

Composición de las calcificaciones mamarias

A. Fandós Morera,
M. Prats Esteve*,
J. M. Tura Soteras**,
A. Travería Cros***

* Departamento de Cirugía.
Hospital Clinic.
** Laboratori de Microscòpia
Electrònica ITQT (CSIC).
*** Institut Jaume Almera (CSIC).
Barcelona.

Correspondencia: Dra. Adelaida
Fandos Morera. Travesera de Dalt, 6.
08024 Barcelona.

Este trabajo forma parte del
programa núm. 2213 de la Sección
de Ciencias del Institut d'Estudis
Catalans y obtuvo una beca de la
«Fundació Agustí Pedro i Pons».

Agradecimientos: a Montse Marsal,
por su ayuda en el microscopio
electrónico de scanning.

SUMMARY

Breast microcalcifications are significant radiological evidence for the detection of breast cancer in early stages. However, the morphology and chemical composition of this kind of microcalcification is poorly understood. We investigated the crystallographic patterns of the calcifications in 31 patients with normal breast tissue and benign and malignant breast tumors, by scanning electron microscopy (SEM), energy dispersive X-ray analysis (EDXA), and X-ray diffraction using the Guinier Camera (XRD). Polyhedral crystals with measurable amounts of calcium were identified as calcium oxalate and calcium carbonate. Round crystals with detectable amounts of calcium and phosphorus were identified as apatite. Qualitative differences in composition between «benign» and «malignant» breast calcifications were not observed.

Key words

Breast calcifications, Breast tumors, Scanning electron microscopy (SEM), Energy dispersive X-ray analysis (EDXA), X-ray diffraction (XRD).

Palabras clave

Calcificaciones mamarias, Microscopio electrónico de scanning (SEM), Análisis de energía dispersiva (EDXA), Difracción de rayos X (XRD).

INTRODUCCION

Las microcalcificaciones son un signo radiológico de interés, sobre todo en las formas iniciales y ocultas del cáncer de mama. Pero no son totalmente específicas y, según los criterios empleados en su selección, la tasa de diagnóstico positivo de cáncer tras la biopsia varía entre un 10 y un 30%.¹

Se han propuesto múltiples clasificaciones según su morfología, para intentar aumentar su valor pronóstico.^{2,3,4,5} Tábar⁶ las clasifica según su origen relacionando su morfología según el molde en el cual se formarían.

Ha sido objeto de estudio la composición de estas calcificaciones, encontrándose con numerosas dificultades debido a las características especiales de la muestra (pequeñas, material blando), presentando trabajos con pocos casos analizados.

La composición de las calcificaciones puede orientar sobre su origen. Si la composición es parecida en todos

los casos se puede aceptar que forman parte de un mecanismo no específico, pero si su composición es diferente en las benignas y en las malignas haría pensar en un mecanismo de formación específico, pudiendo tener esta información un valor práctico tanto para el diagnóstico como para ayudar a conocer mejor la biología de la célula neoplásica.

Nosotros estudiamos las calcificaciones mamarias que detectamos mediante la mamografía, usando: microscopio electrónico de Scanning (SEM), análisis de la energía dispersiva por rayos X (EDXA) y por difracción de rayos X con cámara Guinier (XRD).

MATERIAL Y METODOS

Para el estudio de la composición de las calcificaciones mamarias hemos utilizado 31 piezas de biopsia que correspondían a: 1 caso de mama normal sin calcificaciones, 5 casos de carcinomas sin calcificaciones (uti-

lizados ambos como control), 8 casos de calcificaciones en tumores benignos y 17 casos de tumoraciones malignas con microcalcificaciones.

Cada uno de estos casos se sometió a un protocolo común, clínico, radiológico y anatomopatológico. De cada caso se obtuvieron un total de 3 muestras diferentes para los 3 procedimientos analíticos distintos en que iban a ser analizadas. Así, pues, estudiamos un total de 31 preparaciones en tejido con el microscopio electrónico de Scanning (SEM) y analizadas con el EDXA, 25 preparaciones de cristales aislados con los mismos métodos (SEM y EDXA), además de 25 preparaciones para el estudio con la difracción de rayos X.

La microscopía electrónica de barrido o scanning es una técnica con la cual podemos visualizar la superficie de la muestra, su resolución llega hasta los 50 Å. El SEM por nosotros utilizado lleva incorporado un analizador de rayos X, lo cual nos permite obtener además información acerca de los elementos químicos que componen la muestra, representándose el resultado en forma de gráfica o de mapping de fotones.

