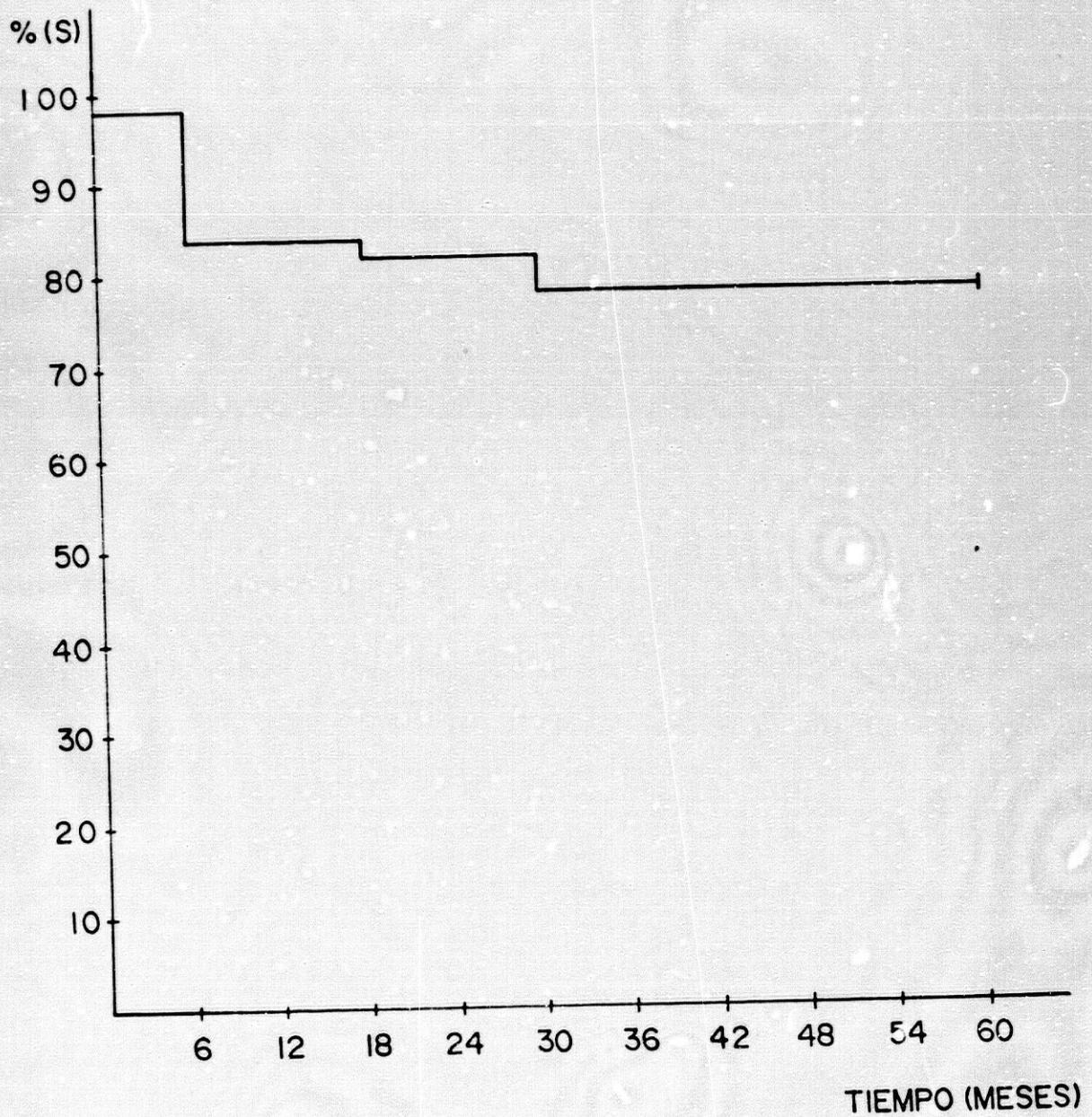


FIG.- 3.28.

TABLA III-29

SUPERVIVENCIA GLOBAL.
ESTADIOS III-IV.

INTERVALO (meses)	J	n ₁	n' ₁	δ	P ₁	ERROR TIPICO
0-6	1	43	42	1	0,98	0,023
6-12	2	41	39	2	0,93	0,040
12-18	3	38	36	2	0,88	0,050
18-24	4	34	31	3	0,80	0,063
24-30	5	29	29	0	0,80	0,063
30-36	6	26	25	1	0,77	0,060
36-42	7	17	16	1	0,73	
42-48	8	10	9	1	0,65	
48-54	9	2	2	-	0,65	
>54	10	1	1	-	0,65	

CANCER DE MAMA
SUPERVIVENCIA GLOBAL
ESTADIOS III - IV

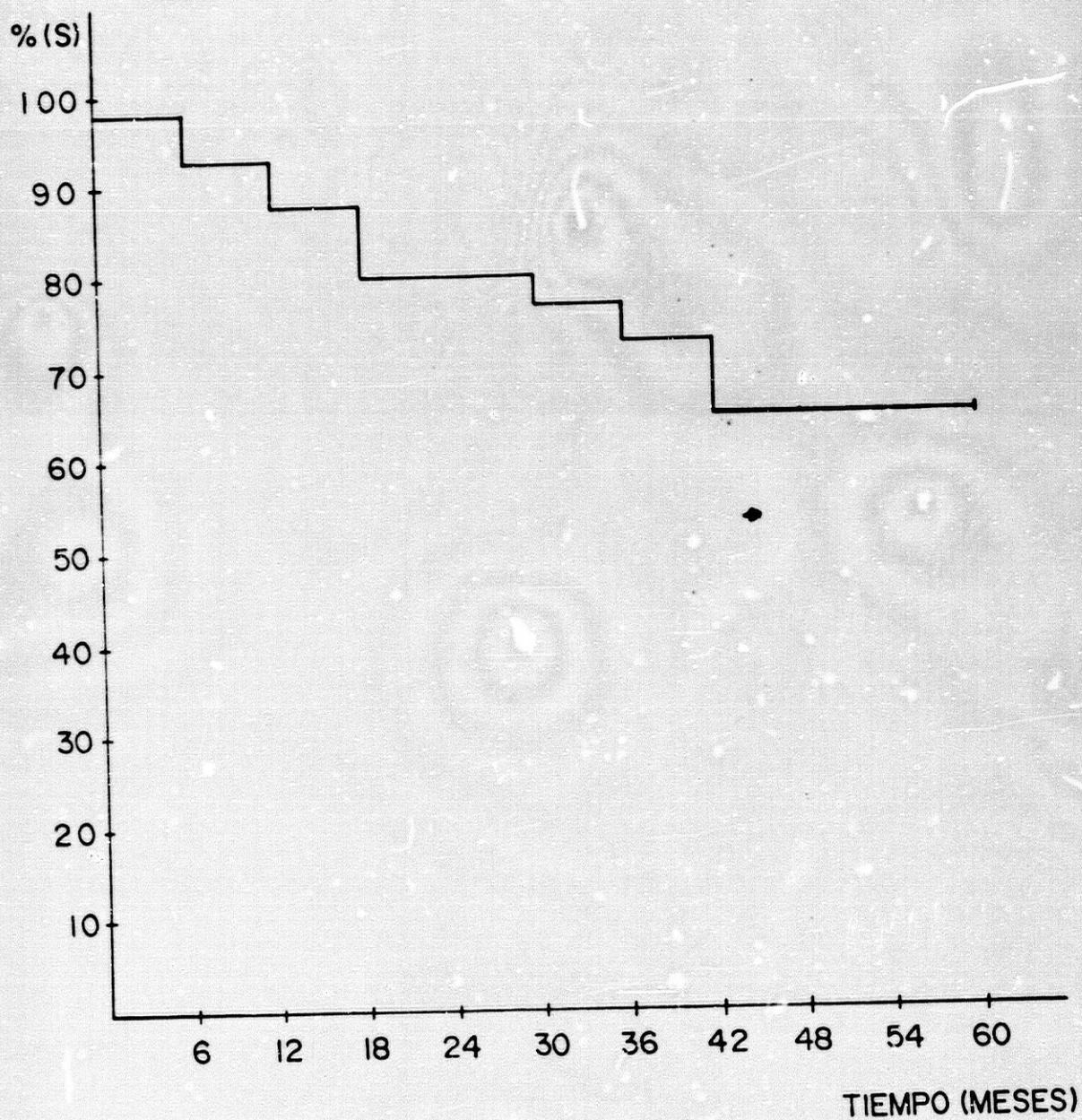


FIG.- 3.29.

TABLA III-30

SUPERVIVENCIA LIBRE DE ENFERMEDAD.
ESTADIOS III-IV.

INTERVALO (meses)	j	n _j	n' _j	δ _j	P _j	ERROR TIPICO
0-6	1	43	36	7	0,84	0,056
6-12	2	41	34	7	0,69	0,067
12-18	3	38	33	5	0,60	0,070
18-24	4	34	33	1	0,58	0,070
24-30	5	29	27	2	0,54	0,070
30-36	6	26	24	2	0,50	0,071
36-42	7	17	17	-	0,50	
42-48	8	10	10	-	0,50	
48-54	9	2	2	-	0,50	
>54	10	1	1	-	0,50	

CANCER DE MAMA
SUPERVIVENCIA LIBRE DE ENFERMEDAD
ESTADIOS III-IV

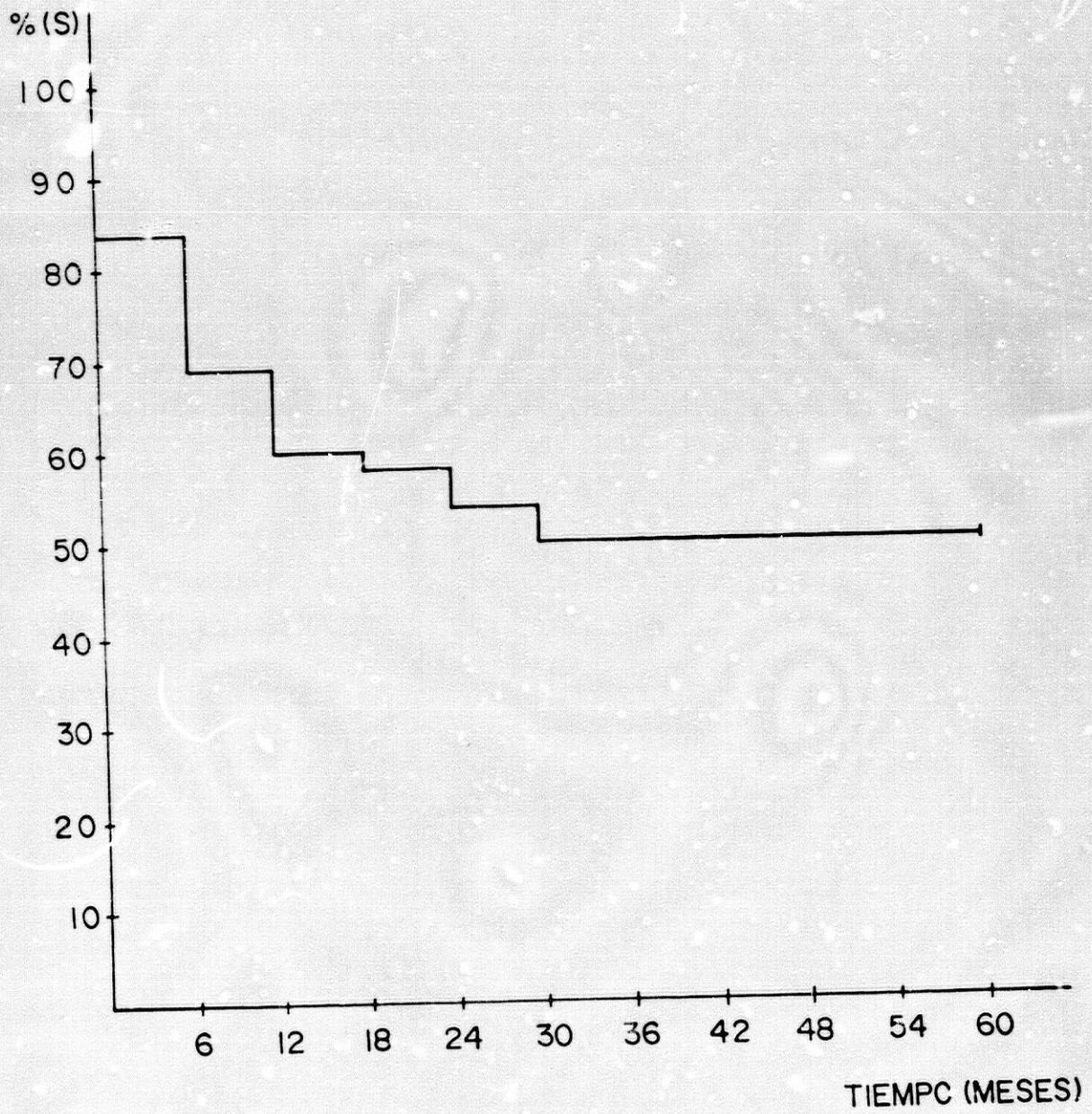


FIG.- 3.30.

