

X

UNIVERSIDAD DE SEVILLA
FACULTAD DE MEDICINA

T.D

V/54

**EXPRESION ANTIGENICA TUMORAL Y RESPUESTA INMUNOLOGICA EN
PACIENTES CON CARCINOMAS DE CERVIX Y ENDOMETRIO
EN ESTADIOS INICIALES**

TESIS DOCTORAL



PILAR VILLAREJO ORTEGA

SEVILLA , 1994

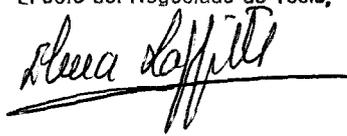
R. 21.825

UNIVERSIDAD DE SEVILLA
SECRETARÍA GENERAL

Queda registrada esta Tesis Doctoral
al folio 241 número 86 del libro
correspondiente.

Sevilla, 4 - Oct - 94

El Jefe del Negociado de Tesis,





UNIVERSIDAD DE SEVILLA

FACULTAD DE MEDICINA

Avda. Doctor Fedriani s/n
Teléf. (95) 437 27 34
Fax (95) 490 03 24
41009 SEVILLA

X

D. ROGELIO GARRIDO TERUEL, Profesor Titular de la Facultad de Medicina de la Universidad de Sevilla.

CERTIFICA: Que Dña PILAR VILLAREJO ORTEGA, ha realizado bajo mi dirección el trabajo titulado: " EXPRESION ANTIGENICA TUMORAL Y RESPUESTA INMUNOLOGICA EN PACIENTES CON CARCINOMA DE CERVIX Y ENDOMETRIO EN ESTADIOS INICIALES" y que dicho trabajo reúne las condiciones necesarias para optar al grado de Doctor.

Sevilla, 15 de septiembre de 1994.

El Director de la Tesis:

Fdo: Prof. Garrido Teruel

Quisiera dejar constancia de mi agradecimiento a todos los que han hecho posible este trabajo. Al Profesor R. Garrido Teruel, director de esta tesis, por su intuición científica y su espíritu crítico. Al Servicio de Análisis Clínicos del Hospital Universitario de Valme, en especial a las Dras M. Cruz y D. Benitez, por su colaboración desinteresada en las determinaciones analíticas. A los Dres D. I. Guerrero y E. Mendoza, del Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Virgen del Rocío, por todas las facilidades dadas para la realización del estudio inmunohistoquímico y a Manuel Hermida, por su inestimable dedicación y su enorme paciencia para transmitirme sus conocimientos en las técnicas de Histoquímica. A mi compañero, el Dr S. Avilés Mejias, por su importante ayuda en el análisis estadístico y sobre todo, por su constante estímulo y apoyo.

A mi familia

I.-INTRODUCCION.1**INMUNOLOGIA TUMORAL****1.-Concepto.2****2.-Propiedades antigénicas de las células tumorales.5****2.1.-Inmunogenética de la transformación maligna.5****2.2.-Agentes promotores del cáncer11****2.3.-El concepto de Inmunovigilancia17****2.4.-Antígenos de las células tumorales20****3.-Mecanismos inmunológicos contra las células tumorales . . .33****3.1.-Elementos celulares.33****3.2.-El complejo mayor de histocompatibilidad37****3.3.-La respuesta humoral inmune40****3.4.-La respuesta inmune celular.43****3.5.-La respuesta inmune natural46****3.6.-Linfoquinas49****3.7.-El sistema complemento.55****4.-Evasión del tumor al control del sistema inmune.57**

5.-Inmunoterapia.63
5.1.-Inmunoterapia activa.	64
5.2.-Inmunoterapia pasiva.	69
5.3.-Inmunoterapia adoptiva.70
II.- HIPOTESIS DE TRABAJO	74
III.-MATERIAL Y METODO77
1.-Pacientes.78
2.-Metodología.	81
2.1.-Estudio clínico.	82
2.2.-Estudio experimental.	89
2.2.1.-Determinación de los niveles de CEA.90
2.2.2.-Determinación de los niveles de Ca-125.	92
2.2.3.-Determinación de los niveles de SCC.93
2.2.4.-Análisis de la expresión de antígenos HLA de clase II.94
2.2.5.-Análisis de la expresión de antígenos HLA de clase I.	96
2.2.6.-Determinación de los niveles de TNF-α e IL1-β.98
2.2.7.-Determinación de los niveles de IgG,IgA,IgM,C3 y C4.	101
2.2.8.-Exploracion in vivo de la inmunidad celular.	102
3.-Análisis estadístico.104

IV.-RESULTADOS.104
1.-Estudio clínico.	106
1.1.-Factores epidemiológicos.	106
1.2.-Parámetros clínicos.	112
1.3.-Exploración clínica.	114
1.4.-Pruebas complementarias.116
1.5.-Pruebas analíticas.	119
1.6.-Tratamiento.	120
2.-Estudio experimental	123
2.1.-Concentración de CEA123
2.2.-Concentración de Ca-125.129
2.3.-Concentración de los niveles de SCC.	135
2.4.-Expresión de antígenos HLA de clase II.141
2.5.-Expresión de antígenos HLA de clase I.141
2.6.-Concentración de TNF-α e IL1-β149
2.7.-Concentración de Inmunoglobulinas	157
2.8.-Pruebas cutáneas de hipersensibilidad retardada.	182
V.-DISCUSION.	186
VI.-CONCLUSIONES.	226
VII.-BIBLIOGRAFIA.230

I . INTRODUCCION

INMUNOLOGIA TUMORAL

1.- Concepto

Desde hace casi un siglo el término **inmunidad** comenzó a emplearse para definir la resistencia del organismo frente al posible ataque de agentes infecciosos. La **INMUNOLOGIA** es una rama de la Medicina relativamente joven. En sus inicios fué estudiada como una parte de la Microbiología. Fué a comienzos de siglo cuando nació la **INMUNOLOGIA** como una ciencia independiente, gracias a los sorprendentes y rápidos avances en el conocimiento del **SISTEMA INMUNOLOGICO**¹.

La **INMUNOLOGIA** ha sido definida como la ciencia que estudia las defensas del organismo frente a sustancias extrañas o convertidas en extrañas y que ponen en peligro la integridad del individuo.²

En los animales vertebrados existen dos grandes tipos de sistemas que confieren resistencia o estado de inmunidad frente a los agentes patógenos. El más primitivo en la escala filogenética está constituido por las barreras epiteliales, por elementos celulares fagocíticos (polimorfonucleares neutrófilos y monocitos) y por células NK ("natural killer" o "agresoras naturales"), así como por factores humorales como la lisozima, el sistema complemento y el interferón, los cuales forman parte de los mecanismos de la **INMUNIDAD NATURAL** o **INESPECIFICA**.³ El otro sistema, más complejo y eficaz, está

basado en el reconocimiento selectivo por parte de los linfocitos, de estructuras moleculares precisas llamadas determinantes antigénicos y constituyen la **INMUNIDAD ESPECIFICA**. La memoria, su carácter adaptativo y la especificidad, son los rasgos definitorios de este tipo de respuesta⁴

El SISTEMA INMUNE del hombre es un mecanismo de defensa flexible y altamente específico, sin cuya intervención la supervivencia en un entorno lleno de "agresores" sería imposible. Determinadas moléculas proteicas y células del organismo son responsables de diferenciar lo "propio" de lo "no propio" y de eliminar las sustancias extrañas a través de un proceso complejo.⁵

Los **LINFOCITOS** son los principales elementos celulares que generan la respuesta inmunitaria y están distribuidos por todo el organismo en forma de órganos bien delimitados y encapsulados (**ORGANOS LINFOIDES**), o en forma de acumulaciones difusas (**SISTEMA LINFATICO**), existiendo una intercomunicación continua entre unos y otros a través de las circulaciones sanguíneas y linfáticas.

Inmunológicamente los órganos linfoides se dividen en dos grandes categorías: primarios o centrales, y secundarios o periféricos.

Se consideran **PRIMARIOS** aquellos órganos donde se produce la linfopoyesis, es decir, donde los linfocitos se originan y maduran hasta convertirse en células inmunológicas

mente competentes, capaces de reconocer y responder de forma específica a los estímulos antigénicos. Los órganos linfoides primarios son la **MEDULA OSEA** y el **TIMO**.

Los **SECUNDARIOS** son aquellos donde se disponen los linfocitos ya maduros, y donde se produce la respuesta inmunitaria frente a los determinantes antigénicos: incluyen los ganglios linfáticos, el bazo, y el tejido linfoide asociado a las mucosas del tracto respiratorio y gastrointestinal, como las amígdalas, las adenoides y las placas de Peyer.

Los nuevos avances producidos por la llamada **INGENIERIA GENETICA** con la tecnología del **DNA recombinante**, la **TECNOLOGIA** de los **HIBRIDOMAS** a través de la producción de los **Anticuerpos Monoclonales** y la **INGENIERIA CELULAR** con la tecnología de las clonas celulares, ha hecho posible la aparición en los últimos años de nuevas ramas de la Inmunología: la Inmunopatología, la Inmunogenética, la **INMUNOLOGIA TUMORAL**, la Inmunología de los Transplantes y la Inmunoquímica.⁶

La **INMUNOLOGIA TUMORAL** estudia las propiedades antigénicas de las células transformadas, la respuesta inmunitaria del organismo a estas células tumorales, las consecuencias inmunológicas que para el paciente tiene el crecimiento de las células malignas y los medios con los que el sistema inmune puede ser modulado para reconocer las células neoplásicas y promover la erradicación tumoral.⁷

2.-PROPIEDADES ANTIGENICAS DE LAS CELULAS TUMORALES

2.1.-Inmunogenética de la transformación maligna.-

La conducta de las células tumorales se caracteriza por la ausencia de respuesta a señales reguladoras responsables del crecimiento tisular normal; por su crecimiento autónomo sin requerimiento de señales exógenas, produciendo invasión de los tejidos próximos y metástasis a distancia; por tener un origen monoclonal; por su desdiferenciación o anaplasia y por la expresión de **nuevos antígenos de membrana**⁷.