Las calcificaciones las hemos estudiado en el tejido donde asientan y aisladas. El tejido mamario, al ser una muestra biológica, debe ser desecado; esto se obtiene mediante el punto crítico.⁷

Para el estudio de los cristales aislados del medio en que se encuentran primero debe ser eliminada la materia orgánica, lo cual se logra sometiendo la muestra a una concentración de potasa o sosa acuosa al 1% dejándola en una estufa a 50° C durante 2 días. Tras varios procesos de centrifugado y lavado, la muestra inorgánica queda en el fondo del recipiente. De esta forma podemos estudiar los cristales aislados, conociendo su

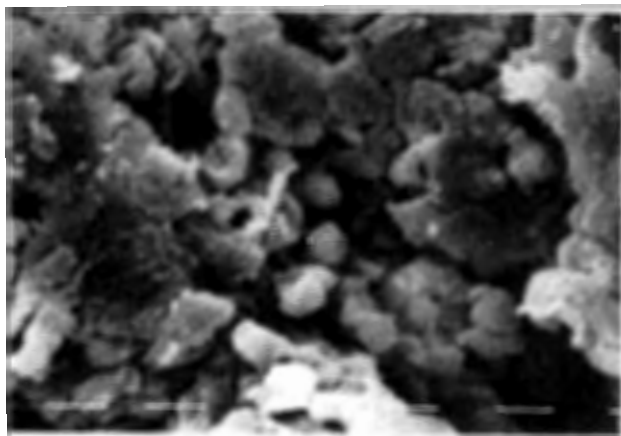


Fig. 1. Acúmulo de cristales esféricos con respuesta a Ca y P. Microfotografía SEM 1.250 X. Marcas 10 µm.

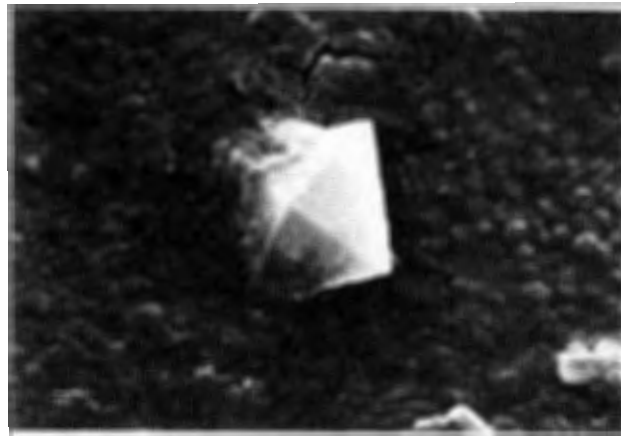


Fig. 2. Cristal octoédrico con respuesta a Ca mide 8 × 8 µm. Microfotografía SEM 5.000 X. Marcas 1 µm.

morfología por el SEM, los elementos que lo forman con el EDXA y la composición que tienen con el XRD.

RESULTADOS

De todos los datos obtenidos en este estudio queremos centrar los resultados en los siguientes aspectos:

1. Aspecto morfológico de la calcificación y de los cristales que la forman.
2. Composición química de las estructuras calcificadas.
3. Lugar donde se las encuentra en los tumores mamarios.

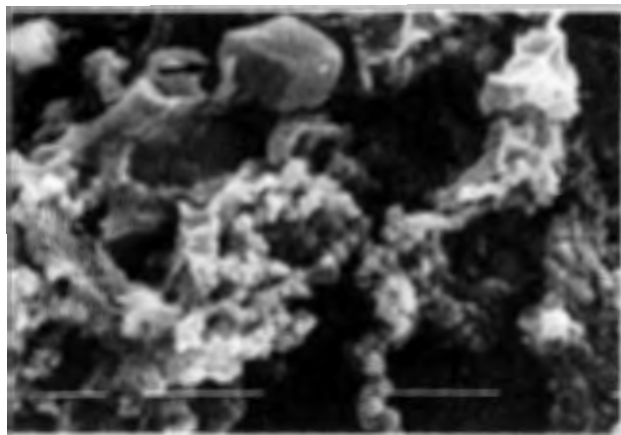


Fig. 3. Parte superior, varios cristales poliédricos (flecha superior) con respuesta a Ca, el mayor de ellos mide 9 × 3 µm. El resto de la muestra aparece con numerosas bolitas de apatita que miden 0,3 µm (flechas inferiores). Microfotografía 2.500 X. Marcas 10 µm.