3.2. CICLO CELULAR Y CONTENIDO DE RECEPTORES
DE ESTROGENOS Y DE PROGESTERONA.

3.2.1. Crecimiento de la población celular sincroniza-
da MCF-7. Rescate con MEM + FCS.

Los resultados de los experimentos de cuantifi-
cación del crecimiento de células MCF-7 tratadas con
OH-TAM 10^{-7} M durante 72 horas y "rescatados" por
simple cambio de medio se ofrecen en Tabla III-31.

TABLA III-31

PROLIFERACION DE LA
POBLACION CELULAR MCF-7 EN
MEM + FCS + OH-TAM $10^{-7}M$ (72 h.) Y
MEM + FCS (36 h.)

TIEMPO (h.)	DENSIDAD OPTICA	[DNA] (μg)
24	0,032 \pm 2	2,4 \pm 0,15
72	0,042 \pm 9,5	3,1 \pm 0,70
84	0,064 \pm 11	4,8 \pm 0,83
90	0,084 \pm 6,5	6,7 \pm 0,50
96	0,094 \pm 1,9	7,2 \pm 0,14
102	0,122 \pm 2,9	9,3 \pm 0,22
108	0,152 \pm 10	11,4 \pm 0,75

Los dos primeros valores corresponden al crecimiento del cultivo en MEM + FCS + OH-TAM. Los datos que figuran a continuación se refieren al crecimiento, tras cambio de medio, en MEM + FCS.

3.2.2. Crecimiento de la población celular sincronizada MCF-7. Rescate con MEM + FCS_(s).

Los resultados del estudio de la actividad mitógena del suero de feto de ternera tratado con carbón-dextrano (FCS libre de estrógenos endógenos = FCS_(s)) sobre la línea celular MCF-7, previamente sometida a la acción de los antiestrógenos, se muestra en la Tabla III-32.

TABLA III-32

PROLIFERACION DE LA POBLACION
 CELULAR MCF-7 EN
 MEM + FCS + OH-TAM $10^{-7}M$ (72 h.) Y
 MEM + FCS_(S) (36 h.)

TIEMPO (h.)	DENSIDAD OPTICA	[DNA] (μg)
24	0,064 \pm 11	4,8 \pm 0,83
72	0,093 \pm 7,7	6,8 \pm 0,56
84	0,149 \pm 32,7	10,9 \pm 2,40
90	0,192 \pm 5,5	14,6 \pm 0,42
96	0,210 \pm 5,5	15,2 \pm 0,40
102	0,215 \pm 26,5	15,6 \pm 1,92
108	0,237 \pm 20	17,3 \pm 1,46

Los dos primeros valores corresponden al crecimiento del cultivo en MEM + FCS + OH-TAM. Los datos que figuran a continuación se refieren al crecimiento, tras cambio de medio, en MEM + FCS_(S).

3.2.3. Crecimiento de la población celular sincronizada MCF-7. Rescate con MEM + FCS_(s) + EGF.

Los datos de crecimiento resultantes del rescate de la población celular MCF-7 (tratada previamente con OH-TAM 10^{-7} M durante 72 horas), con medio esencial mínimo, suero libre de estrógenos y factor de crecimiento aparecen recogidos en la Tabla III-33. En dicha tabla se incluye la composición del medio nutriente en que se efectuó el rescate.

TABLA III-33

PROLIFERACION DE LA
POBLACION CELULAR SINCRONIZADA MCF-7.
EFECTO DEL EGF.

MEDIO	TIEMPO	[DNA] (μ g)
MEM+FCS+OH-TAM	72	11,5 \pm 0,24
MEM+FCS _(s)	96	15,9 \pm 0,69
MEM+FCS _(s) +EGF(1 ng/ml)	96	15,0 \pm 1,04
MEM+FCS _(s) +EGF(10 ng/ml)	96	18,3 \pm 1,99
MEM+FCS _(s) +EGF(100 ng/ml)	96	13,0 \pm 2,80
MEM+EGF(1 ng/ml)	96	10,2 \pm 0,40
MEM+EGF(10 ng/ml)	96	5,0 \pm 0,40
MEM+EGF(100 ng/ml)	96	8,5 \pm 1,36
MEM+FCS _(s)	120	20,9 \pm 1,50
MEM+FCS _(s) +EGF(1 ng/ml)	120	15,9 \pm 1,58
MEM+FCS _(s) +EGF(10 ng/ml)	120	21,4 \pm 0,90
MEM+FCS _(s) +EGF(100 ng/ml)	120	22,6 \pm 0,70

CONTINUA →

TABLA III-33

PROLIFERACION DE LA
POBLACION CELULAR SINCRONIZADA MCF-7,
EFECTO DEL EGF.

MEDIO	TIEMPO	[DNA] (μ g)
MEM+EGF(1 ng/ml)	120	4,7 \pm 1,99
MEM+EGF(10 ng/ml)	120	7,1 \pm 0,96
MEM+EGF(100 ng/ml)	120	6,5 \pm 0,54
MEM+FCS _(s)	144	23,0 \pm 0,58
MEM+FCS _(s) +EGF(1 ng/ml)	144	22,8 \pm 0,69
MEM+FCS _(s) +EGF(10 ng/ml)	144	30,9 \pm 1,10
MEM+FCS _(s) +EGF(100 ng/ml)	144	23,1 \pm 0,80
MEM+EGF(1 ng/ml)	144	3,9 \pm 1,45
MEM+EGF(10 ng/ml)	144	2,6 \pm 0,96
MEM+EGF(100 ng/ml)	144	4,4 \pm 1,02
MEM+FCS _(s)	168	27,2 \pm 0,54
MEM+FCS _(s) +EGF(1 ng/ml)	168	24,8 \pm 0,20
MEM+FCS _(s) +EGF(10 ng/ml)	168	31,4 \pm 0,64
MEM+FCS _(s) +EGF(100 ng/ml)	168	25,7 \pm 0,98

3.2.4. Influencia del FCS y FCS₀, combinados con EGF sobre el crecimiento celular en cultivos de células MCF-7 sincronizadas.

Los resultados referentes al estudio de la actividad mitógena del EGF en presencia o ausencia de 17- β -estradiol -suero normal (FCS) o suero libre de estrógenos (FCS₀)- se resumen en la Tabla III-34.

TABLA III-34

PROLIFERACION DE LA
POBLACION CELULAR SINCRONIZADA MCF-7.
EFECTO DEL EGF.

MEDIO	TIEMPO	[DNA] (μg)
MEM+FCS+OH-TAM	72	13,3 \pm 1,7
MEM+FCS	96	20,6 \pm 1,1
MEM+FCS+EGF(10 ng/ml)	96	23,3 \pm 1,5
MEM+FCS _(s)	96	17,9 \pm 1,8
MEM+FCS _(s) +EGF(10 ng/ml)	96	19,1 \pm 1,5
MEM+FCS	120	30,4 \pm 3,4
MEM+FCS+EGF(10 ng/ml)	120	30,6 \pm 2,5
MEM+FCS _(s)	120	28,1 \pm 4,0
MEM+FCS _(s) +EGF(10 ng/ml)	120	29,5 \pm 3,1
MEM+FCS	144	39,0 \pm 2,9
MEM+FCS+EGF(10 ng/ml)	144	39,0 \pm 2,5
MEM+FCS _(s)	144	38,8 \pm 2,3
MEM+FCS _(s) +EGF(10 ng/ml)	144	38,4 \pm 0,9

3.2.5. Incorporación de timina tritiada a cultivos de células MCF-7 sincronizadas.

Los datos referentes a la incorporación de timina tritiada a cultivos MCF-7 sincronizados con OH-TAM y posteriormente sometidos a los efectos del EGF en MEM + FCS₁₀, se exponen en la Tabla III-35.

TABLA III-35

INCORPORACION DE $^3\text{HTdR}$ A
 CELULAS MCF-7 SINCRONIZADAS.
 EFECTO DEL EGF.

MEDIO	TIEMPO	[$^3\text{HTdR}$] ($\text{DPM} \times 10^{-3}$)
MEM+FCS+OH-TAM	0	509,3
MEM+FCS	6	314,4
MEM+FCS+EGF(10 ng/ml)	6	223,4
MEM+FCS _(s)	6	369,2
MEM+FCS _(s) +EGF(10 ng/ml)	6	187,7
MEM+FCS	12	630,9
MEM+FCS+EGF(10 ng/ml)	12	616,4
MEM+FCS _(s)	12	539,4
MEM+FCS _(s) +EGF(10 ng/ml)	12	587,6
MEM+FCS	18	932,7
MEM+FCS+EGF(10 ng/ml)	18	914,5
MEM+FCS _(s)	18	632,2
MEM+FCS _(s) +EGF(10 ng/ml)	18	789,7

3.2.6. Receptores de estrógenos y progesterona en diferentes fases del ciclo celular.

Los resultados obtenidos en la investigación, en función del tiempo, de la concentración de receptores de estrógenos y de progesterona en células MCF-7 sincronas se ofrecen, finalmente, en las Tablas III-36 a III-43.

TABLA III-36

RECEPTORES DE ESTROGENOS EN CELULAS
MCF-7 SOMETIDAS A TRATAMIENTO CON OH-TAM
DURANTE 72 HORAS. RESCATE CON MEM+FCS.

A.T	E.T.	E.N.E.	E.E.	F.L.
90604	4984	3769	1215	89389
47852	2854	1876	978	46874
17977	1749	792	957	17020
12948	1472	641	831	12117
9084	1268	451	817	8267

TIEMPO DE RESCATE = 0 HORAS

A.T	E.T.	E.N.E.	E.E.	F.L.
90604	5771	4702	1069	89535
47852	3096	2409	687	47165
17977	1816	994	822	17155
12948	1483	723	760	12188
9084	1381	526	855	8229

TIEMPO DE RESCATE = 12 HORAS

CONTINUA +

TABLA III-36

RECEPTORES DE ESTROGENOS EN CELULAS
MCF-7 SOMETIDAS A TRATAMIENTO CON OH-TAM
DURANTE 72 HORAS. RESCATE CON MEM+FCS.

A.T	E.T.	E.N.E.	E.E.	F.L.
90604	6047	4994	1053	89551
47852	3169	2409	760	47092
17977	1928	1058	870	17107
12948	1701	784	917	12031
9084	1388	555	833	8251

TIEMPO DE RESCATE = 18 HORAS

A.T	E.T.	E.N.E.	E.E.	F.L.
90604	7633	6341	1292	89312
47852	4238	3249	989	46863
17977	2578	1374	1204	16773
12948	2298	1097	1201	11747
9084	2010	755	1255	7829

TIEMPO DE RESCATE = 24 HORAS

CONTINUA +

TABLA III-36

RECEPTORES DE ESTROGENOS EN CELULAS
MCF-7 SOMETIDAS A TRATAMIENTO CON OH-TAM
DURANTE 72 HORAS. RESCATE CON MEM+FCS.