Para que una célula normal se multiplique de una forma incontrolada, necesita primero ser transformada. La idea de que existen genes que codifican antígenos con características bioquímicas únicas en la superficie de la célula cancerosa y que posiblemente jueguen un papel importante en la transformación maligna, estaba implícita en la observación de que las células cancerosas se diferencian de las células normales de las cuales derivan, en su biología e incluso en su comportamiento⁸.

Las células tumorales al dividirse, transmiten el fenotipo neoplásico a las células hijas, lo que explica que la herencia del mismo está determinada por genes específicos⁹.

El cáncer es un trastorno originado en los genes y de esta manera las alteraciones físicas, químicas o biológicas producidas en el genoma de una célula, pueden dar lugar a

su transformación maligna¹⁰. En 1911, Peyton Rous descubre los pasos moleculares que conducen a la carcinogénesis al identificar un virus capaz de producir tumores cuando se inoculaba a animales sanos.

El estudio de los virus oncogénicos llevó al descubrimiento de los **ONCOGENES**. En 1981 R.A. WEINBERG del Massachusetts Institute of Technology, M.WIGLER del Cold Spring Harbor Laboratory y M.COOPER de Harvard University¹¹ demostraron que genes aislados de cánceres humanos podían transformar células normales en células cancerosas. Un año más tarde, estos tres investigadores junto con M.Barbacid en el Instituto Nacional del Cáncer identifican el primer oncogén humano capaz de producir cáncer, comprobando que estos oncogenes adquieren sus propiedades malignas a causa de la mutación de un solo aminoácido de los 1.000 nucleótidos que forman un gen¹².

Los **PROTOONCOGENES** son genes de las células normales que cuando sufren mutaciones se transforman en **ONCOGENES** que pueden conducir al proceso canceroso. La activación de protooncogenes a oncogenes puede producirse por mutaciones puntuales, amplificaciones o por traslocaciones de fragmentos cromosómicos.⁸

Actualmente se conocen dos tipos de genes responsables de la transformación maligna: los **ONCOGENES DOMINANTES** capaces de inducir el fenotipo neoplásico y los **ONCOGENES RECESIVOS** o **ANTIONCOGENES** que pueden suprimirlo. La ausencia o mutación de estos últimos resulta decisiva en la formación del cancer^{13,14,15}.

Los **ONCOGENES DOMINANTES** parecen estar relacionados con el control de crecimiento o con los genes que controlan la expresión de factores de crecimiento o de sus receptores

Los **FACTORES DE CRECIMIENTO** controlan tanto la proliferación celular normal como la anormal. Se descubrieron al observar la capacidad de determinados factores séricos en la estimulación del crecimiento de células animales en cultivo. Actúan induciendo el ciclo celular de manera que las células pasen de la fase de reposo o G_0 a la G_1 que culmina con la síntesis de ADN (fase S). Se conocen múltiples factores de crecimiento entre ellos las linfoquinas (IL1, IL2, IL3, TNF..), factores de crecimiento fibroblástico.^{16,17,18,19}

Los **ONCOGENES DOMINANTES** más representativos de la activación oncogénica son los oncogenes **myc** y **ras**. Los oncogenes **myc** codifican proteínas nucleares, mientras que los oncogenes **ras** codifican oncoproteínas citoplasmáticas.¹⁵

Los oncogenes **myc** permiten que la célula escape de las influencias negativas inhibitoras de su entorno, mientras que los oncogenes **ras** favorecen la autoestimulación positiva del crecimiento celular. Ambos oncogenes colaboran en el desarrollo del tumor²⁰.

Dentro de los oncogenes **myc** se conocen dos tipos. El **c-myc** es un oncogén que codifica una proteína nuclear involucrada en el control de la división celular. Está

relacionado en una traslocación recíproca con el locus de la Ig en el 100% de los linfomas de Burkitt ^{21,22}. Está sobrepresado en diversos tumores sólidos como en el carcinoma de mama, de cervix y de pulmón entre otros y se asocia a un pronóstico desfavorable. ^{23,24,25}. El n-myc es un oncogén que está sobrepresado fundamentalmente en el neuroblastoma y también está asociado a un mal pronóstico ^{26,27,28}

El primer oncogén descubierto al intentar establecer las bases moleculares del cáncer, pertenece a una pequeña familia de genes conocidos como ras, (**Ha-ras, Ki-ras y N-ras**) un acrónimo que significa sarcoma de la rata, dado que estos genes se identificaron en los virus del sarcoma Harvey y Kirsten ²⁹. Las mutaciones puntuales de los oncogenes ras, se encuentran en una amplia variedad de tumores. Se han observado en un tercio de los adenocarcinomas de pulmón, ³⁰ en un 90% de los pancreáticos ³¹, en un 50% de los de colon y también en neoplasias ováricas y renales .

Los **ONCOGENES SUPRESORES o ANTIONCOGENES**, suprimen en condiciones normales el crecimiento tumoral, es decir, inactivan los genes que favorecen la síntesis de factores de crecimiento, por lo que su ausencia o mutación resulta decisiva en la oncogénesis. ¹⁵

Cada célula hereda un cromosoma paterno y otro materno y en consecuencia, los tumores que se originan de la inactivación del gen supresor requieren la presencia de dos lesiones independientes.

A diferencia de los oncogenes que se inactivan siempre por cambios de las células somáticas, los antioncogenes se pueden suprimir (delección) o mutar en la línea de células germinales y por tanto ser heredables^{26,27,28}.

El primer antioncogén que se aisló fue el Rb y está localizado en el brazo largo del cromosoma 13. Se denomina así porque los miembros afectados de una misma familia, que son portadores de una copia inactivada de este gen, presentan de forma casi invariable un retinoblastoma antes de los 3 años³². Las mutaciones o pérdidas de expresión de este gen también se encuentran en el cáncer de mama y en los sarcomas.³³

Las mutaciones de otro gen supresor, el p53 (llamado así por ser una proteína de 53.000 daltons) parecen ser las alteraciones genéticas más comunes en el cáncer humano. La proteína p53 está situada en el cromosoma 17. Se requiere la inactivación de ambos alelos para una transformación completa; uno mediante la delección y el otro mediante una mutación puntual.^{34,35}

Un 50% de los carcinomas de mama y de colon, presentan inactivación de este gen, así como un 80% de los carcinomas de pulmón. Otros tumores como el carcinoma de vejiga, tumores cerebrales, sarcomas y leucemias exhiben mutación de esta proteína^{36,37}

Estas mutaciones genéticas no solo contribuyen a la transformación celular maligna sino que también proporcionan determinantes antigénicos nuevos que son específicos del tumor.

INTRODUCCION

Estudios recientes en cáncer de mama y de pulmón no microcítico, sugieren que la presencia de anticuerpos contra dichos antígenos constituyen una respuesta al tumor en determinados grupos de enfermos que expresan anticuerpos anti-p53. En un grupo de 30 enfermas con cáncer de mama, solamente aquellas con sobreexpresión de p53 desarrollaron anticuerpos anti-p53 (23%), mientras que las pacientes cuyos tumores expresaron niveles bajos o normales de p53 no presentaron anticuerpos³⁸

2.2.-AGENTES PROMOTORES DEL CANCER

La transformación de una célula normal en una célula maligna puede ocurrir por una variedad de acontecimientos que unas veces son provocados por mutaciones al azar o por reactivaciones genéticas y otras veces puede ser inducidas por carcinógenos físicos, químicos o víricos. Estos agentes tras interactuar con el genoma de una célula normal, pueden inducir alteraciones en el DNA o código genético ⁷

Carcinógenos Físicos

Las radiaciones ultravioletas y las radiaciones ionizantes son los elementos físicos más estudiados como promotores de neoplasias humanas.

La más dramática evidencia de que las radiaciones ionizantes inducían carcinogénesis, se observó en los supervivientes de las explosiones de la bomba atómica en 1945 en Japón. Así mismo se comprobó que los primeros radiólogos que trabajaban sin protección, desarrollaban dermatitis y posteriormente cáncer de piel después de un largo periodo de latencia. Se cree que las radiaciones ionizantes actúan alterando el DNA celular, produciendo roturas cromosómicas y reactivaciones genéticas que provocan la transformación de las células afectadas³⁹.

La asociación entre la exposición al sol y el cáncer de piel, se conoce desde hace más de un siglo. El potencial carcinogénico de las radiaciones ultravioletas, se dedujo por la mayor incidencia del cáncer de piel en las zonas expuestas al sol, sobre todo en los individuos que pasan mucho tiempo trabajando bajo un sol intenso, como son los labradores y los pescadores. La evidencia más directa se obtuvo por la exposición de ratones a los rayos ultravioletas y observando la aparición de cáncer de piel. Los mecanismos de carcinogénesis por las radiaciones ultravioletas incluyen la producción de metabolitos óxidos carcinogénicos, la inducción de dímeros de pirimidina, y la inmunosupresión⁸.

Carcinógenos Químicos

Los tumores inducidos por carcinógenos químicos fueron inicialmente descritos en el siglo XVIII, cuando se observó que los individuos que trabajaban en contacto directo con el alquitrán presentaban una alta incidencia de cáncer de escroto. Los hidrocarburos policíclicos presentes en el alquitrán son potentes carcinógenos como se ha podido comprobar mediante el uso de pintura de alquitrán para inducir carcinoma de células epiteliales en el laboratorio⁸.