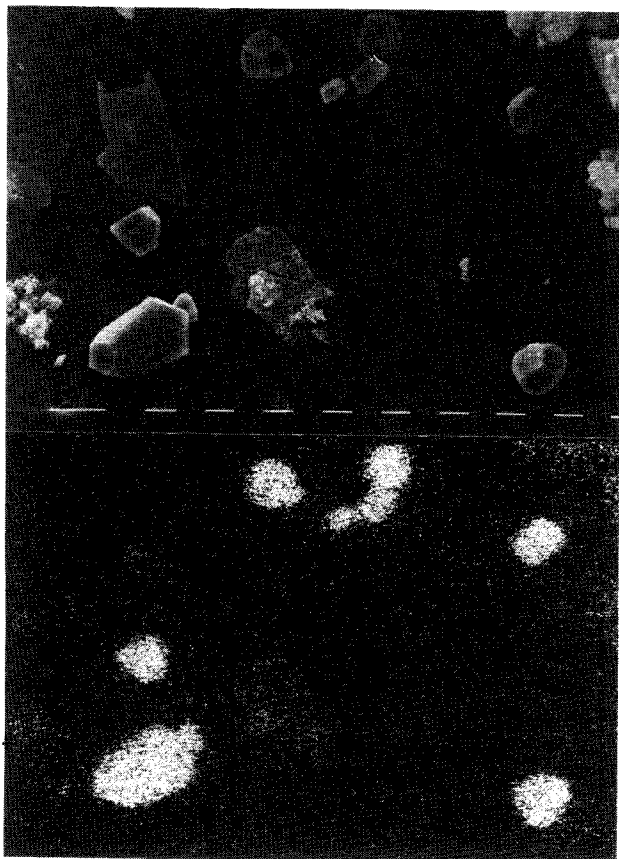
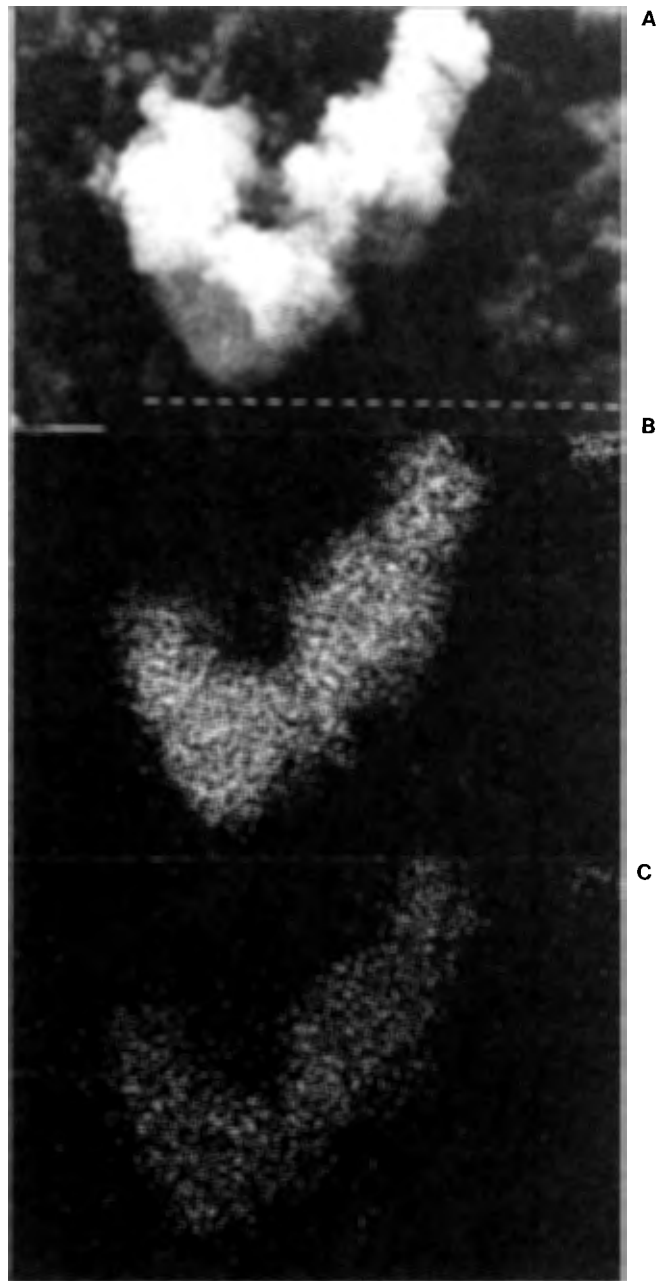


Fig. 4. A: Muestra de cristales aislados poliédricos. Microfotografía 640 X. Marcas 10 μ . **B:** Mapping de Ca de la preparación 4a.