A.T	E.T.	E.N.E.	E.E.	F.L.
90604	7317	5788	1529	89075
47852	4128	2992	1136	46716
17977	2587	1274	1313	16664
12948	2415	1001	1414	11534
9084	2041	698	1343	7741

TIEMPO DE RESCATE = 30 HORAS

A.T	E.T.	E.N.E.	E.E.	F.L.
90604	8076	6811	1265	89339
47852	5241	3720	1521	46331
17977	2886	1532	1354	16623
12948	2492	1187	1305	11643
9084	2395	901	1494	7590

TIEMPO DE RESCATE = 36 HORAS

TABLA III-37

RECEPTORES DE PROGESTERONA EN CELULAS
MCF-7 SOMETIDAS A TRATAMIENTO CON OH-TAM
DURANTE 72 HORAS, RESCATE CON MEM+FCS.

A.T	E.T.	E.N.E.	E.E.	F.L.
68396	11391	9090	2301	66095
34541	5532	4680	852	33689
13420	2521	1990	531	12889
10308	1846	1330	516	9792
7336	1318	940	378	6958

TIEMPO DE RESCATE = 0 HORAS

A.T	E.T.	E.N.E.	E.E.	F.L.
68396	11311	9484	1827	66569
34541	6248	4842	1406	33135
13420	2633	2075	558	12862
10308	2062	1439	623	9685
7336	1453	1006	447	6889

TIEMPO DE RESCATE = 12 HORAS

CONTINUA +

TABLA III-37

RECEPTORES DE PROGESTERONA EN CELULAS
MCF-7 SOMETIDAS A TRATAMIENTO CON OH-TAM
DURANTE 72 HORAS. RESCATE CON MEM+FCS.

A.T	E.T.	E.N.B.	E.E.	F.L.
68396	13597	12673	924	67472
34541	6727	6199	528	34013
13420	2873	2240	633	12787
10308	2227	1607	620	9688
7336	1678	1167	511	6825

TIEMPO DE RESCATE = 18 HORAS

A.T	E.T.	E.N.B.	E.E.	F.L.
68396	14123	11755	2368	66028
34541	7339	5737	1602	32939
13420	3105	2345	760	12660
10308	2472	1883	589	9719
7336	1816	1370	446	6890

TIEMPO DE RESCATE = 24 HORAS

CONTINUA +

TABLA III-37

RECEPTORES DE PROGESTERONA EN CELULAS
MCF-7 SOMETIDAS A TRATAMIENTO CON OH-TAM
DURANTE 72 HORAS. RESCATE CON MEM+FCS.

A.T	E.T.	E.N.E.	E.E.	F.L.
68396	14189	10829	3360	65036
34541	7405	5400	2005	32536
13420	3460	2534	926	12494
10308	2476	1891	585	9723
7336	1904	1287	617	6719

TIEMPO DE RESCATE = 30 HORAS

A.T	E.T.	E.N.E.	E.E.	F.L.
68396	15575	12491	3084	65312
34541	8103	6321	1782	32759
13420	3387	2414	973	12447
10308	2772	1951	821	9487
7336	2008	1349	659	6677

TIEMPO DE RESCATE = 36 HORAS

TABLA III-38

RECEPTORES DE ESTROGENOS EN CELULAS
MCF-7 SOMETIDAS A TRATAMIENTO CON OH-TAM
DURANTE 72 HORAS. RESCATE CON MEM+FCS_(s).

A.T	E.T.	E.N.E.	E.E.	F.L.
75680	8010	6535	1475	74205
38022	3967	3075	892	37130
12900	1340	1254	86	12814
11466	1171	1002	169	11297
7494	977	756	221	7273

TIEMPO DE RESCATE = 0 HORAS

A.T	E.T.	E.N.E.	E.E.	F.L.
75680	5460	5500	960	74720
38022	3935	3250	685	37337
12900	1511	1361	150	12750
11466	1459	998	461	11005
7494	1053	813	240	7254

TIEMPO DE RESCATE = 12 HORAS

CONTINUA +

TABLA III-38

RECEPTORES DE ESTROGENOS EN CELULAS
MCF-7 SOMETIDAS A TRATAMIENTO CON OH-TAM
DURANTE 72 HORAS. RESCATE CON MEM+FCS (s.).

A.T	E.T.	E.N.E.	E.E.	F.L.
75680	8957	6609	2348	73332
38022	4573	3345	1228	36794
12900	1563	1143	420	12480
11466	1630	1000	630	10836
7494	1223	707	516	6978

TIEMPO DE RESCATE = 18 HORAS

A.T	E.T.	E.N.E.	E.E.	F.L.
75680	11570	8600	2970	72710
38022	6322	4333	1989	36033
12900	2173	1500	673	12227
11466	1824	1288	536	10930
7494	1362	947	415	7079

TIEMPO DE RESCATE = 24 HORAS

CONTINUA +

TABLA III-38

RECEPTORES DE ESTROGENOS EN CELULAS
MCF-7 SOMETIDAS A TRATAMIENTO CON OH-TAM
DURANTE 72 HORAS. RESCATE CON MEM+FCS⁽⁵⁾.

A.T	E.T.	E.N.E.	E.E.	F.L.
75680	9481	7997	1484	74196
38022	5075	3795	1280	36742
12900	1925	1418	507	12393
11466	1810	1176	634	10832
7494	1488	909	579	6915

TIEMPO DE RESCATE = 30 HORAS

A.T	E.T.	E.N.E.	E.E.	F.L.
75680	9591	7850	1741	73939
38022	6007	3985	2022	36000
12900	2324	1720	604	12296
11466	2258	1292	966	10500
7494	1520	787	733	6761

TIEMPO DE RESCATE = 36 HORAS

TABLA III-39

RECEPTORES DE PROGESTERONA EN CELULAS
MCF-7 SOMETIDAS A TRATAMIENTO CON OH-TAM
DURANTE 72 HORAS. RESCATE CON MEM+FCS_(s).

A.T	E.T.	E.W.E.	E.E.	F.L.
61705	14473	13054	1419	60286
30449	7537	6182	1355	29094
12550	3585	2351	1234	11316
9397	3007	1859	1148	8225
6213	2355	1265	1090	5123

TIEMPO DE RESCATE = 0 HORAS

A.T	E.T.	E.W.E.	E.E.	F.L.
61705	15722	13364	2358	59347
30449	9014	7309	1705	28744
12550	4460	2806	1654	10896
9397	3429	2169	1260	8113
6213	2383	1500	883	5330

TIEMPO DE RESCATE = 12 HORAS

CONTINUA +

TABLA III-39

RECEPTORES DE PROGESTERONA EN CELULAS
MCF-7 SOMETIDAS A TRATAMIENTO CON OH-TAM
DURANTE 72 HORAS. RESCATE CON MEM+FCS_(s).

A.T	E.T.	E.N.E.	E.E.	F.L.
61705	13382	12023	1359	60345
30449	7365	5945	1420	29029
12550	3899	2711	1188	11362
9397	3381	2154	1227	8146
6213	2512	1307	1205	5008

TIEMPO DE RESCATE = 18 HORAS

A.T	E.T.	E.N.E.	E.E.	F.L.
61705	17933	15986	1947	59758
30449	10045	8247	1798	28651
12550	4825	3151	1674	10876
9397	3467	2824	643	8730
6213	2738	1855	883	5330

TIEMPO DE RESCATE = 24 HORAS

CONTINUA +

TABLA III-39

RECEPTORES DE PROGESTERONA EN CELULAS
MCF-7 SOMETIDAS A TRATAMIENTO CON OH-TAM
DURANTE 72 HORAS. RESCATE CON MEM+FCS⁽⁵⁾.

A.T	E.T.	E.N.B.	E.E.	F.L.
61705	16291	15449	842	60863
30449	8949	7230	1719	28730
12550	4832	3170	1662	10888
9397	3823	2470	1353	8020
6213	2752	1558	1194	5019

TIEMPO DE RESCATE = 30 HORAS

A.T	E.T.	E.N.B.	E.E.	F.L.
61705	14682	12915	1767	59938
30449	8251	6437	1814	28635
12550	4686	2911	1775	10775
9397	4234	2457	1777	7596
6213	3277	1679	1598	4615

TIEMPO DE RESCATE = 36 HORAS

TABLA III-40

RECEPTORES DE ESTROGENOS EN CELULAS
MCF-7 SOMETIDAS A TRATAMIENTO CON OH-TAM
DURANTE 72 HORAS, RESCATE CON
MEM+FCS+EGF.

A.T	B.T.	E.N.E.	B.E.	F.L.
188841	18494	15200	3294	185547
93692	10308	6865	3443	90249
37645	4401	2453	1948	35697
28595	3655	1843	1812	26783
19633	2823	1533	1290	18343

TIEMPO DE RESCATE = 0 HORAS

A.T	B.T.	E.N.E.	B.E.	F.L.
188841	17383	14209	3174	185667
93692	8945	7543	1402	92290
37645	4264	2984	1280	36365
28595	3469	2314	1155	27440
19633	2569	1495	1074	18559

TIEMPO DE RESCATE = 6 HORAS

CONTINUA 4

TABLA III-40

RECEPTORES DE ESTROGENOS EN CELULAS
MCF-7 SOMETIDAS A TRATAMIENTO CON OH-TAM
DURANTE 72 HORAS. RESCATE CON
MEM+FCS+EGF.

A.T	E.T.	E.N.E.	E.R.	F.L.
188841	18633	14828	3805	185036
93692	10413	8229	2184	91508
37645	4738	3129	1609	36036
28595	3804	2440	1364	27231
19633	2901	1731	1170	18463

TIEMPO DE RESCATE = 12 HORAS

A.T	E.T.	E.N.E.	E.R.	F.L.
188841	22242	16094	6148	182693
93692	11239	8821	2418	91274
37645	5421	3701	1720	35925
28595	4025	2602	1423	27172
19633	3175	1067	1208	18425

TIEMPO DE RESCATE = 18 HORAS

CONTINUA →

TABLA III-40

RECEPTORES DE ESTROGENOS EN CELULAS
MCF-7 SOMETIDAS A TRATAMIENTO CON OH-TAM
DURANTE 72 HORAS, RESCATE CON
MEM+FCS+EGF.

A.T	E.T.	E.N.E.	E.E.	F.L.
188841	22572	18639	3933	184908
93692	12888	10500	2388	91304
37645	5519	4036	1483	36162
28595	4453	3003	1450	27145
19633	3586	2231	1355	18278

TIEMPO DE RESCATE = 24 HORAS

TABLA III-41

RECEPTORES DE ESTROGENOS EN CELULAS
MCF-7 SOMETIDAS A TRATAMIENTO CON OH-TAM
DURANTE 72 HORAS. RESCATE CON
MEM+FCS₀+EGF.

A.T	E.T.	E.N.E.	E.B.	F.L.
188841	18494	15200	3294	185547
93692	10308	6865	3443	90249
37645	4401	2453	1948	35697
28595	3655	1843	1812	26783
19633	2823	1533	1290	18343

TIEMPO DE RESCATE = 0 HORAS

A.T	E.T.	E.N.E.	E.B.	F.L.
188841	17175	14546	2629	186212
93692	8374	7527	847	92845
37645	3466	2828	638	37007
28595	2807	2291	516	28079
19633	1831	1442	389	19244

TIEMPO DE RESCATE = 6 HORAS

CONTINUA +

TABLA III-41

RECEPTORES DE ESTROGENOS EN CELULAS
MCF-7 SOMETIDAS A TRATAMIENTO CON OH-TAM
DURANTE 72 HORAS. RESCATE CON
MEM+FCS₁₀+EGF.