Más de 50 sustancias químicas presentes en el tabaco tienen capacidad carcinogénica potencial y numerosos estudios lo han identificado como la causa principal del cáncer de pulmón. En el adenocarcinoma de pulmón diversas investigaciones han re -

lacionado a determinados componentes del tabaco con la activación del oncogén "ras"⁴⁰. Se han identificado una larga serie de agentes químicos carcinogénicos que incluyen a las nitroxaminas, la aflatoxina, el dimetil-bezantreno, el tetranitrometano, el benzopireno y el 3-metilcolantreno que son capaces de transformar el protooncogén "ras" en un oncogén activado⁴¹.

Virus Oncogénicos

Aunque desde el siglo pasado se conoce la capacidad de los virus para inducir tumores en animales, la relevancia de este hecho fué muy debatida hasta que finalmente fueron identificados virus oncogénicos humanos⁴².

Cada día se identifican más tumores de etiología vírica, de tal modo que se ha estimado que el 20% de los tumores que surgen en las mujeres, y el 8% en los hombres puede resultar de la infección vírica (TABLA 1.2.1). En algunos virus como el de la hepatitis B, esta asociación es de tipo directo, mientras que en otros es de tipo indirecto como ocurre con el HIV y el sarcoma de Kaposi en los que la inmunodeficiencia provocada por el virus permite probablemente el desarrollo del tumor⁴³

Los tumores inducidos por virus tienen un particular interés en la inmunología tumoral por la introducción de nuevos antígenos asociados a los genes virales los cuales pueden ser expresados y reconocidos por el sistema inmune.

Los virus oncogénicos pueden ser subdivididos en tipos DNA o RNA según su material genético. Aunque en los animales los virus productores de cáncer son fundamentalmente retrovirus o virus RNA, en el hombre predominan los virus DNA como potencialmente carcinógenos⁴⁴.

Los papiloma virus humanos (HPV) son virus DNA. Se han identificado más de 60 tipos y una tercera parte de ellos se han asociado con lesiones premalignas y malignas anogenitales⁴⁵. Los HPV 6, 11, 31, 43 y 44 están relacionados con la neoplasia intraepitelial de cérvix uterino, el HPV 6 con el condiloma acuminado, el HPV 16 y 42 con la papulosis de Bowen, el HPV 6 y 11 con los tumores de Buschke-Lowenstein, el HPV 16, 18, 33, 35 y 39 con el carcinoma invasor del cérvix, el HPV 16 con el carcinoma de vulva y de pene y, el HPV 18 con el adenocarcinoma endocervical⁴⁶. Es posible que la tumoregenicidad de un determinado tipo de HPV no dependa solo de su DNA sino también del lugar que ocupe el genoma vírico en el DNA humano. Solo una pequeña proporción de las lesiones producidas por el HPV 16 y 18 llegan a ser malignas y es posible detectarlos en un 10% del tejido cervical normal, en un 60% de los condilomas, en un 77% de los CIN y en un 90% de los carcinomas cervicales^{47,48}. Si se utilizan técnicas de PCR (Reacción en cadena de la polimerasa) los porcentajes son mayores⁴⁹.

Otro virus DNA potencialmente carcinógeno para el hombre es el virus de Epstein-Barr (HVB) el cual está relacionado epidemiológicamente con algunos carcinomas de la nasofaringe, el linfoma de Burkitt y linfomas cerebrales.

Actualmente se están investigando las relaciones entre el DNA del virus y las alteraciones cromosómicas características del linfoma de Burkitt^{50,51}.

El DNA del virus de la hepatitis B (VHB) se puede detectar en un 80% de los pacientes con hepatocarcinomas⁵². Sin embargo, poco se sabe sobre el verdadero papel que este virus tiene en la patogenia de esta neoplasia. Se han observado algunas alteraciones genéticas que podrían explicar la transformación maligna del hepatocito infectado. Estudios recientes han puesto de manifiesto la posible importancia de la activación del oncogén myc, en los hepatocarcinomas de roedores⁵³. No obstante, parece improbable que el VHB sea el responsable por si solo de la mayoría de casos de hepatocarcinoma. En cualquier caso, la integración del ADN viral en el genoma humano parece ser una condición necesaria, aunque no siempre suficiente⁵⁴.

La relación entre retrovirus y cáncer es conocida desde principios de siglo en que se descubrió el virus del sarcoma de Rous. En 1970 se identificó el primer retrovirus humano. El virus de la inmunodeficiencia (HIV) y los virus linfotróficos humanos de células T del adulto (HTLV I y II) son los únicos virus RNA o retrovirus asociados a patologías neoplásicas en los seres humanos⁵⁵.

El HTLV-I es el agente etiológico de la leucemia de las células T. Con la aparición del SIDA causado por el VIH, y el aumento de frecuencia de dos tipos de neoplasia (sarcoma de Kaposi y linfomas no Hodgkinianos) en los pacientes infectados por este virus, ha quedado demostrado el papel del sistema inmunitario en el cáncer⁵⁶.

VIRUS	CANCER
Virus de la hepatitis B(HBV)	Carcinoma hepatocelular
Virus de Epstein-Barr(EBV)	Linfoma no hodgkiniano Carcinoma nasofaringeo Linfoma de Burkitt
Citomegalovirus(CMV) (+HIV)	Sarcoma de Kaposi
Virus linfotrópico de células T humanas	Leucemia de células T
Papilomavirus humanos 16 y 18 (HPV 16, HPV 18)	Carcinoma epidermoide de cérvix uterino

TABLA 1.2.1: VIRUS ASOCIADOS CON CANCER

2.3.- EL CONCEPTO DE INMUNOVIGILANCIA

El concepto de INMUNOVIGILANCIA lo estableció por primera vez Paul Ehrlich en 1908, cuando postuló la posibilidad de que durante el desarrollo fetal y postfetal se produjeran clones de células aberrantes que en su mayoría quedarían en un estado latente, debido a los mecanismos de protección del organismo⁵⁷.

En 1957, Macfarlane Burnet⁵⁸ postuló su teoría de inmunovigilancia, según la cual, los pequeños acúmulos de células cancerígenas que se desarrollasen en el organismo, serían eliminados mediante una reacción inmunológica eficaz producida frente a los nuevos determinantes antigénicos que expresan las células tumorales. Burnet señala que en el hombre, en el cual, más de 10^{14} células se reproducen constantemente, existen pruebas suficientes para suponer que en cualquier locus genético pueda aparecer un error con una frecuencia que varía de 10^{5-10} por duplicación, lo que significa que en una población celular deben producirse millones de errores o mutaciones al día. Es inconcebible que el organismo de los seres superiores hayan evolucionado sin haber desarrollado algún procedimiento para neutralizar esta eventualidad. Según esto, el riesgo oncógeno es consustancial con la especie humana, aunque gracias a sus defensas inmunológicas naturales, el hombre es capaz de reconocer las células genéticamente alteradas y destruirlas de manera selectiva antes de que proliferen. Por tanto el desarrollo del tumor se debería a algún mecanismo de escape inmunológico que permitiría la libre evolución de los clones celulares malignos, originados espontánea e inevitablemente, por mutación

somática continua a lo largo de la vida del individuo ⁵⁹. Esta teoría atribuyó la resistencia del organismo frente a los tumores, a la destrucción de las células susceptibles de transformación neoplásica por linfocitos maduros inmunes de tipo T ⁶⁰.

Esta hipótesis de vigilancia inmunológica, ha generado muchos estudios experimentales y numerosas discusiones y controversias. Se ha comprobado que la timectomía neonatal u otras formas de inmunosupresión de los linfocitos T en animales de experimentación, no incrementan la susceptibilidad al desarrollo de tumores espontaneos o inducidos por carcinógenos. Sin embargo, los tumores inducidos por virus oncogénicos ADN, son inequívocamente más frecuentes en ratones con déficit de células T⁶⁰. Así, se ha podido demostrar que el crecimiento de injertos tumorales isogénicos, no se produce más que cuando se llega a transplantar un número crítico (10^5) de células neoplásicas; cuando se inocula un volumen inferior, no se origina crecimiento tumoral debido a un mecanismo de rechazo inmunológico.

A nivel clínico, existen evidencias de que enfermedades que producen inmunodeficiencias están asociadas con una mayor incidencia de linfomas y leucemias ⁶². También el SIDA, con déficit progresivo y selectivo de células T4 se asocia con frecuente desarrollo del linfoma de Kaposi. Así mismo, pacientes a los que se les ha trasplantado órganos y han recibido fármacos inmunopresores, presentan una mayor incidencia de tumores principalmente de tipo linfoproliferativos.

A pesar de los criterios a favor de la inmunovigilancia frente al cáncer, existen también argumentos en contra de esta tesis. La mayoría de tumores humanos no tratados, crecen sin evidencia de inmunidad tumoral. Las regresiones espontaneas documentadas son raras y ocurren con mayor frecuencia en los tumores del tejido embrionario, lo que sugiere que existen otros factores que controlan el desarrollo tumoral además del sistema inmunitario. Se puede explicar la reaparición de metástasis después de largos periodos de latencia, por diversos factores aparte de la inmunidad ⁶³.

La explicación más probable para estos hechos discordantes es, que en la resistencia del huesped frente al cáncer están envueltos una gran variedad de mecanismos efectores. Es probable que factores no inmunológicos puedan contribuir sustancialmente a la disposición o resistencia al desarrollo tumoral. Además, parece existir una heterogenicidad genética importante entre individuos, en cuanto a su susceptibilidad a la transformación maligna por virus oncogénicos o por carcinógenos químicos, de manera, que la inmunodepresión de un individuo genéticamente resistente podría no conducir al desarrollo tumoral ⁶⁴.