1. En cuanto a la morfología de los cristales que encontramos en las calcificaciones mamarias podemos decir que son de dos tipos: unos esféricos y otros poliédricos (figs. 1 y 2). Se han encontrado ambos tipos de cristales en tumoraciones benignas y malignas (fig. 3).

2. En cuanto a la composición, los mapping de fotones realizados con el EDXA nos demuestran que los cristales poliédricos nos dan respuesta únicamente al ión calcio (figs. 4 A y B), mientras que los esféricos nos la dan al calcio y al fósforo (figs. 5 A, B y C). Cuando estos cristales son estudiados con la difracción de rayos X, cámara Guinier, resulta que se tratan de apatita $C_5(PO_4CO_3)_3(OH)$, oxalato cálcico, carbonato cálcico (tabla I).

3. El SEM permite el estudio de las calcificaciones en el lugar que asientan, ya sea en el interior de un conducto (figs. 6 y 7) o en la materia orgánica sin ningún tipo de molde que las contenga (fig. 8).



Figs. 5. A: Acúmulo de cristales de apatita, sus diámetros oscilan entre 0,5 y 0,1 μ m. Microfotografía 2.500 X. Marcas 1 μ m. **B:** Mapping de Ca. **C:** Mapping de P.

En este sentido encontramos diferencias, pues los cristales esféricos de apatita siempre los encontramos en el interior del conducto, mientras que los poliédricos nunca los encontramos relacionados con ningún tipo de molde.

TABLA I

RESULTADO DEL ESTUDIO DE LOS CRISTALES MEDIANTE DIFRACCION POR RAYOS X

	Malignos (%)	Benignos (%)
Apatita	100	100
Oxalato cálcico	29	—
Carbonato cálcico	12	25

DISCUSION

El estudio realizado por nosotros sobre la composición de las calcificaciones en tumoraciones mamarias aporta novedades en este campo. Quizá la más importante sea la utilización de nuevos métodos analíticos, mucho más sensibles que los utilizados hasta ahora en los trabajos publicados.

Nos habíamos propuesto en un principio dilucidar algunos puntos oscuros existentes todavía sobre las calcificaciones mamarias. Uno de ellos era la composición y, por tanto, la posible procedencia de las calcificaciones mamarias de una actividad específica de la célula. A este respecto no se ha podido demostrar que posean composiciones distintas las calcificaciones benignas de las malignas (por el momento, puesto que las investigaciones en este sentido continúan).

Büsing^{8,9} estudia con difracción de rayos X 9 casos distintos de patología mamaria con calcificaciones, llegando a la conclusión que las calcificaciones benignas son de oxalato cálcico, mientras que las malignas son de apatita. Debemos tener en cuenta que el método

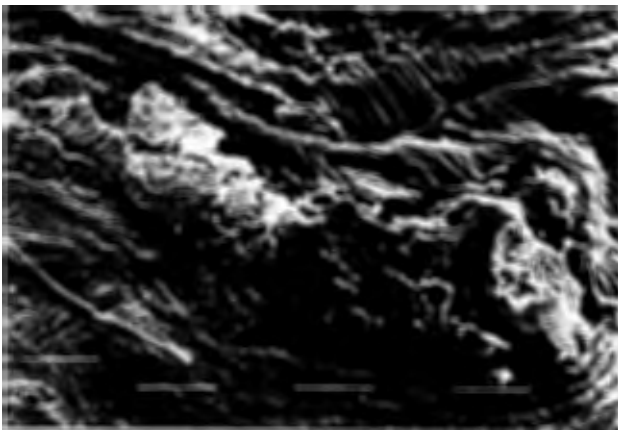


Fig. 6. Caso de carcinoma ductal infiltrante en el que se aprecia un conducto en corte longitudinal, su interior daba respuesta al Ca y P.

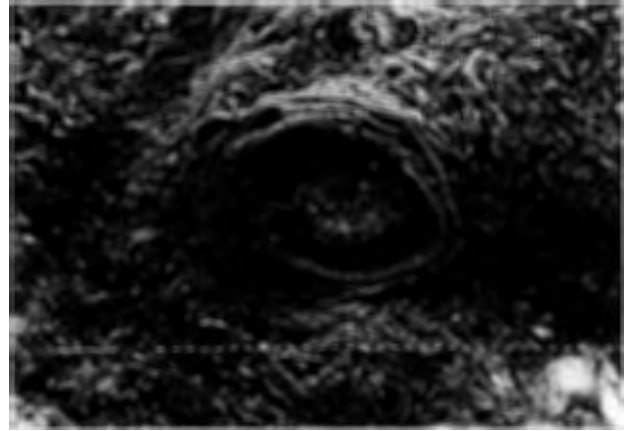


Fig. 7. Conducto en corte transversal, mide 400 x 150 µm, contiene en su interior una concreción con respuesta a Ca y P. Microfotografía 160 X. Marcas 10 µm.

empleado por este autor necesita la muestra libre de materia orgánica, y bastante cantidad, lo cual no es detallado en ningún momento por el autor.