A.T	E.T.	E.N.E.	E.E.	F.L.
188841	16771	14317	2454	186387
93692	8936	6983	1953	91739
37645	4003	3054	949	36696
28595	2909	2030	879	27716
19633	2260	1771	489	19149

TIEMPO DE RESCATE = 12 HORAS

A.T	E.T.	E.N.E.	E.E.	F.L.
188841	18364	13581	4783	184058
93692	9479	7376	2103	91589
37645	4543	3476	1067	36578
28595	3446	2478	958	27627
19633	2277	1745	532	19101

TIEMPO DE RESCATE = 18 HORAS

CONTINUA +

TABLA III-41

RECEPTORES DE ESTROGENOS EN CELULAS
MCF-7 SOMETIDAS A TRATAMIENTO CON OH-TAM
DURANTE 72 HORAS, RESCATE CON
MEM+FCS₁₀+EGF.

A.T	E.T.	E.N.E.	E.E.	F.L.
188841	19774	14154	5620	183221
93692	10473	7404	3069	90623
37645	3993	3064	929	36716
28595	3316	2458	858	27737
19633	2591	1807	784	18849

TIEMPO DE RESCATE = 24 HORAS

TABLA III-42

RECEPTORES DE PROGESTERONA EN CELULAS
MCF-7 SOMETIDAS A TRATAMIENTO CON OH-TAM
DURANTE 72 HORAS, RESCATE CON
MEM+FCS+EGF.

A.T	E.T.	E.N.E.	B.E.	F.L.
135484	27579	20259	7320	128164
68985	15350	10521	4829	64156
26177	6528	4225	2303	23874
19339	4942	3181	1761	17578
12886	3794	2100	1694	11192

TIEMPO DE RESCATE = 0 HORAS

A.T	E.T.	E.N.E.	B.E.	F.L.
135484	26324	20993	5331	130153
68985	14610	11267	3343	65642
26177	6363	4236	2127	24050
19339	5088	2957	2131	17208
12886	3534	2004	1530	11356

TIEMPO DE RESCATE = 6 HORAS

CONTINUA +

TABLA III-42

RECEPTORES DE PROGESTERONA EN CELULAS
MCF-7 SOMETIDAS A TRATAMIENTO CON OH-TAM
DURANTE 72 HORAS. RESCATE CON
MEM+FCS+EGF.

A.T	E.T.	E.N.E.	E.E.	F.L.
135484	26783	24688	2095	133389
68985	14280	12237	2043	66942
26177	6132	4314	1818	24359
19339	5249	3344	1905	17434
12886	3801	2355	1446	11440

TIEMPO DE RESCATE = 12 HORAS

A.T	E.T.	E.N.E.	E.E.	F.L.
135484	26754	24619	2135	133349
68985	13850	12069	1781	67204
26177	6615	5079	1536	24641
19339	5038	3301	1737	17602
12886	3401	2284	1117	11769

TIEMPO DE RESCATE = 18 HORAS

CONTINUA +

TABLA III-42

RECEPTORES DE PROGESTERONA EN CELULAS
MCF-7 SOMETIDAS A TRATAMIENTO CON OH-TAM
DURANTE 72 HORAS, RESCATE CON
MEM+FCS+EGF.

A.T	E.T.	E.N.B.	E.B.	F.L.
135484	27612	27209	403	135081
68985	14482	11783	2699	66286
26177	6261	4572	1689	24488
19339	5422	3593	1829	17510
12886	3641	2365	1276	11610

TIEMPO DE RESCATE = 24 HORAS

TABLA III-43

RECEPTORES DE PROGESTERONA EN CELULAS
MCF-7 SOMETIDAS A TRATAMIENTO CON OH-TAM
DURANTE 72 HORAS; RESCATE CON
MEM+FCS_(s)+EGF.

A.T	E.T.	E.N.B.	E.B.	F.L.
135484	27579	20259	7320	128164
68985	15350	10521	4829	64156
26177	6528	4225	2303	23874
19339	4942	3181	1761	17578
12886	3794	2100	1694	11192

TIEMPO DE RESCATE = 0 HORAS

A.T	E.T.	E.N.B.	E.B.	F.L.
135484	25286	19963	5323	130161
68985	13554	10184	3370	65615
26177	5778	4203	1575	24602
19339	4540	3085	1455	17884
12886	3245	2054	1191	11695

TIEMPO DE RESCATE = 6 HORAS

CONTINUA 4

TABLA III-43

RECEPTORES DE PROGESTERONA EN CELULAS
MCF-7 SOMETIDAS A TRATAMIENTO CON OH-TAM
DURANTE 72 HORAS. RESCATE CON
MEM+FCS_(S)+EGF.

A.T	E.T.	E.N.E.	E.R.	F.L.
135484	27757	23666	4090	131393
68985	14575	10688	3887	65098
26177	6633	4700	1933	24244
19339	4961	3213	1748	17591
12886	3591	2348	1243	11543

TIEMPO DE RESCATE = 12 HORAS

A.T	E.T.	E.N.E.	E.R.	F.L.
135484	23810	22388	1422	134062
68985	11051	9670	1381	67604
26177	5404	4470	934	25243
19339	4756	3475	1281	18058
12886	3719	2174	1545	11341

TIEMPO DE RESCATE = 18 HORAS

CONTINUA +

TABLA III-43

RECEPTORES DE PROGESTERONA EN CELULAS
MCF-7 SOMETIDAS A TRATAMIENTO CON OH-TAM
DURANTE 72 HORAS. RESCATE CON
MEM+FCS_(s)+EGF.

A.T	E.T.	E.N.E.	E.E.	F.L.
135484	27612	27209	403	135081
68985	14482	11783	2699	66286
26177	6261	4572	1689	24488
19339	5422	3593	1829	17510
12886	3641	2365	1276	11610

TIEMPO DE RESCATE = 24 HORAS

DISCUSSION

IV. DISCUSION.

4.1. CRECIMIENTO Y DISEMINACION DEL CANCER DE MAMA.

La diseminación metastásica de un tumor es, sin duda, el hecho más significativo de la historia natural del cáncer. Esta progresión de la enfermedad ocurre cuando el tumor alcanza un determinado "tamaño crítico", dependiente del tipo particular de neoplasia. Si el tumor primario se trata antes de que alcance el "tamaño crítico" citado, el acto terapéutico locorregional conduce al control de la enfermedad. Por el contrario, cuando la progresión tumoral ocurre con anterioridad al diagnóstico y/o tratamiento del primario, el cáncer puede considerarse desde el principio como una enferme-

dad generalizada aunque la demostración clínica de la existencia de metástasis se obtenga bastante tiempo después.

La aplicación última de los modelos matemáticos concebidos para describir la historia oculta de la enfermedad tumoral consiste, precisamente, en un intento de aproximación al conocimiento del "tamaño crítico" del tumor en cuestión y la búsqueda de la relación existente entre masa tumoral y métodos necesarios para su detección. Conocidos uno y otro tipo de datos es posible predecir, hoy día, el porcentaje de enfermas en las que podría evitarse el proceso de diseminación metastásica mediante el empleo de programas de diagnóstico y tratamiento precoz. En cáncer de mama las predicciones avanzadas por los modelos teóricos han resultado, en efecto, concordantes con los datos procedentes de campañas de "screening" (156), habiéndose demostrado la existencia de una fuerte asociación entre el tamaño del tumor y la proporción de pacientes con metástasis (155). (Resulta ilustrativo, por otra parte, conocer que el "tamaño crítico" del tumor es un parámetro dependiente de ciertas características biológicas del mismo, entre las que destaca el grado histológico de diferenciación (155).

Los datos de observación resultantes del seguimiento de las enfermas incluidas en este trabajo, nos

han permitido calcular la probabilidad de supervivencia de las mismas a los 3 años del diagnóstico y tratamiento del tumor primario. La Tabla III-1 presenta, a este respecto, la probabilidad de supervivencia (con o sin enfermedad residual) del total de casos estudiados, con independencia de variables de orden pronóstico cualquiera como el estadio clínico, el nivel de afectación axilar, el fenotipo del receptor, el grado histológico de diferenciación, etc.. El resultado obtenido, $P = 0,82 \pm 0,044$ no difiere significativamente del descrito por otros autores (23,26). Los datos referentes a supervivencia libre de síntomas, también a tres años, recogidos en la Tabla III-2 ($P = 0,63 \pm 0,044$) indican que, aproximadamente, el 40% de las enfermas hacen recidiva tumoral o metástasis distal en el curso de los tres primeros años que siguen al diagnóstico y tratamiento del tumor primario.

La representación gráfica en coordenadas semilogarítmicas de los datos de supervivencia global en función del tiempo (Figura 4.1), demuestra que entre ambas variables existe una relación exponencial decreciente. La pendiente de la recta resultante indica que la fracción de mujeres afectas de cáncer de mama que mueren a causa de su enfermedad, en cada fracción de tiempo, es constante.

CANCER DE MAMA SUPERVIVENCIA GLOBAL

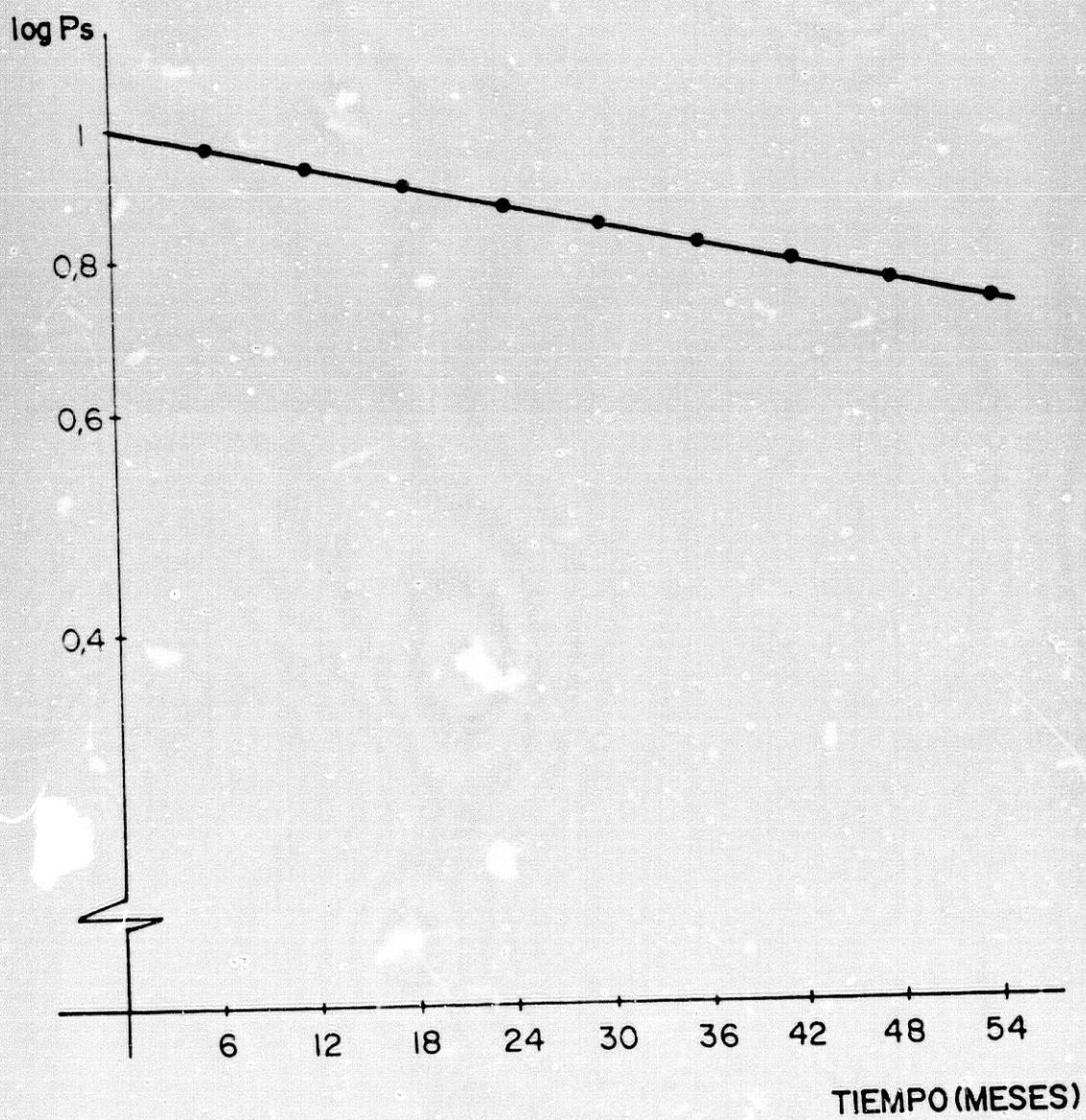


FIG.- 4.1.