2.4.-ANTIGENOS DE LAS CELULAS TUMORALES

La Inmunología tumoral se basa en su mayor parte en la suposición de que los tumores expresan antígenos lo cual permite la separación inmunológica entre las células normales y las células malignas.

Los **inmunógenos** son sustancias capaces de inducir una respuesta inmunológica humoral o celular en el huésped. Los **antígenos** son moléculas que reaccionan con los anticuerpos. Los **haptenos** son sustancias antigénicas pero no inmunógenas (se unen a los anticuerpos pero no generan respuesta inmune). Los **epitopos (determinantes antigénicos)** son la forma más simple de un antígeno (partes de la molécula del antígeno reconocidas como extrañas por el sistema inmune).

Estudios experimentales realizados en animales con tumores inducidos, así como en neoplasias espontáneas humanas, han demostrado que muchos tumores expresan antígenos los cuales son capaces de inducir respuestas humorales o celulares en el paciente.

Las células neoplásicas además de poder expresar en su superficie los mismos antígenos que expresan las células normales (p.ej. antígenos de transplantes o HLA), expresan también **ANTIGENOS "NUEVOS" ASOCIADOS AL TUMOR⁶³**.

En algunos sistemas, la respuesta inmunitaria frente a estos antígenos puede ser tan potente como una reacción alógena (reacción de rechazo a transplante), mientras que los tumores débilmente antigénicos provocarían una escasa o nula respuesta inmunógena.

Los **ANTIGENOS DE LAS CELULAS TUMORALES** pueden dividirse en dos grandes grupos: A) **antígenos asociados a tumores** y, B) **antígenos específicos tumorales**.

A.-ANTIGENOS ASOCIADOS A TUMORES (A.A.T)(TABLA 1.2.2)

Se encuentran en las células neoplásicas pero también se pueden encontrar en las células normales. Sin embargo, diferencias cualitativas y cuantitativas en la expresión antigénica permite el uso de estos antígenos para distinguir las células normales de las células malignas ⁶³.

En realidad estos antígenos asociados a tumores no son verdaderos antígenos, ya que no inducen una respuesta inmunológica específica en el huésped capaz de provocar una resistencia al desarrollo de la neoplasia, pero pueden ser útiles en el diagnóstico y en la monitorización del volumen tumoral en cuanto a la respuesta al tratamiento, y en la aparición de recidivas ⁶⁶.

Cuando un tumor crece, la cantidad de **A.A.T.** aumenta y si un tumor responde a un tratamiento, estos antígenos disminuyen. Teóricamente por tanto, los **A.A.T.** pueden

aprovecharse como marcadores tumorales, pero en la práctica clínica, solo unos cuantos son válidos. Esto se explica por varias razones:

1) Para que un antígeno esté presente en la circulación y pueda ser detectado, no solo debe ser producido por la célula cancerosa, sino también trasladado al torrente circulatorio ⁶⁷. Los antígenos asociados a tumores pueden pasar a la circulación por diferentes mecanismos: bien por muerte celular, bien por vertido fisiológico de moléculas antigénicas procedentes de la superficie celular, o bien mediante el paso de fragmentos de la membrana celular a la sangre ⁶⁸.

2) Porque la expresión de muchos antígenos oncoasociados es heterogénea en un mismo tumor y varía considerablemente en diferentes pacientes con idénticos tipos de cáncer, razón por la cual, no todos los enfermos con una variedad particular de neoplasia tienen incrementos séricos del antígeno. Además, en algunos tumores la expresión antigénica puede variar con las diferentes fases del ciclo celular o con su proximidad a los vasos sanguíneos ⁶⁹.

3) Porque como ya se ha expuesto anteriormente, los antígenos asociados a tumores, también pueden ser producidos por algunos tejidos normales del adulto y por tanto, los niveles séricos del enfermo neoplásico pueden ser a veces equiparables a los de pacientes con enfermedades benignas ⁷⁰.

La identificación de antígenos asociados a tumores, ha progresado muy rápidamente con el desarrollo de técnicas que permiten la producción in vitro de grandes cantidades de anticuerpos contra un determinante antigénico producido por un clono simple de células⁷¹. Estos **ANTICUERPOS MONOCLONALES** son producidos por un hibridoma, es decir, por una línea celular inmortal derivada de la fusión de un linfocito B secretor de anticuerpos y una célula de mieloma. Ciertos descendientes de estas fusiones tendrán características de ambas células progenitoras: la especificidad del anticuerpo producido por el linfocito B y la capacidad de crecer indefinidamente en el cultivo de la célula del mieloma⁷². Se producirán muchos clones individuales de hibridomas que pueden dar lugar a anticuerpos puros contra cualquiera de las especificidades antigénicas del inmunógeno. Puede por tanto disponerse de anticuerpos específicos, en forma pura y en grandes cantidades, lo cual facilita considerablemente su estudio.

Una vez producidos los anticuerpos monoclonales, se pueden emplear diferentes técnicas para la identificación y cuantificación de antígenos, tanto en medios líquidos como en tejidos. Actualmente se dispone de métodos de precipitación, aglutinación, detección de radioactividad, actividad enzimática y actividad fluorescente⁷³.

Entre los antígenos asociados a tumores se encuentran: a) **los antígenos oncofetales** b) **los antígenos de diferenciación** y c) **los determinantes antigénicos asociados a determinadas líneas celulares.**

a) **ANTIGENOS ONCOFETALES:** se sintetizan en cantidades relativamente grandes durante la vida fetal, pero al llegar a la época adulta no se produce más que en mínimas proporciones, a no ser que los órganos que los producen estén en un proceso de transformación neoplásica. Sabemos hoy día que la actividad genética se desarrolla por medio de un proceso molecular controlado, gracias al cual, una información codificada es transcrita en forma de mensaje. Estos mensajes son captados por el citoplasma celular originando en él, la síntesis de una cadena proteica de naturaleza específica.

En las primeras etapas de la ontogénesis cada célula contiene la totalidad del material genético heredado, pero a medida que progresa el desarrollo orgánico, se suprimen algunos mensajes genéticos que se han hecho innecesarios una vez completada la etapa de morfogénesis.

Durante el crecimiento neoplásico, las células experimentan un proceso de retrodiferenciación, pudiendo expresar de nuevo algunos mensajes genéticos fetales que habían quedado inhibidos. Esta información genética lleva implícita la producción de componentes específicos o neoantígenos que por analogía con los producidos en las etapas fetales son denominados **ONCOFETALES**⁷⁴. Entre los antígenos oncofetales mejor identificados se encuentran el CEA y la AFP.

ANTIGENO CARCINOEMBRIONARIO (CEA): fué descrito por primera vez por Gold y Freeman⁷⁴ en 1965 y es una glucoproteína con peso molecular de unos 200.000

daltons. En un principio se detectó en la mucosa intestinal fetal y en las células del cáncer de colon humano, por lo que se pensó que era específico para este tipo de neoplasia y que podría utilizarse para su despistaje⁷⁵. Sin embargo, estudios posteriores demostraron su presencia en otros tumores humanos incluyendo los del tracto digestivo, reproductor, pulmón y mama.

También se pueden encontrar niveles séricos elevados de CEA en enfermedades no malignas como ocurre en procesos inflamatorios del intestino, enfermedades hepáticas y pulmonares, así como en el embarazo y en grandes fumadores⁷⁶.

Aunque como hemos visto el CEA es un marcador tumoral con limitaciones, se ha observado que el descenso postoperatorio de los niveles anormalmente elevados de este antígeno, guarda un evidente paralelismo con la radicalidad de la exéresis y su posterior elevación, constituye un indicador fidedigno y sensible del crecimiento recidivante o continuado del tumor⁷⁶.

ALFAFETOPROTEINA (AFP): es una glucoproteína fetal que a diferencia del CEA persiste durante toda la vida intrauterina. Se sintetiza en el saco vitelino y más tarde en el endodermo y en el hígado fetal. Es una alfa-globulina con un peso molecular de 70.000 daltons identificada por primera vez en 1956⁷⁵. Es la proteína sérica predominante en la vida fetal realizando casi todas las funciones adscritas a la albúmina en el adulto y también juega un papel importante en la inmunoregulación.

Su valor como marcador tumoral, fué reconocido por primera vez por Abelev⁷⁷ en el cáncer de hígado en 1963 y en el teratoma ovárico en 1967 .

La presencia de AFP en pacientes con tumores ováricos sugiere firmemente un tumor del seno endodermico. Su utilidad en el seguimiento de este tipo de neoplasias es de gran interés ⁷⁸ . En procesos hepáticos benignos, así como durante el embarazo los niveles de AFP también se encuentran elevados.

b) **ANTIGENOS DE DIFERENCIACION:** son antígenos asociados a tumores producidos en subpoblaciones de células en tejidos adultos normales y reflejan distintos estadios de diferenciación. Estos antígenos pueden estar restringidos o no, a células de un linaje o de un órgano particular. Los últimos ejemplos estudiados de antígenos de diferenciación están asociados con células B, células T y precursores hematopoyéticos ⁷⁹ . Uno de los antígenos más conocidos de este grupo es el TL el cual normalmente solo se encuentra en los timocitos que pertenecen a la cepa TL⁺ pero que sin embargo, se encuentran en la superficie de células leucémicas de ratones pertenecientes a la cepa TL⁻⁴³ .

c) **DETERMINANTES ANTIGENICOS ASOCIADOS A CIERTAS LINEAS CELULARES:** han podido ser demostrados en tumores sólidos, gracias al desarrollo de anticuerpos monoclonales que reaccionan con ellos ⁸⁰ . Estos determinantes antigénicos pueden ser útiles marcadores para la monitorización del crecimiento tumoral. A este tipo de antígenos asociados a tumores pertenecen : el Ca 125 y el SCC.