Ahora bien, si las calcificaciones no fueran el fruto de una actividad específica celular ¿qué es lo que hace que en muchas ocasiones, aunque no siempre, existan caracteres morfológicos que permiten diferenciar radiológicamente las calcificaciones benignas de las malignas? Creemos que en parte es debido al lugar donde se forman estas calcificaciones. Algunas calcificaciones, como es el caso de las malignas, las encontramos en el interior de conductos que les servirían de molde, lo que nos daría la densidad radiológica característica de estos casos.



Fig. 8. Muestra de cristales aislados pertenecientes a fibroadenoma calcificado, todos ellos con respuesta a Ca. Microfotografía 1.250 X. Marcas 10 µm.

Galkin,¹⁰ en 1982, presenta un estudio realizado con 4 casos de los cuales obtiene 42 muestras y al estudiarlos con el SEM halla casi todos los elementos de la tabla periódica (Ca, P, Al, Zn, etc.).

Nosotros no hemos hallado ninguno de estos elementos al estudiar un número mayor de casos, por lo que creemos que puede tratarse de la muestra contaminada, cosa por otro lado nada difícil.

El estudio de los cristales aislados de la materia orgánica es totalmente inédito en la literatura (para este tipo de muestras) y sin duda permite el análisis más completo y preciso de los microcristales que forman estas concreciones o calcificaciones.

Si bien este trabajo no nos permite deducir una utilidad práctica para mejorar el significado diagnóstico de la microcalcificación radiológica si nos da unos datos preliminares que invitan a seguir en esta línea de investigación.

REFERENCIAS

1. Lanyi M. Microcalcifications in the breast—a blessing or a curse? A critical review. *Diagn Imaging Clin Med* 1985; 54: 126-145.
2. Leborgne RA. Diagnosis of tumors of the breast by simple roentgenography: calcifications in carcinoma. *Am J Roentgenol* 1951; 65: 1-11.
3. Gros CM. *Les maladies du sein*. Masson et Cie. Paris 1963; pp 295-324.
4. Egan RL. *Mamografía*. Toray SA. Barcelona 1974; pp 138-153.
5. Hoeffken W, Lanyi M. *Mammography. Technique, diagnosis, differential diagnosis, results*. Georg Thieme Publishers. Stuttgart 1977; Opp 159-165.

RESUMEN

Las microcalcificaciones mamarias son un signo radiológico para la detección precoz de algunos cánceres de mama. Sin embargo, ha sido poco estudiada la morfología y la composición química de estas calcificaciones. Nosotros estudiamos 31 casos de los cuales 6 no presentaban calcificaciones, siendo utilizados como control, 17 carcinomas con microcalcificaciones y 8 tumoraciones benignas con calcificaciones. Las técnicas utilizadas fueron: microscopio electrónico de Barrido o Scanning (SEM), energía dispersiva de rayos X (EDXA) y difracción de rayos X (XRD) con cámara Guinier. Los cristales encontrados en estas calcificaciones fueron de 2 tipos, unos poliédricos con respuesta al calcio identificados como oxalato cálcico y carbonato cálcico, otros esféricos con respuesta a calcio y fósforo que correspondían a apatitas. No pudimos observar diferencias cualitativas entre la composición de las calcificaciones benignas y malignas.

6. Tábár L, Dean PB. *Teaching atlas of mammography*. Georg Thieme Verlag. New York 1983; p 137.
7. Fromme HG, Pfefferkorn G, Pfautsch M, Bystricky V. Erfahrungen mit der «Kristischen Punkt» —Trockung als Preparationsmethode für die Raster— Elektronenmikroskopie. *Beitr Elektronenmikroskop Direkabb Oberf* 1972.
8. Büsing CM, Menges V. Comparison des microcalcifications dans les maladies proliferatives et malignes de la glande mammaire. *Senologia* 1981; 6: 67-71.
9. Büsing CM, Keppler U, Menges V. Differences in microcalcification in breast tumors. *Virchows Arch (Pathol Anat)* 1981; 393: 307-313.
10. Galkin BM, Frasca P, Feig SA, Holderness KE. Non-calcified breast particles. A possible new marker of breast cancer. *Invest Radiol* 1982; 17: 119-128.