Esta relación se cumple, en nuestra experiencia al menos, hasta $t = 54$ meses y su generalización conduciría a una conclusión absolutamente negativa: "en cáncer de mama no existe ninguna esperanza de curación".

Este análisis no es, sin embargo, correcto. Lo erróneo del mismo surge de manera inmediata cuando se analiza la representación, en coordenadas semilogarítmicas, de los datos de supervivencia libre de enfermedad en relación al tiempo (Figura 4.2). En efecto, la función que liga ambas variables puede ser descompuesta en varias fases. La primera de ellas, de pendiente muy pronunciada, indica que, en cierto número de casos, la "velocidad" con la que ocurren la recurrencia tumoral y la muerte de las pacientes es acusada. La segunda define una fracción de pacientes en la que la "velocidad" de muerte es menor y, por último, la tercera fase (para $t > 36$ meses), que parece aproximarse a un valor asintótico límite, permite afirmar que la estabilización de los índices de supervivencia es real y que, por consiguiente, es posible la curación, tras el tratamiento, de una cierta parte de enfermas (87,264). (Evidentemente, los índices de supervivencia en mujeres afectas de cáncer de mama no sometidas a tratamiento de ningún tipo son claramente inferiores a los que se obtienen cuando la enfermedad es correctamente tratada)

(21).

CANCER DE MAMA

SUPERVIVENCIA LIBRE DE ENFERMEDAD

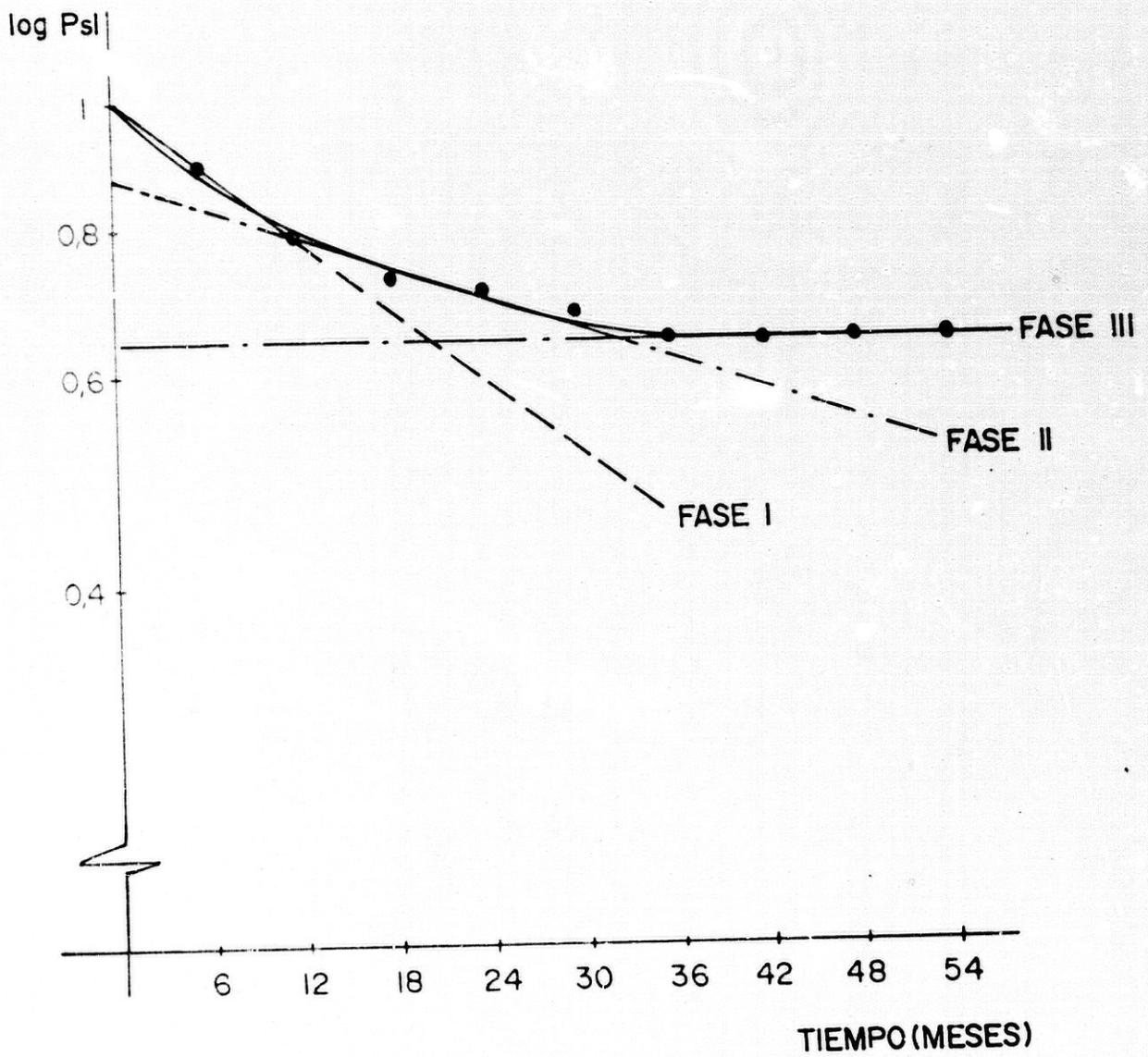


FIG.- 4.2.

El cáncer de mama es heterogeneo. Se sabe, por ejemplo, que la diseminación metastásica de los cánceres de grado III, con más de tres ganglios linfáticos afectados, alcanza al 50% de los tumores de 1 cm de diámetro. Por el contrario, para tumores de grado I sin afectación axilar, el tamaño del tumor necesario para que la enfermedad metastásica distal ocurra, en esa misma proporción, es de 10 cm de diámetro (287). Esta heterogeneidad obliga a la definición de subgrupos de pacientes caracterizados por distintos factores de pronóstico y al establecimiento de niveles de influencia pronóstica dentro de tales factores.

4.2. FACTORES DE PRONOSTICO EN CANCER DE MAMA.

4.2.1. Tamaño del tumor.

Para evaluar la influencia del tamaño tumoral sobre la probabilidad de supervivencia y de supervivencia libre de enfermedad en el conjunto de enfermas incluidas en este trabajo, hemos definido dos grupos caracterizados por el diámetro mayor del espécimen tumoral. Datos fiables referentes a las dimensiones del tumor han sido obtenidos en 79 de los 87 casos de tumores primarios y en 7 de los 22 casos de carcinomas me-

tastáticos analizados. Las características generales de los dos grupos resultantes de la utilización, como elemento discriminante, de un diámetro tumoral mayor o menor de 5 cm se ofrecen en la Tabla IV-1. El análisis de los datos recogidos en esa tabla permite afirmar que no existen diferencias significativas en la distribución de las enfermas, cuando se compara la proporción de casos RE+/RE-, N+/N- y/o GI-II/GIII que se incluyen en cada uno de los grupos. Tampoco los tratamientos efectuados difieren significativamente e, igualmente, la proporción de mujeres pre y postmenopáusicas incluidas en cada grupo resulta comparable.

Asegurada la comparabilidad entre los grupos resulta posible afirmar que el tamaño del tumor primario influye decisivamente, tanto en la supervivencia global como en la supervivencia libre de síntomas. Para ello, hemos sometido a comparación estadística los datos recogidos en la Tabla IV-2, comprobando previamente la igualdad o desigualdad de las varianzas de cada muestra mediante el recurso a la distribución teórica F de Snedecor.

En efecto, para el análisis de la probabilidad de supervivencia global tenemos que:

$$F_{0.05} = 0,077^2 / 0,045^2 = 2,93 ; F_{0,05} = 2,07 ;$$

TABLA IV-1

CANCER DE MAMA.
INFLUENCIA DEL TAMAÑO TUMORAL.

	$\emptyset \leq 5 \text{ cm}$	$\emptyset > 5 \text{ cm}$
Nº de casos	44	42
RE+	27	26
RE-	17	16
N+	23	24
N-	17	8
G I-II	15	6
G III	7	9
Premenopáusicas	14	19
Postmenopáusicas	30	23
C	2	3
C+RT	6	5
C+RT+QT	9	9
C+RT+HT	6	5
C+QT	3	2
C+HT	10	4
C+HT+QT	2	7
C+RT+QT+HT	6	7

TABLA IV-2

PROBABILIDAD DE SUPERVIVENCIA (P_s)
 Y DE SUPERVIVENCIA LIBRE DE
 ENFERMEDAD (P_{sL}) EN FUNCION
 DEL TAMANO TUMORAL.

(3 años de seguimiento)

	$\emptyset \leq 5 \text{ cm}$	$\emptyset > 5 \text{ cm}$
P_s	0,92	0,67
r_s	0,045	0,077
P_{sL}	0,69	0,47
r_{sL}	0,077	0,072

$$F_{exp} > F_{0,05} \text{ de donde } S_1 \neq S_2$$

y comoquiera que la estimación de la varianza del grupo ($\emptyset < 5$ cm) es estadísticamente diferente de la del grupo ($\emptyset > 5$ cm), es necesario aplicar el test de Cochran:

$$\begin{aligned} t_{exp} &= |\bar{X}_1 - \bar{X}_2| / (S_1^2/n_1 + S_2^2/n_2)^{1/2} = \\ &= |10,92 - 0,671| / (0,077^2/23 + 0,045^2/22)^{1/2} = 13,36 \end{aligned}$$

y comparar el resultado de t_{exp} con t'_{α} . Así, siendo:

$$t'_{\alpha} = (t_{1,\alpha} \times S_1^2/n_1 + t_{2,\alpha} \times S_2^2/n_2) / (S_1^2/n_1 + S_2^2/n_2)$$

para $\alpha = 0,001$:

$$t_{1,0,001} = 3,819 \text{ y } t_{2,0,001} = 3,792, \text{ por lo que:}$$

$$t'_{\alpha} = (3,819 \times 0,077^2/23 + 3,792 \times 0,045^2/22) / (0,077^2/23 + 0,045^2/22) = 3,81$$

Por último, como $(t_{exp} = 13,36) > (t'_{\alpha} = 3,81)$ se puede concluir que las diferencias observadas en la estimación de la probabilidad de supervivencia global de ambos grupos son estadísticamente significativas ($p < 0,001$).

Realizando este mismo análisis para los valores de P_{SL} (Probabilidad de supervivencia libre de síntomas), encontramos:

$$F_{exp} = 0,077^2 / 0,072^2 = 1,14$$

$$(F_{exp} = 1,14) < (F_{0,05} = 2,07)$$

de donde se deduce que los dos grupos son homogéneos en cuanto a su varianza. El test estadístico consiste ahora en aplicar la ecuación:

$$t_{exp} = |\bar{X}_1 - \bar{X}_2| / [S(1/n_1 + 1/n_2)^{1/2}]$$

donde:

$$S = [((n_1-1)S_1^2 + (n_2-1)S_2^2) / (n_1+n_2-2)]^{1/2}$$

$$= [(21 \times 0,077^2 + 22 \times 0,072^2) / 43]^{1/2} = 0,074$$

$$t_{exp} = |10,69 - 0,47| / [0,074(1/22 + 1/23)^{1/2}] = 9,97$$

Como el valor $t_{0,001}$ de la distribución t de Student para 43 grados de libertad resulta ser igual a 3,55:

$$t_{exp} > t_{0,001}$$

es posible concluir que las diferencias encontradas entre los valores de probabilidad de supervivencia libre de enfermedad en cada grupo son estadísticamente significativas ($p < 0,001$).