Ca-125: descrito por Bast⁸¹, es una glucoproteína de la superficie celular de alto peso molecular que se determina por el anticuerpo mono-clonal murino denominado OC 125. Este anticuerpo es una IGg , obtenido inmunizar un ratón con la línea celular del cáncer ovárico seroso de la mujer.

La función normal del Ca 125 se desconoce pero se encuentra en la membrana de las células que revisten las trompas de Falopio, endometrio, endocérvix, peritoneo, pleura, pericardio y bronquios. Es expulsado desde la superficie celular y se le ha detectado en el líquido amniótico, moco cervical, glándulas endometriales, líquido seminal, secreciones bronquiales, y líquido peritoneal⁸² .

En un 80 a 90 % de pacientes postmenopáusicas afectas de cáncer epitelial de ovario (excepto los de tipo mucinoso), presentan niveles elevados de Ca 125. En pacientes premenopáusicas, esta proporción es menor y en ellas, este marcador puede elevarse también en algunos procesos benignos como en la endometriosis⁸³ , miomatosis uterina, enfermedad inflamatoria pélvica⁸⁴ e incluso en el embarazo y en la menstruación. Así mismo, otras neoplasias de origen genital como son las de endometrio, endocérvix y trompas de Falopio⁸⁴ . La mayor incidencia de niveles elevados de Ca-125 en neoplasias extragenitales, se observa en el cáncer pancreático.

ANTIGENO DEL CARCINOMA DE CELULAS ESCAMOSAS(SCC): es una subfracción del TA-4, un antígeno tumoral descrito por primera vez por Kato y Tarigoe

en 1977 ⁸⁶. El TA-4, obtenido a partir del tejido carcinomatoso del cervix uterino, es una glicoproteína con un peso molecular de 48.000 daltons y que puede separarse en 14 subfracciones por focalización isoelectrica ⁸⁶. Posteriormente, se utilizaron anticuerpos monoclonales de ratón que reaccionan con una de dichas subfracciones de TA-4 para crear una técnica conocida como SCC. El método utiliza el principio de "emparedado"; el antígeno SCC que está soluble en el suero, sirve de puente de unión entre los anticuerpos anti-SCC con un marcador radioactivo y anticuerpos similares ligados en una fase sólida ⁸⁸.

Crombach y cols ⁸⁹ midieron la concentración del antígeno SCC en extractos de tejido y en suero de pacientes ginecológicas con enfermedades benignas y malignas y encontraron niveles superiores en el epitelio escamoso normal y en el carcinoma de células escamosas del exocervix que en el epitelio columnar normal y en el adenocarcinoma del endocervix, endometrio, del ovario y de la mama.

El SCC ha sido estudiado en tumores malignos de células escamosas tanto de cuello uterino como de pulmón, cabeza, cuello, esófago y piel ^{90,91}. En todos ellos se observa que los niveles de este antígeno aumentan según el estadio de la neoplasia y en determinaciones seriadas puede indicar una recurrencia de la enfermedad, una enfermedad residual o una respuesta a la terapia ⁹².

B.-ANTIGENOS ESPECIFICOS TUMORALES:

Son aquellos que solo pueden ser detectados en células malignas y no en otras células del huesped.

Los primeros estudios para demostrar la presencia de antígenos tumorales específicos fueron realizados por Gross en 1943⁹³ y posteriormente por Prehn y Main⁹⁴ en 1957 es tumores transplantables murinos inducidos por un carcinógeno químico, el metilcolantreno (MCA).

Un sarcoma fué inducido mediante MCA en un paciente primario, resecado completamente antes de que se diseminara y transplantado a un paciente secundario singénico (genéticamente idénticos). Después de que el tumor transplantado hubiera crecido, el tumor fué de nuevo resecado y transplantado a otro ratón singénico normal y al paciente original el cual habia sido curado mediante la extirpación quirúrgica del tumor.

Un crecimiento progresivo del tumor fué observado en el ratón singénico normal, pero el paciente original del cual derivaba el tumor, lo rechazó.

Además, la inmunización con tejido normal no otorgaba resistencia al injerto tumoral. El tumor maligno parecía haber adquirido un componente antigénico durante la

transformación maligna del tejido de los ratones, que permitía que el tejido maligno fuera reconocido como "no propio", mientras que el correspondiente tejido normal era aceptado como "propio"⁹⁴.

En estudios posteriores, se demostró la especificidad inmunológica de esta respuesta contra el tumor en el animal expuesto a él ⁹⁵. Por tanto, los tumores inducidos por MCA expresan antígenos tumorales específicos capaces de producir una respuesta inmunológica por parte del huésped.

Se pueden administrar vacunas que contienen células tumorales previamente tratadas con radiaciones o drogas citotóxicas ⁹⁶. Después de la inmunización, los animales rechazan los trasplantes tumorales los cuales pueden crecer de forma progresiva hasta matar a los receptores no inmunes. Este tipo de resistencia es más relativa que absoluta, ya que una inoculación excesivamente grande del tumor puede crecer progresivamente en el portador inmune⁹⁴. Debido a que este tipo de antígenos fueron detectados mediante pruebas de trasplantes, se les conoce como **T.S.T.A. o antígenos tumorales específicos de trasplantes**. Experimentos similares fueron realizados utilizando virus oncogénicos como inductores de tumores ⁹⁷.

Una de las características de los antígenos de los virus inductores de tumores es que son específicos del carcinógeno, es decir, semejantes en todos los tumores inducidos por el mismo carcinógeno. Se denominan **antígenos de reacción cruzada**, ya que son

capaces de reaccionar contra tumores producidos por el mismo virus. Sin embargo, los tumores inducidos por carcinógenos químicos, son individualmente específicos, de manera que provocan una respuesta inmunológica contra el tumor en particular pero no contra otros tumores inducidos por el mismo carcinógeno ⁶⁴.

Los tumores de aparición espontanea tanto en animales como en humanos tienen unos TSTA muy débiles, pero algunos pacientes oncológicos parecen capaces de desarrollar una respuesta inmune humoral o celular contra sus propias neoplasias ⁹⁸.

Antígenos asociados a tumores (A.A.T.)

Antígenos oncofetales

Antígeno carcinoembrionario (CEA)

Alfafetoproteína (AFP)

Antígenos de diferenciación

TL

Determinantes antigénicos

Ca-125

SCC

CA 19.9

CA 15,3

Otros determinantes antigénicos.

Antígenos específicos tumorales (T.S.T.A.)

TABLA 1.2.2: ANTIGENOS TUMORALES

3.-MECANISMOS INMUNOLOGICOS CONTRA LAS CELULAS TUMORALES:

Los mecanismos inmunológicos que desarrolla el organismo para combatir a las células tumorales, se basan en primer lugar en el reconocimiento y procesamiento de las células tumorales como "materia extraña"; en segundo lugar en la activación del sistema inmune central y por último, en la respuesta efectora para eliminar las células neoplásicas ⁶³.

En teoría, todos los componentes del sistema inmune (elementos celulares, inmunoglobulinas, complejo mayor de histocompatibilidad, sistema complemento e interleuquinas) intervienen de forma interactiva en los mecanismos inmunológicos para la erradicación de las células tumorales⁷.

3.1.-Elementos celulares:

Los Linfocitos.-

Los linfocitos constituyen los elementos celulares del sistema inmune y son los responsables del reconocimiento del antígeno. Se dividen en dos grandes categorías: los linfocitos B responsables de la respuesta inmune humoral, y los linfocitos T responsables de la respuesta celular inmune⁹⁹

LINFOCITOS B:-

Los linfocitos B son los precursores de las células plasmáticas, productoras de inmunoglobulinas o anticuerpos.

Al entrar en contacto con el antígeno, las células B maduras aumentan de tamaño transformándose en linfoblastos y estos, por acción de los linfocitos T, en células plasmáticas productoras de anticuerpos.

En cada linfocito B solo se expresa una región variable de la cadena ligera y otra de la cadena pesada de la inmunoglobulina, por lo que cada linfocito B es específico para un antígeno.

LINFOCITOS T:

Derivan también de la médula ósea a partir de la célula madre, pero a diferencia de los B, emigran al timo (T) durante la vida fetal y en las primeras etapas de la vida postnatal, donde completan su diferenciación. Los linfocitos T son los efectores primarios de la inmunidad mediada por células y de la hipersensibilidad retardada; regulan la función de los linfocitos T y B y de los monocitos mediante la producción de linfoquinas y el contacto celular directo y también regulan la maduración de las células eritroides en la médula ósea.

Los linfocitos T se dividen en dos subpoblaciones, según expresen en su membrana un antígeno T₄ (cooperadores) o T₈ (citotóxicos), los linfocitos cooperadores reconocen los antígenos asociados con moléculas de clase II del MHC, mientras que los linfocitos citotóxicos reconocen los antígenos asociados con moléculas clase I del MHC. La relación T₄/T₈ en condiciones normales es de 2.

Las subpoblaciones T₄ se dividen funcionalmente a su vez en:

Células T_c : con funciones cooperadoras que influyen positivamente sobre la respuesta inmunitaria de las células B y T : inducen la diferenciación de las células B, la proliferación de los linfocitos citotóxicos, son productores de algunas linfoquinas y regulan algunas fases de la eritropoyesis.

Células T_s con función inductora de la supresión de la respuesta inmunitaria⁹⁹.

Es importante destacar que los linfocitos T no son capaces de reconocer antígenos que no estén asociados con moléculas del CMH. Mientras que los linfocitos B reconocen a los antígenos por si mismos, las células T sólo detectan complejos antígeno-CMH. Esto es lo que se denomina **restricción CMH de las células T**^{100,101}.

LINFOCITOS GRANULARES GRANDES.-

Son células que contienen grandes gránulos citoplasmáticos azulófilos, conocidos en el pasado como **células nulas** porque no expresan en su superficie los antígenos propios de las células B o T. Constituyen un 5 a un 10% de los linfocitos de la sangre periférica. Expresan receptores de membrana para la porción Fc de la IgG. Son capaces también de producir citoquinas principalmente TNF e interferón gamma.

Las **células asesinas activadas por linfoquinas (LAK)** son linfocitos que proliferan y aumentan su actividad in vitro en presencia de altas concentraciones de IL2 y alfa interferón y desarrollan la capacidad para destruir con eficacia células tumorales¹⁰².

MONOCITOS Y MACROFAGOS.-

Proceden de las células precursoras de la médula ósea. Abandonan la circulación periférica y se marginan en los capilares y posteriormente, emigran a una amplio fondo común extravascular y se convierten en macrófagos tisulares⁹⁹.

Son las **células presentadoras de antígenos** a los linfocitos, producen interleuquina I y son fundamentales para la activación de los linfocitos T. También presentan actividad del tipo de las células asesinas NK, siendo capaces de destruir células tumorales en ausencia de anticuerpos¹⁰³.

3.2.-EL COMPLEJO MAYOR DE HISTOCOMPATIBILIDAD.-

El complejo mayor de histocompatibilidad o CMH fué descrito por primera vez a principios de los años 50 en ratones, estudiando las reacciones frente a los trasplantes y tumores por Gorer y Snell. En 1958 Dausset descubrió el primer antígeno del complejo mayor de histocompatibilidad en los leucocitos humanos y lo denominó HLA (human leucocyte antigen).

El CMH humano o HLA consiste en un grupo de genes localizados en una región del brazo corto del cromosoma 6 cercana al centrómero. Estos genes codifican una serie de antígenos llamados de histocompatibilidad, que se encuentran situados en la membrana de todas las células nucleadas del organismo normales y neoplásicas¹⁰⁴.

Estos antígenos son unas glucoproteínas indispensables para la detección de antígenos propios y extraños y responsables del rechazo de los tejidos y órganos transplantados pertenecientes a miembros genéticamente distintos de una misma especie. Controlan también la producción de anticuerpos, la proliferación linfocítica, la citotoxicidad y la supresión de la respuesta inmunitaria. Así mismo en el MHC se hallan los genes que codifican la producción del complemento¹⁰⁵.

Dentro del HLA se codifican tres clases de productos génicos atendiendo a sus características bioquímicas y funciones en relación a la respuesta inmunitaria. Los antígenos HLA de clase I,II y III.

Las moléculas de clase I se codifican en los locus A, B y C del HLA. Están presentes en la superficie de todas las células del organismo excepto en los eritrocitos, células germinales y en el trofoblasto. Se denominan antígenos de transplante porque los linfocitos T citotóxicos que originan el rechazo de un injerto no histocompatible van dirigidos contra ellos¹⁰⁴.

Cada antígeno de clase I está constituido por una cadena ligera, la beta 2 microglobulina, y una cadena pesada que tiene las especificidades antigénicas¹⁰⁶.

Las moléculas de la clase II están codificadas en el locus D del HLA (antígenos DR,DQ y DP). Cada molécula de clase II está formada por dos cadenas polipeptídicas: alfa y beta unidas por enlaces no covalentes¹⁰⁷. Son expresadas en los linfocitos B, los monocitos y los linfocitos T activados, así como en los macrófagos, en las células dendríticas y en las células cutaneas de Langerhans. Las moléculas de clase II son antígenos asociados a la respuesta inmune de células linfoides humanas que ayudan a la presentación de antígenos a los linfocitos T y B¹⁰⁵.

Algunos tumores sólidos expresan de forma ectópica antígenos de clase II, incluyendo un 40% de carcinomas de ovario¹⁰⁸. Por el contrario una proporción de neoplasias humanas no expresan antígenos de clase I que normalmente son expresadas en el tejido de origen. Ello tiene importantes consecuencias, especialmente en lo que se refiere a las reacciones inmunitarias mediadas por células, ya que las células tumorales que carecen de antígenos MHC de clase I no pueden ser lisadas por células T citotóxicas, mientras que las células tumorales que expresan antígenos MHC de clase II, posiblemente pueden presentar autoantígenos a las células T cooperadoras⁴³.

3.3.-LA RESPUESTA HUMORAL INMUNE

La respuesta humoral inmune es aquella que está producida por inmunoglobulinas. Las inmunoglobulinas son sintetizadas por las células plasmática cuando son activadas por un inmunógeno como ocurre con los clones celulares neoplásicos dotados de poder antigénicos.

Las inmunoglobulinas son moléculas proteicas que tienen actividad de anticuerpo, es decir, la propiedad de combinarse específicamente con las sustancias que indujeron su formación (antígenos)¹⁰⁹.

Las enzimas pepsina y papaina rompen la molécula de inmunoglobulina en diferentes fragmentos. La papaina la rompe en dos fragmentos iguales Fab y un fragmento Fc. El fragmento Fab (amino-terminal) está compuesta por una cadena pesada y otra ligera. Es el lugar de combinación con el antígeno. Por tanto posee una marcada variabilidad en su secuencia de aminoácidos que capacita a la molécula de inmunoglobulina para combinarse con los distintos antígenos. El ideotipo es la región específica de la porción Fab a la cual se une el antígeno¹¹⁰.

El fragmento Fc se denomina carboxiterminal y solo contiene cadenas pesadas. El fragmento Fc o región constante (secuencia de aminoácidos fija) es responsable de las propiedades biológicas de la molécula.

El fragmento Fc se une a los receptores Fc de la superficie de los macrófagos, linfocitos granulares grandes y células B¹⁰⁹.

Se han detectado anticuerpos contra tumores experimentales pero no se demostró un importante papel de la inmunidad humoral en cuanto a la resistencia contra el crecimiento del tumor primario y la inyección de suero conteniendo estos anticuerpos no confieren protección. Sin embargo, los anticuerpos pueden unirse a las células tumorales circulantes e interferir de una forma limitada, el establecimiento de metástasis distantes.

La unión de una inmunoglobulina a la superficie de la célula tumoral no es suficiente para destruirla. Se conocen dos mecanismos por los cuales los anticuerpos pueden destruir las células neoplásicas diana: la **citotoxicidad mediada por células dependientes de anticuerpo (CCDA)** y **citotoxicidad dependiente del complemento**.

En la **CCDA**, anticuerpos IgG específicos se unen a antígenos asociados a tumores y a células efectoras que poseen receptores para la porción Fc de la molécula de inmunoglobulina. El anticuerpo actúa como puente entre la célula efectora y la célula diana¹¹¹.

Una nueva forma de **CCDA** ha sido descrita recientemente en los que anticuerpos murinos monoclonales IgG2a se unen con macrófagos que poseen receptores para este isotipo. La interacción con los epitopos antigénicos de las células tumorales diana, dispara la activación de los macrófagos y produce la lisis de las células neoplásicas en 24-48 horas.

En esta forma alternativa de CCDA los anticuerpos pueden "armar" a los macrófagos mediante enlaces con el receptor Fc de la célula efectora antes de unirse a las células efectoras ¹⁰⁹.

En la citotoxicidad dependiente del complemento, la unión del anticuerpo a la superficie de la célula tumoral dispara la vía clásica del complemento. Los componentes finales del complemento producen soluciones de continuidad en la superficie de la célula tumoral y destruye su integridad osmótica. En contraste con los CCDA donde solo intervienen anticuerpos IgG en la citotoxicidad dependiente del complemento, la IgM es más eficiente que la IgG¹¹².

La citotoxicidad dependiente de anticuerpos es más eficiente "in vitro" que la citotoxicidad mediada por complemento ya que en ensayos realizados se ha observado que este última precisa de mayor cantidad de anticuerpos por molécula para producir lisis tumoral. Estudios efectuados en individuos normales y en pacientes con déficit de complemento bajo el aspecto neoplásico han sugerido que la citotoxicidad mediada por complemento no es muy efectiva. Por el contrario, parece ser que la CCDA puede ser el mecanismo efector "in vivo" más importante para destruir las células tumorales según se deriva de estudios realizados con anticuerpos monoclonales de diferentes⁷.

3.4 .-RESPUESTA INMUNE CELULAR

La inmunidad mediada por células es un mecanismo de protección del huésped que proporciona resistencia a infección intracelular e invasión neoplásica, hipersensibilidad retardada, y rechazo de trasplante.¹¹³

La citotoxicidad mediada por células se basa en el reconocimiento de determinantes antigénicos en la superficie de la célula y en la puesta en marcha de mecanismos efectoros que culminan con la destrucción celular. Este tipo de reacción juega un papel importante en la vigilancia y aniquilación de las células neoplásicas¹¹⁴

(ESQUEMA 1.3.1)

La respuesta de las células T es incuestionablemente la más importante del huésped para el control del crecimiento de las células tumorales antigénicas¹¹⁵.

Como anteriormente se expuso, los linfocitos T identifican los antígenos extraños en asociación con moléculas de la superficie celular codificadas por el HLA, presente en las células presentadoras de antígenos (macrófagos). Puesto que la mayoría de los tumores expresan moléculas HLA de tipo I pero no de tipo II, los linfocitos T cooperadores necesitan la colaboración de los macrófagos para reconocer las células tumorales¹¹⁶.