Las Figuras 4.3 y 4.4 muestran, en forma gráfica, las diferencias observadas para los valores de probabilidad P_s y P_{su} en cada uno de los grupos comparados.

CANCER DE MAMA
PROBABILIDAD DE SUPERVIVENCIA
INFLUENCIA DEL TAMAÑO TUMORAL

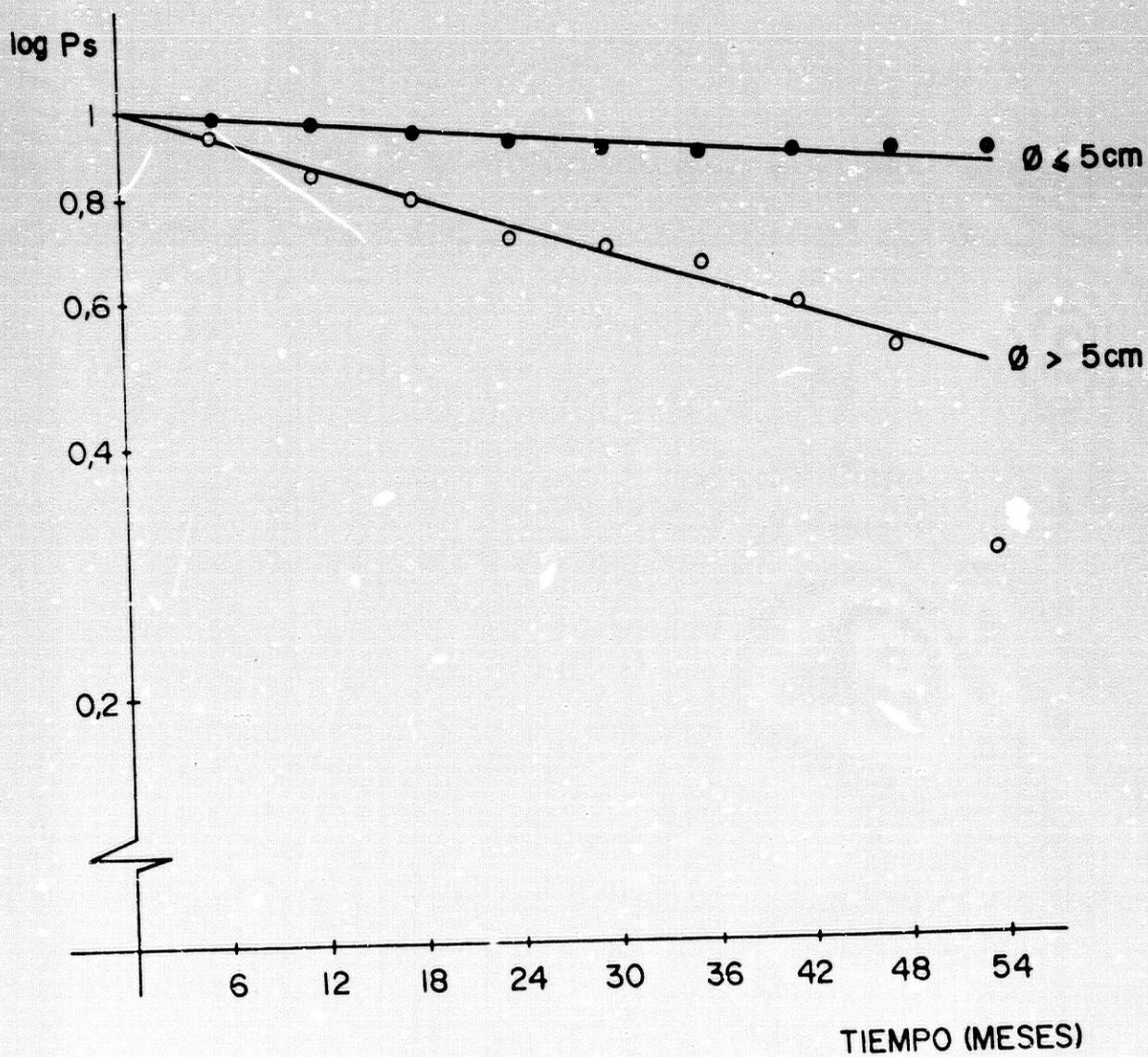


FIG.- 4.3.

CANCER DE MAMA
PROBABILIDAD DE SUPERVIVENCIA
LIBRE DE ENFERMEDAD
INFLUENCIA DEL TAMAÑO TUMORAL

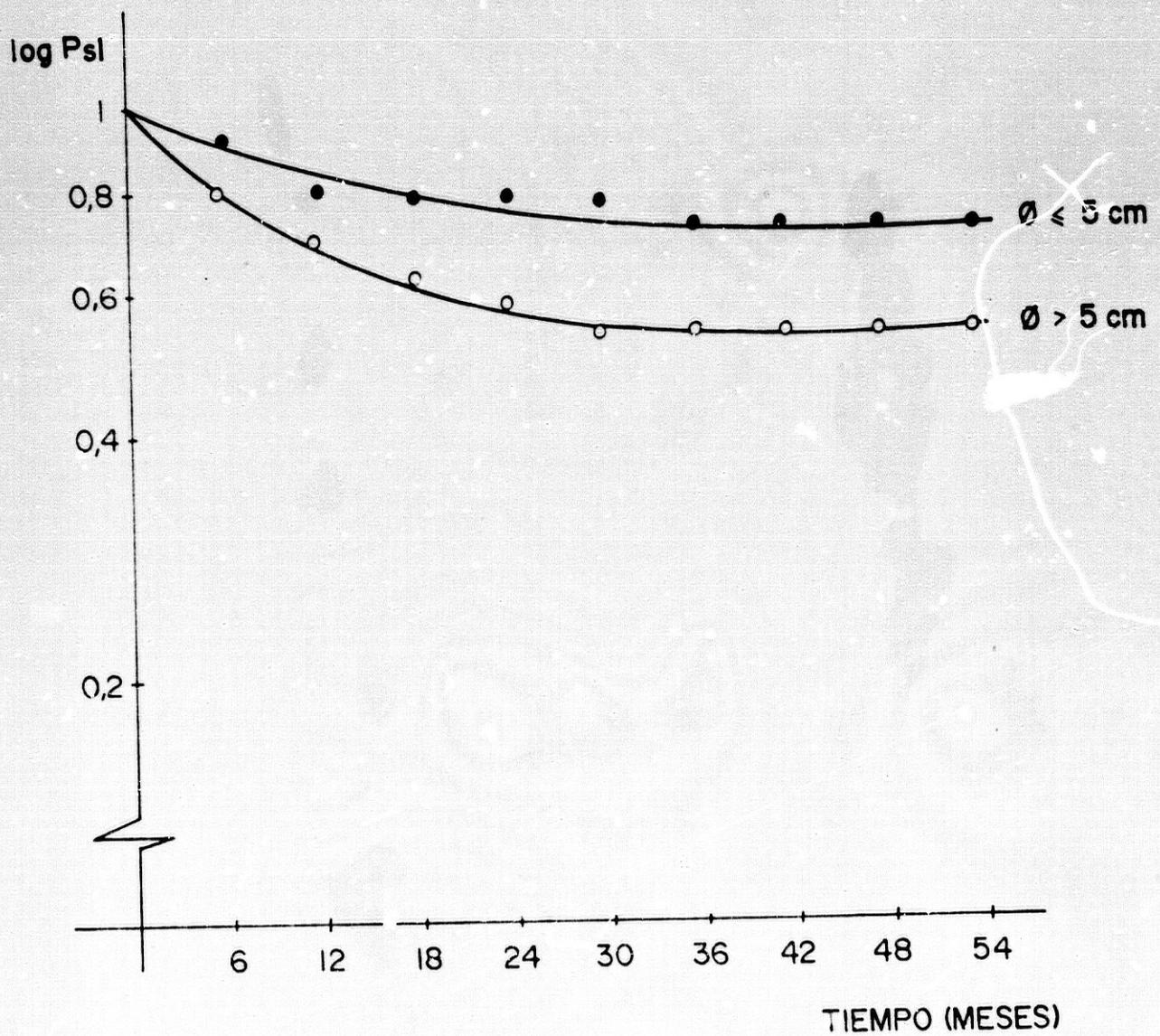


FIG.- 4.4.

El análisis de las mismas permite deducir claramente que: a) el 50% de la mujeres con tumor primario de $\varnothing > 5$ cm, hará recidiva o metástasis en el curso de los dos primeros años que siguen al diagnóstico y tratamiento del cáncer; b) la fracción de mujeres que sobrevive sin enfermedad a tumores de $\varnothing > 5$ cm se reduce al 50% en el curso de los 4 años siguientes al tratamiento; c) una determinada fracción de pacientes con tumores de $\varnothing > 5$ cm mueren muy rápidamente (antes de los 24 meses siguientes al tratamiento) como consecuencia del fracaso terapéutico en el intento de control local o distal de la enfermedad; d) frente a estos resultados la probabilidad de supervivencia global y libre de síntomas a los 4 años en pacientes con tumores de $\varnothing < 5$ cm alcanza valores de 90% y 70%, respectivamente

4.2.2. Estado de los linfáticos axilares.

Son numerosísimos los estudios clínicos que refieren que el estado histológico de los linfáticos axilares en pacientes afectas de cáncer de mama, proporciona un elemento de valor incuestionable en la fijación del pronóstico de la enfermedad. Esta noción ha sido incluso utilizada en el diseño de los modelos ma-

tematicos que simulan la historia natural del proceso neoplásico (10,264)

Nuestros resultados para la probabilidad de supervivencia global y supervivencia libre de enfermedad en función del estado axilar, a los tres años de seguimiento, se resumen en la Tabla IV-3

La comparación estadística de los valores de probabilidad P_s (supervivencia global) para cada uno de los grupos de enfermas estudiado demuestra que la probabilidad de supervivencia a tres años es igual para el grupo N+ que para el grupo N-:

$$F_{exp} = 1,40 ; F_{0,05} = 2,11 ; F_{exp} < F_{0,05}$$

$$t_{exp} = 1,86 ; p < 0,1$$

lo que implica diferencias no significativas.

Sin embargo, cuando se someten a comparación los índices de probabilidad de supervivencia libre de síntomas para los grupos N- y N+, el resultado del test estadístico:

$$F_{exp} = 1,06 ; F_{0,05} = 2,05 ;$$

$$t_{exp} = 11,8 ; p < 0,001$$

TABLA IV-3

PROBABILIDAD DE SUPERVIVENCIA (P_s)
 Y DE SUPERVIVENCIA LIBRE DE
 ENFERMEDAD (P_{sL}) EN FUNCION
 DEL ESTADO AXILAR.

(3 años de seguimiento)

GRUPO	Nº	P_s	σ_s	P_{sL}	σ_{sL}
N-	18	0,90	0,058	0,85	0,068
N+	27	0,87	0,049	0,61	0,066
N 1-3	10	0,82	0,092	0,66	0,116
N \geq 4	17	0,90	0,054	0,58	0,082

permite afirmar que la probabilidad de permanecer libre de enfermedad a los tres años del diagnóstico y tratamiento del tumor es significativamente menor para el conjunto de enfermas en las que fue posible demostrar la presencia de enfermedad tumoral en los linfáticos de la axila (grupo N+).