Al entrar en contacto con el antígeno, los macrófagos segregan IL1, presentan el antígeno a los linfocitos cooperadores T4 en asociación con moléculas HLA de tipo II y los activan a la vez que induce en ellos receptores para la IL2. Una vez activados los linfocitos cooperadores segregan linfoquinas. Estas linfoquinas (fundamentalmente la IL2) produce la proliferación de linfocitos T cooperadores y T citotóxicos y, la activación de las células T citotóxicas, macrófagos, NK y células B productoras de anticuerpos.¹¹⁷

Los mecanismos precisos por los que los linfocitos citotóxicos destruyen las células tumorales permanece desconocido. Las células T citotóxicas se adhieren mediante enlaces específicos a las células diana (para lo cual es necesario el Mg^{++}), segregan una sustancia llamada perforina que perfora la membrana celular y secundariamente se produce la entrada de Ca^{++} y agua que altera su osmolaridad produciendo la lisis de la misma. Niveles elevados de cAMP en el interior de las células T suprimen la citolisis y los efectos inhibitorios de la PG1 y PG2 en la destrucción celular probablemente son mediados por el cAMP¹¹⁸.



Esq.1.3.1: Inmunidad celular frente a los tumores

3.5.- RESPUESTA INMUNE NATURAL :

La inmunidad natural es realizada por células capaces de lisar las células neoplásicas sin sensibilización previa. Los efectores de la inmunidad natural comprenden las células NK y LAK, los fagocitos mononucleares y los polimorfonucleares⁴⁷.

CELULAS NK y LAK: Las células NK o linfocitos granulares grandes, a diferencia de las células T citotóxicas, carecen de memoria, no presentan restricción por el MHCA y tienen capacidad para destruir una gran variedad de tumores in vitro, así como para ofrecer resistencia al crecimiento de las células tumorales transplantadas¹¹⁹.

Las células NK exhiben una clara especificidad para destruir las células tumorales con mayor facilidad que las células no malignas (ESQUEMA 1.3.2). El reconocimiento de las células tumorales por las NK, comprende un fenómeno de unión que debe producir una alteración en la estructura de la célula diana. La susceptibilidad de esta célula diana parece depender de su estado de diferenciación así como de la ausencia de los antígenos de las células normales, tales como las moléculas MHC⁴⁷

La actividad citotóxica de los LGG puede intensificarse, tanto in vivo como in vitro, por la IL2 , el interferón o inmunoestimulantes tales como BCG e *Corinebacterium parvum* , e inhibirse por acción de algunas prostaglandinas como la PGE1, PGE2, PGA1 y PGA2, glucocorticoides y ciclofosfamida¹²⁰.

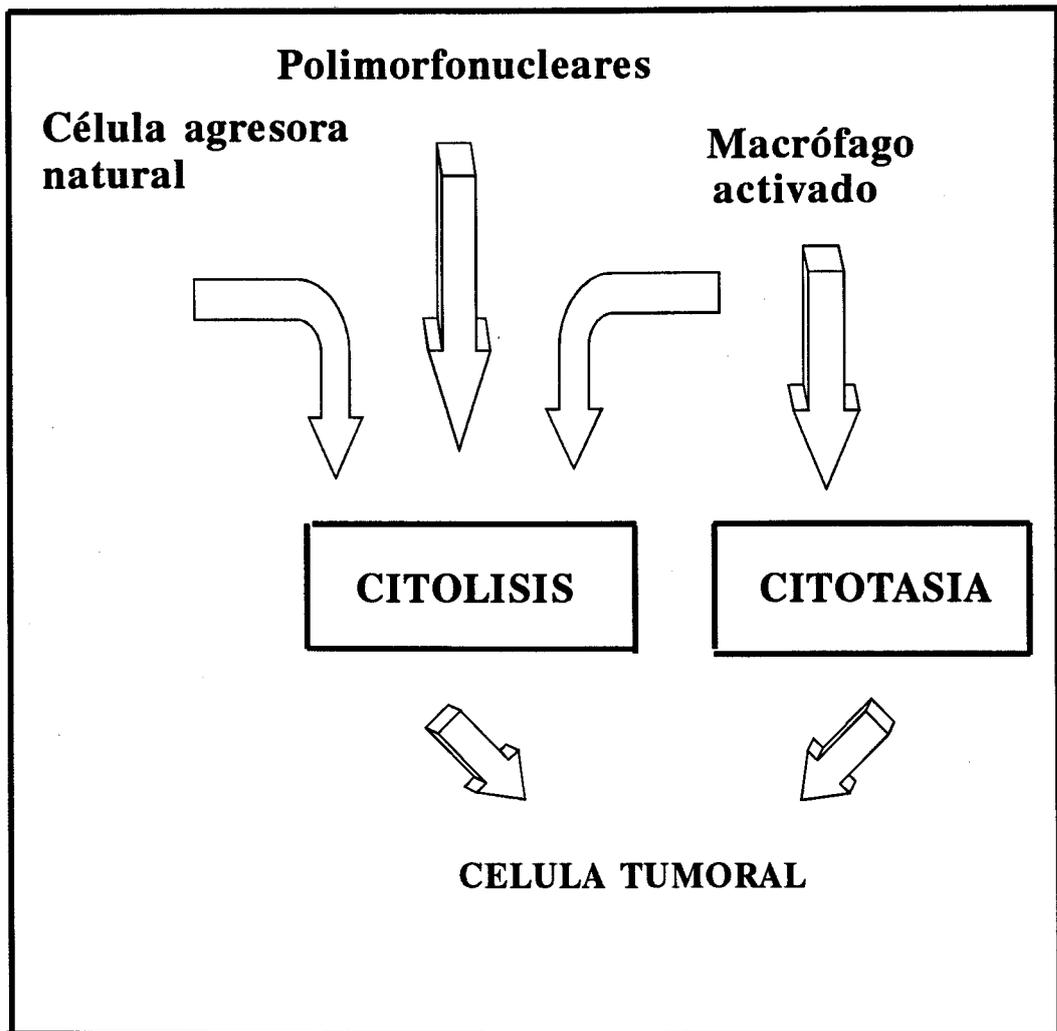
No se sabe con exactitud la función antitumoral que ejercen las células NK. Según estudios experimentales se sabe que intervienen en el rechazo de las células tumorales transplantadas y en la prevención de metástasis, en cambio, no tienen influencia sobre los cánceres ya establecidos¹²¹.

No todos los tumores tienen la misma susceptibilidad para las NK. Usando preparaciones de linfocitos granulares grandes purificados se ha podido provocar citotoxicidad contra tumores sólidos y leucemias ¹¹².

Las células LAK resultan de la incubación de linfocitos de sangre periférica en IL2 durante un periodo mínimo de 48 horas. Estas células se caracterizan por su especificidad hacia una gama de tumores sólidos y resistentes a la actividad NK y por la falta de citotoxicidad hacia las células normales. Es posible que las LAK representen un estadio ulterior de la activación de las células NK¹²²

LOS MACROFAGOS: son importantes en la inmunidad frente a las células neoplásicas, no solo como células presentadoras de antígenos , sino también como células efectoras cuando son activadas, produciendo lisis tumoral. Los linfocitos T segregan factores activadores de los macrófagos (MAF) en respuesta al estímulo antigénico. Los MAF y principalmente el interferon gamma, son linfoquinas capaces de transformar en tumoricidas a los macrófagos tanto in vivo como in vitro¹²³.

Los macrófagos activados pueden suprimir la proliferación de linfocitos T, la actividad de las NK y la producción de mediadores posiblemente, debido a las prostaglandinas que segregan¹²⁴.



Esq.1.3.2: Inmunidad natural frente a los tumores

3.6.-LINFOQUINAS :

Las linfoquinas son glicoproteínas sintetizadas en respuesta a estímulos concretos por múltiples tipos celulares como linfocitos T y macrófagos, así como por linfocitos B y células NK , con un amplio rango de efectos fisiológicos en la inmunidad. Se asemejan a las hormonas en el hecho de que tienen una multiplicidad de efectos intracelulares, están presentes en pequenísimas cantidades en suero o tejidos y actúan sobre receptores de membrana específicos de forma endocrina (en sitios distantes de donde se producen), paracrina (de forma localizada o no circulante) o autocrina (sobre las células que las producen) ^{125,126}

Las linfoquinas carecen de especificidad y no presentan restricción por las moléculas del sistema mayor de histocompatibilidad. Modulan las actividades de las células que participan en los procesos inmunes. Intervienen en el crecimiento, diferenciación, proliferación y activación de otros linfocitos, de los macrófagos o de otras células ¹²⁷

El término de linfoquinas fue introducido en 1969 por Dumond ¹²⁸ para enfatizar su origen (linfocitos) y su papel en el mantenimiento de la fisiología del sistema inmune (quinesis). A los mediadores biológicos semejantes pero segregados por monocitos se les denominó monoquinas y citoquinas cuando son producidos por otras células no linfoides como son los fibroblastos, células epiteliales, osteoblasto. ¹²⁹ .

Desde que se descubrió la primera linfoquina hasta la actualidad, se han descrito una gran cantidad de ellas, de manera que en la actualidad no se conoce el número exacto que existen.

Al principio, las linfoquinas fueron nombradas en base a la actividad que producían y sus nombres fueron abreviados por acrónimos (por ejemplo MIF o factor inhibidor de la migración). Dado que una misma sustancia puede tener diferentes actividades biológicas, comenzaron a aparecer múltiples nombres para una misma linfoquina, lo que creó una cierta confusión¹³⁰

Gracias a la tecnología del DNA recombinante, se ha podido purificar e investigar la estructura bioquímica de estos inmunomoduladores¹³¹. Generalmente las linfoquinas clonadas incluyen seis interleuquinas numeradas y otras que conservan sus nombres basados en su actividad¹³².(TABLA 1.3.1)

IL1.-La IL1 o FACTOR ACTIVADOR DE LOS LINFOCITOS (LAF):

Descubierta en 1972 en el sobrenadante de cultivos de células sanguíneas humanas, es una linfoquina producida por todos los tipos de macrófagos incluyendo los de la cavidad peritoneal, hígado, bazo y de los alveolos pulmonares¹³².