Hemos realizado, por otra parte, un análisis cuidadoso de las características de los subgrupos definidos por el estado de los linfáticos de la axila. Así, datos fiables resultantes de la disección axilar se han encontrado en 76 de los 87 casos de tumor primario incluidos en este trabajo. De ellos, 27 fueron definidos como N- y 49 como N+. La Tabla IV-4 ofrece, para cada uno de los grupos N- y N+, la distribución de casos en relación al tamaño, grado de diferenciación, receptores de estrógenos, edad y esquema terapéutico utilizado en su tratamiento.

El examen superficial de los datos recogidos en la Tabla IV-4 permite sugerir que el estado de los linfáticos axilares se encuentra relacionado no sólo con el tamaño tumoral sino también con el fenotipo del receptor estrogénico y el estado hormonal de las pacientes sin que la influencia del grado de diferenciación parezca importante. Interesa destacar aquí que los esquemas terapéuticos utilizados en pacientes N- han sido diferentes de los empleados en mujeres con axila N+.

TABLA IV-4

CANCER DE MAMA.
INFLUENCIA DEL ESTADO AXILAR

	N-	N+
Nº de casos	27	49
RE+	21	29
RE-	6	20
T ≤ 5 cm	16	22
T > 5 cm	8	23
G I-II	5	15
G III	3	6
Premenopáusicas	6	23
Postmenopáusicas	21	26
C	3	4
C+RT	8	3
C+RT+QT	1	15
C+RT+HT	5	3
C+QT	0	2
C+HT	9	3
C+HT+QT	0	6
C+RT+QT+HT	1	13

Conocido el efecto que la presencia de tumor en los linfáticos de la axila ejerce sobre el pronóstico de la enfermedad es habitual, en casos N+, el uso de quimioterapia complementaria al tratamiento locorregional (cirugía-radioterapia). En estas condiciones, el hecho de que la probabilidad de recidiva y/o metástasis observada en el grupo N+ haya sido claramente superior a la objetivada en el grupo N- conduce a la idea de que el beneficio de la quimioterapia adyuvante utilizada en el tratamiento de las enfermas de nuestra serie ha sido realmente limitado.

Con objeto de analizar ahora la relación existente entre tamaño tumoral y probabilidad de invasión de los linfáticos de la axila hemos construido la Tabla IV-5 de contingencia de ambas variables, con la que intentamos demostrar si el tamaño tumoral definido por un $\emptyset > 5$ cm condiciona o no el carácter N+. Utilizando para ello el criterio χ^2 resulta:

$$\chi^2_{\text{exp}} = 19,5 + 26,2 + 19,4 + 5,9 - 69 = 2$$

El valor de $\chi^2_{0,05}$ para un grado de libertad es 3,84 de donde se deduce que:

$$\chi^2_{\text{exp}} < \chi^2_{0,05}$$

TABLA IV-5

ASOCIACION / INDEPENDENCIA
 ENTRE TAMAÑO TUMORAL Y
 ESTADO DE LOS LINFATICOS AXILARES

	N-	N+	T ₁
Ø ≤ 5 cm	16	22	38
Ø > 5 cm	8	23	31
T ₂	24	45	69

y por tanto, entre el tamaño del tumor y la presencia o la ausencia de enfermedad en los linfáticos de la axila no es posible establecer, al menos en la muestra analizada por nosotros, ningún tipo de asociación o dependencia. Ambos caracteres deben ser considerados como factores de influencia independiente sobre el pronóstico de la enfermedad.

Como quiera que este resultado puede parecer, a primera vista, sorprendente hemos tratado de determinar si existe o no relación entre el tamaño tumoral y el grado de invasión axilar, dividiendo los casos N+ en dos subgrupos: bajo nivel de afectación (N 1-3) y alto nivel de afectación axilar (N >4), respectivamente. La tabla de contingencia es en este caso la que muestra la Tabla IV-6.

El cálculo de χ^2_{exp} arroja en este caso el siguiente resultado:

$$\chi^2_{exp} = 14,6 + 8,8 + 4,1 + 20,2 - 45 = 2,7$$

y como $\chi^2_{0,05} = 3,84$ se alcanza idéntica conclusión a la anterior: no ha sido posible encontrar una relación estadísticamente significativa entre tamaño tumoral y nivel de afectación de los linfáticos de la axila, en la serie de pacientes analizada.

TABLA IV-6

ASOCIACION / INDEPENDENCIA
 ENTRE TAMANO TUMORAL Y NIVEL DE
 AFECTACION DE LOS LINFATICOS AXILARES

	N1-3	N>4	T ₁
Ø ≤ 5 cm	11	11	22
Ø > 5 cm	6	17	23
T ₂	17	28	45

4.2.3. Receptores de estrógenos.

Los datos relativos a supervivencia global y supervivencia libre de síntomas obtenidos en este trabajo, en función del fenotipo del receptor, permiten analizar la influencia pronóstica de éste en la enfermedad tumoral maligna de la mama. La Tabla IV-7 recoge los valores de P_s y P_{st} , a tres años, en cada uno de los grupos RE+ y RE- definidos.

La comparación estadística de los valores de P_s para los grupos RE+ y RE- ofrece el siguiente resultado:

$$F_{exp} = 6,9 ; F_{0,05} = 2,05$$

$$F_{exp} > F_{0,05} ; S_{RE+} \neq S_{RE-}$$

Aplicando ahora el test aproximado de Cochran:

$$t_{exp} = |\bar{X}_1 - \bar{X}_2| / (S_1^2/n_1 + S_2^2/n_2)^{1/2} =$$

$$= |10,95 - 0,66| / (0,034^2/35 + 0,089^2/13)^{1/2} = 11,44$$

$$t'_{0,001} = (3,646 \times 0,034^2/35 + 4,318 \times 0,089^2/13) / (0,034^2/35 + 0,089^2/13) = 4,28$$

TABLA IV-7

PROBABILIDAD DE SUPERVIVENCIA (P_s)
 Y DE SUPERVIVENCIA LIBRE DE
 ENFERMEDAD (P_{sL}) EN FUNCION
 DEL FENOTIPO DEL RECEPTOR ESTROGENICO.

(3 años de seguimiento)

	RE+	RE-
P_s	0,95	0,66
r_s	0,034	0,089
P_{sL}	0,68	0,54
r_{sL}	0,061	0,094

$$t_{exp} > t_{0.001}$$

de donde se deduce que las diferencias existentes entre los valores de P_s definidos para los grupos RE+ y RE- resultan significativas a un nivel de $P < 0,001$. Por tanto, el fenotipo RE+ se asocia ciertamente a un mejor pronóstico.

La comparación de los índices de P_{st} proporciona un resultado equivalente. En efecto, las relaciones:

$$F_{exp} = 0,094^2 / 0,061^2 = 2,4 ; F_{0,05} = 2,05$$

$$F_{exp} > F_{0,05} ; S_{RE+} \neq S_{RE-}$$

$$t_{exp} = |10,68 - 0,541| / (0,061^2/35 + 0,094^2/13)^{1/2} = 4,99$$

$$t_{0,001} = 4,27 ; t_{exp} > t_{0,001}$$

demuestran, nuevamente, la existencia de diferencias significativas entre los índices de probabilidad de supervivencia libre de enfermedad correspondientes a los grupos RE+ y RE-. Las Figuras 4.5 y 4.6 ofrecen, en forma gráfica y en función del tiempo de seguimiento, la evolución de los valores de P_s y P_{st} antes descritos.

CANCER DE MAMA
PROBABILIDAD DE SUPERVIVENCIA
INFLUENCIA DEL FENOTIPO DEL RECEPTOR

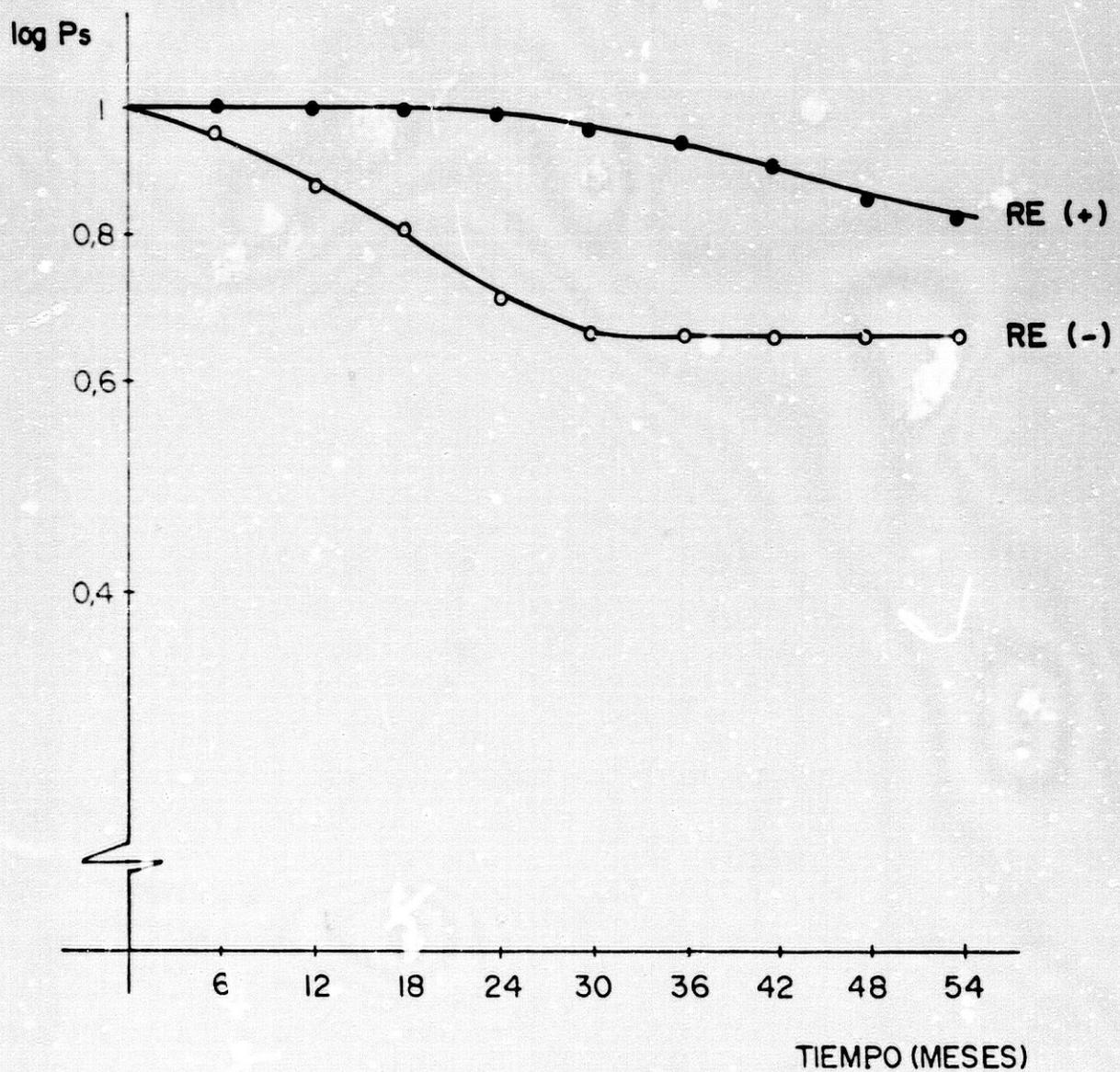


FIG.- 4.5.

CANCER DE MAMA
PROBABILIDAD DE SUPERVIVENCIA
LIBRE DE ENFERMEDAD
INFLUENCIA DEL FENOTIPO DEL RECEPTOR

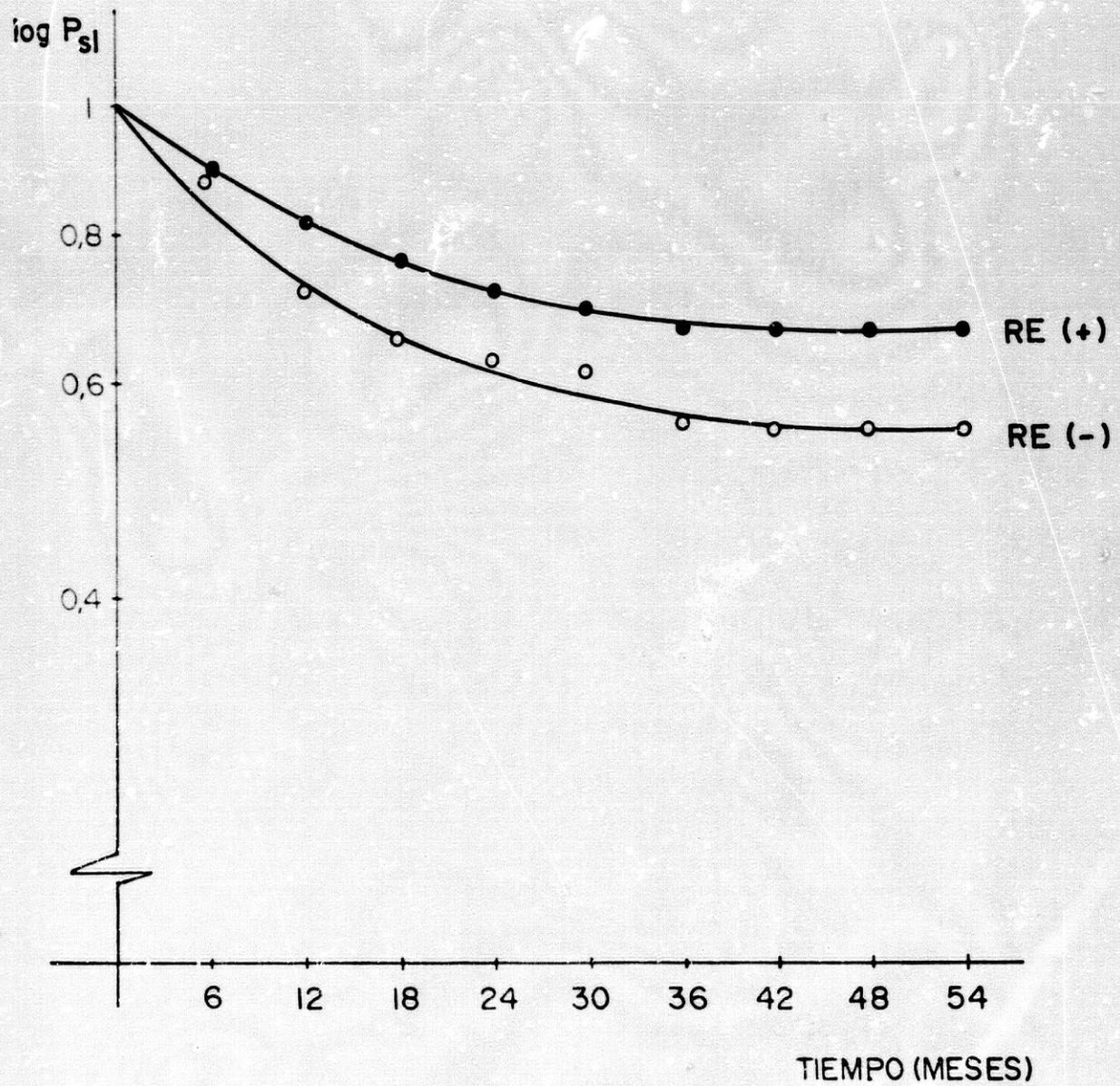


FIG.- 4. 6.

En términos de comparabilidad de grupos y tomando como referencia el fenotipo tumoral RE+/RE- la distribución de las enfermas de acuerdo con el tamaño tumoral, el nivel de afectación de los linfáticos axilares, la edad, el grado de diferenciación tumoral y el esquema terapéutico utilizado se expone en la Tabla IV-8. Del análisis de dicha tabla surge como en el caso anterior la evidencia de que existen diferencias claras entre los esquemas terapéuticos ensayados sobre uno y otro grupo de pacientes. Tratamientos que incluyen la hormonoterapia se han efectuado, preferentemente, sobre el conjunto de enfermas definido por el fenotipo RE+. Por el contrario, la quimioterapia se ha utilizado, predominantemente, en el conjunto de pacientes RE- en las cuales, a pesar del tratamiento químico realizado, los índices de P_s y P_{sa} han resultado ser inferiores a los derivados del conjunto RE+.

El análisis de las posibles relaciones existentes entre los distintos factores de pronóstico incluidos en la Tabla IV-8 se ha llevado a cabo, de manera análoga a la descrita anteriormente, mediante la elaboración de las correspondientes tablas de contingencia. En dicho análisis la distribución de los casos estudiados en cada una de las casillas de la tabla respectiva permite el cálculo del estadístico χ^2_{exp} .

TABLA IV-8

CANCER DE MAMA.
 INFLUENCIA DEL FENOTIPO DE
 RECEPTORES ESTROGENICOS.

	RE+	RE-
Nº de casos	55	32
Ø ≤ 5 cm	26	15
Ø > 5 cm	23	15
N-	21	6
N+	29	20
G I-II	13	8
G III	6	7
Premenopáusicas	14	17
Postmenopáusicas	41	15
C	3	4
C+RT	7	6
C+RT+QT	4	13
C+RT+HT	6	1
C+QT	1	2
C+HT	11	3
C+HT+QT	11	0
C+RT+QT+HT	12	3

La Tabla IV-9 presenta, en primer lugar, el estudio de la relación de asociación o independencia existente entre el fenotipo del receptor y el tamaño tumoral. En este caso el valor de χ^2_{exp} resulta ser:

$$\chi^2_{exp} = 26,6 + 14,5 + 22,4 + 15,6 - 79 = 0,1$$

y, por tanto,

$$\chi^2_{exp} < \chi^2_{0,05}$$

lo que demuestra que entre el fenotipo del receptor y el tamaño del tumor no existe ningún tipo de relación y, por tanto, ambos factores influyen sobre el pronóstico de manera independiente.

La tabla IV-10 ofrece, en segundo lugar, la distribución de los casos estudiados en función del receptor y del nivel de afectación linfática observados en cada caso.

El cálculo de la χ^2_{exp} :

$$\chi^2_{exp} = 26,1 + 23,8 + 24,8 + 3,9 - 76 = 2,6$$

$$\chi^2_{exp} < \chi^2_{0,05}$$

demuestra que ambos factores, a efectos del pronóstico, ejercen su acción de modo, igualmente, independiente.

TABLA IV-9

ASOCIACION / INDEPENDENCIA
 ENTRE FENOTIPO DEL RECEPTOR Y
 TAMAÑO TUMORAL.

	RE+	RE-	T ₁
Ø ≤ 5 cm	26	15	41
Ø > 5 cm	23	15	38
T ₂	49	30	79

TABLA IV-10

ASOCIACION / INDEPENDENCIA
 ENTRE FENOTIPO DEL RECEPTOR Y
 AFECTACION TUMORAL DE
 LINFATICOS AXILARES.

	RE+	RE-	T ₁
N+	29	20	49
N-	21	6	27
T ₂	50	26	76

La Tabla IV-10 pone de manifiesto, sin embargo, cierta tendencia a la asociación entre RE- y N+. Para estudiar más profundamente esta circunstancia hemos dividido el conjunto N+ en los subgrupos definidos por: N (1-3) (nivel moderado de afectación tumoral) y N (> 4) (afectación tumoral elevada de los linfáticos axilares). La Tabla IV-11 construida de acuerdo con el criterio anterior permite calcular un nuevo valor de χ^2_{exp} :

$$\chi^2_{exp} = 24,8 + 4,2 + 23,6 + 3,9 + 19,5 + 7,6 - 76 = 7,6$$

$$\chi^2_{exp} > \chi^2_{0,05} = 5,99$$

para dos grados de libertad.

Este último resultado está dentro del límite de la significación estadística y nos hace pensar que, entre el fenotipo del receptor estrogénico y el estado de los linfáticos de la axila existe una relación de dependencia de forma que el carácter RE- se asocia más frecuentemente con el estado axilar N+ que con la situación N-.

Nos interesa ahora retornar al estudio de la relación entre tamaño tumoral y nivel de afectación de los linfáticos de la axila, parámetros entre los que no hemos encontrado, en el estudio realizado, significación estadística.

TABLA IV-11

ASOCIACION / INDEPENDENCIA
 ENTRE FENOTIPO DEL RECEPTOR Y
 NIVEL DE AFECTACION DE LOS
 LINFATICOS AXILARES.

	N-	N 1-3	N 3+	T ₁
RE+	21	7	22	50
RE-	6	11	9	26
T ₂	27	18	31	76

Realizando idéntico tipo de comparación en los subgrupos de pacientes RE+/RE- las cosas son, sin embargo, distintas (Tablas IV-12 y IV-13). En efecto, el valor de χ^2_{exp} para el subgrupo RE+:

$$\chi^2_{exp} = 16,5 + 3,2 + 9,1 + 0,3 + 3,3 + 23,9 - 44 = 12,3$$

$$\chi^2_{exp} > \chi^2_{0,05} : 5,99$$

permite afirmar que ambos factores se encuentran estadísticamente relacionados entre sí. Esto quiere decir que, en pacientes RE+, la probabilidad de invasión de los linfáticos axilares crece al aumentar el tamaño del tumor.

Por otra parte, el resultado de la aplicación del mismo test al subgrupo RE-:

$$\chi^2_{exp} = 2,9 + 3,1 + 4,8 + 5,2 + 5,3 + 3,7 - 25 = 0$$

$$\chi^2_{exp} < \chi^2_{0,05}$$

demuestra que en el grupo de pacientes RE- la relación de dependencia entre tamaño del primario e invasión de los linfáticos axilares desaparece. En este subgrupo de pacientes, aunque los linfáticos axilares resultan frecuentemente metastatizados por células tumorales, el proceso de diseminación locorregional es independiente del tamaño del primario.

TABLA IV-12

ASOCIACION / INDEPENDENCIA
 ENTRE TAMAÑO TUMORAL Y
 AFECTACION AXILAR.

SUBGRUPO RE+

	N-	N 1-3	N >4	T ₁
Ø ≤ 5	13	6	6	25
Ø > 5	5	1	13	19
T ₂	18	7	19	44

TABLA IV-13

ASOCIACION / INDEPENDENCIA
 ENTRE TAMAÑO TUMORAL Y
 AFECTACION AXILAR.

SUBGRUPO RE-

	N-	N 1-3	N >4	T ₁
Ø ≤ 5	3	5	5	13
Ø > 5	3	5	4	12
T ₂	6	10	9	25

Este fenómeno justifica la mayor agresividad y, por tanto, el peor pronóstico de los casos RE- y demuestra con claridad que el cáncer de mama es una enfermedad heterogénea.

Una última cuestión resta por aclarar: ¿Existe entre el fenotipo del receptor y el estado menstrual de la enferma una relación de asociación?. Los datos de observación recogidos en la Tabla IV-14 y el cálculo del estadístico χ^2_{exp} :

$$\chi^2_{exp} = 10 + 47,5 + 25,4 + 10,9 - 87 = 6,8$$

$$\chi^2_{exp} > \chi^2_{0,05} : 3,84$$

permiten afirmar, en coincidencia con la opinión general, que el fenotipo RE+ se presenta con mayor frecuencia en pacientes postmenopáusicas. La afirmación contraria, fenotipo RE- más frecuente en pacientes premenopáusicas, es también cierta y ambas relaciones son estadísticamente significativas.

4.2.4. Receptores de progesterona.

Informaciones recientes sostienen que la expresión simultánea de RE+ y RPg+ en las células tumorales mamarias define, para éstas, un buen pronóstico (55).