En 1981, se observó que también otros tipos de células como keratinocitos, células epiteliales, astrocitos y células de microglia, dendríticas, de Langerhans, osteoblastos, fibroblastos y células endoteliales entre otras son también productoras de IL1¹³³.

La función principal de la IL1 es la activación de los linfocitos T. Los macrófagos reconocen al antígeno y lo presentan al linfocito T en asociación con las moléculas de clase II del HLA. Al procesar al antígeno, los macrófagos segregan IL1 la cual actúa sobre los linfocitos cooperadores, permitiendo que pase a la fase G1 del ciclo celular (aumentan de tamaño y entran en una gran actividad transcripcional), con lo cual expresan receptores para la IL2 y luego la producen. Por otro lado anula la acción inmunosupresiva de los linfocitos T supresores¹³⁴.

La IL1 ejerce efectos antitumorales actuando por diferentes mecanismos: por un lado, estimula las funciones citótóxicas de los linfocitos T8 al promover la expresión de receptores de IL2 y su producción por estas células, por otro, aumenta también la actividad de NK de las células mononucleares junto con la IL2 y el interferón¹³⁵ y finalmente tiene un efecto citolítico directo sobre las células malignas como se observa in vitro .

Los efectos de la IL1 pueden ser suprimidos por los corticosteroides, ciclosporina, prostaglandinas PGE2 y otros agentes inmunosupresores¹³⁶.

TNF o FACTOR DE NECROSIS TUMORAL:

Fué descubierto desde hace más de 100 años mediante observaciones que relacionaban la remisión espontanea de tumores en pacientes que padecían una infección concomitante¹³⁷. Entre los años 40 y 50 se comprobó que inyectando lipopolisacaridos de las endotoxinas de bacterias gram (-) se producía necrosis hemorrágica de cierto tumores en el ratón.

En 1962, O`Malley¹³⁸ y colaboradores señalaron que el efecto antineoplásico de la endotoxina era debido a un factor sérico endógeno potenciado por la propia endotoxina. Fué en 1975 cuando Carswell y Old¹³⁹ inyectando este factor en ratones con sarcoma trnasplantados a nivel subcutaneo, observaron que se producía una necrosis hemorrágica y la regresión del tumor y en base a ello lo denominaron "factor de necrosis tumoral". In vitro el TNF exhibe una actividad citostática y citolítica contra determinadas líneas celulares malignas tanto humanas como murinas¹⁴⁰.

Se ha demostrado que el TNF es producido por los monocitos macrófagos y se ha sugerido que es una de las potentes moléculas para destruir las células tumorales por estos¹⁴¹. No se sabe cual es el mecanismo que provoca la necrosis hemorrágica del tumor in vivo; se cree que puede ser debida por una parte, a la acción procoagulante sobre el endotelio vascular y a la activación de los neutrófilos y por otra, a sus efectos citotóxicos y citolíticos sobre las células tumorales como se observa in vitro¹⁴²

En 1980, Cerami y cols¹⁴³ redescubrieron este factor como caquectina al aislar una monoquina sintetizada por los macrófagos y que uno de sus efectos es la inhibición de la protein-lipasa en los adipocitos en cultivo, lo que produce la hipertrigliceridemia al impedir la entrada de los triglicéridos exógenos en los adipocitos y la caquexia en los pacientes con cáncer.

En 1985 y gracias a la técnica del DNA recombinante se pudo comprobar que el TNF y la caquectina son la misma sustancia . La linfotoxina es una linfoquina producida por los linfocitos T activados, se une a los mismos receptores que el TNF y ambos comparten las mismas actividades funcionales, por lo que se les considera pertenecientes a una misma familia, de forma semejante a lo que ocurre con los interferones, al TNF se le conoce como TNF alfa y a la linfotoxina como TNF beta¹⁴⁴.

LINFOQUINA	ORIGEN	PRINCIPALES DIANAS	ACCIONES
IL1α, IL1β	Macrófagos, LGL, células B	Células T,B, macrófagos	Activación de los linfocitos estimulación de los macrófagos
IL2	Células T	Células T	Factor de crecimiento de las células T
IL3	Células T	Células primordiales	Factor estimulador de las colonias
IL4	Células T	Células B y T	Factor de crecimiento de las células B
IL5	Células T	Células B	Crecimiento/diferenciación de las células B
IL6	Células T,B y macrófagos	Células B	Crecimiento/diferenciación de las células B
TNFα	Macrófagos,linfocitos	Macrófagos Granulocitos	Activación de los macrófagos,linfocitos,células citotóxicas,caquexia...
TNF β	Células T		
IFN α IFN β	Leucocitos	Células hísticas	Inducción MHC clase I Efecto antivírico
IFN γ	Células T Células NK	Leucocitos y células hísticas	Inducción MHC, activación de los macrófagos
MCSF	Monocitos	Células primordiales	Estímulo de la división y la diferenciación
G-CSF	Macrófagos		
GM-CSF	Células T macrófagos		
MIF	Células T	Macrófagos	Inhibición de la migración

TABLA 1.3.1: LINFOQUINAS

3.7.- EL SISTEMA COMPLEMENTO:

El SISTEMA COMPLEMENTO comprende una serie de enzimas, proteínas reguladoras y proteínas citolíticas plasmáticas, que actúan en cascada y juegan un papel clave en los mecanismos de defensa del huésped

Las proteínas del complemento ejercen tres funciones principales. La primera y más conocida, es la lisis directa de células extrañas, bacterias y virus. La segunda consiste en el proceso de opsonización mediante el cual se produce un revestimiento de las células diana por fragmentos activos de las proteínas del complemento, que son reconocidos por receptores específicos de las células fagocíticas. La interacción del complemento con las células diana produce su inmovilización y adhesión a los macrófagos facilitando su fagocitosis. La tercera función es la regulación de las características de la respuesta inmune e inflamatoria^{31,145,146}

La activación en cascada de las proteínas del complemento se puede realizar por dos vías: la vía clásica y la vía alternativa.

La vía clásica se denomina así porque fue descrita en primer lugar y se inicia por la unión del anticuerpo específico de la clase IgG o IgM a la superficie del antígeno. La vía alternativa se activa por interacción directa con lipopolisacáridos presentes en la superficie de bacterias, por endotoxinas y por inmunocomplejos que contienen IgA^{147,148}

Tanto la activación de la vía clásica a través de sus componentes C1, C4 y C2, como la vía alternativa mediante el factor D, C3 y B, conducen a la lisis y activación de C3. Esta es una proteína que a través de su fragmento C3b conduce a la activación de los componentes finales del complemento (C5, C6, C7, C8 y C9), que originan el COMPLEJO DE ATAQUE de las membranas y que al unirse a la superficie de las células diana provoca la lisis osmótica de las mismas ^{3,148}

La unión del anticuerpo (IgM fundamentalmente) a la superficie de la célula tumoral, activa la vía clásica del complemento dando lugar al complejo de ataque de membranas, el cual produce soluciones de continuidad en la superficie de la célula tumoral y origina su lisis osmótica¹¹²

4.- EVASION DEL TUMOR AL CONTROL DEL SISTEMA INMUNE.

El fracaso del sistema inmune para impedir la aparición de nuevos tumores, no significa que no se produzcan respuestas inmunes específicas contra tumores ya establecidos. Desafortunadamente esta respuesta que puede ser detectable durante el crecimiento inicial pero no tardío del tumor, es generalmente inefectiva.

Uno de los objetivos más importantes en la inmunología tumoral es determinar los mecanismos por los que las células tumorales burlan o suprimen una respuesta inmune potencialmente efectiva. Se han propuesto varios mecanismos de evasión del tumor al control del sistema inmune.(ESQUEMA 1.4.1)

A.-ANTIGENICIDAD DISMINUIDA DE LAS CELULAS TUMORALES:

Se ha observado que las neoplasias que surgen espontáneamente son mucho menos antigénicas que las inducidas de forma experimental por virus oncogénicos o carcinógenos químicos⁷

Muchos tumores humanos son débilmente antigénicos o no lo son en absoluto. Aunque todas las células tumorales sintetizan nuevos antígenos, puede ocurrir que estos no sean expresados en la superficie celular o que no sean presentados en un contexto adecuado⁴³. Recientemente se ha señalado que la forma en que los antígenos tumorales son

presentados por los macrófagos o células presentadoras de antígeno, es fundamental para el desarrollo de una respuesta celular eficaz frente al tumor. Macrófagos obtenidos de portadores de neoplasias, presentan una marcada inhibición funcional in vivo e in vitro, necesitando la reactivación con MAF (IFN ganma) para que recuperen su función tumoricida⁶³

Estudios de tumores inducidos por virus, sugieren que la presencia de ciertos genes confiere resistencia a la leucemia de origen vírico y que al menos en algunos casos esta resistencia es consecuencia de una respuesta inmune más intensa a antígenos asociados a virus¹⁴⁹

B.-HETEROGENICIDAD DE LA EXPRESION ANTIGENICA:

Una sustancial heterogenicidad en la expresión de antígenos asociados a tumores, ha sido demostrada mediante heteroantisueros, anticuerpos monoclonales e inmunidad mediada por células¹⁵⁰

Actualmente se tiene evidencia de que las neoplasias humanas, están constituidas por subpoblaciones celulares heterogeneas en cuanto a su inmunogenicidad, propiedades antigénicas, potencial metastático, receptores hormonales, características metabólicas, sensibilidad a las radiaciones y susceptibilidad a drogas citotóxicas¹⁵¹

La clonación de células tumorales ha revelado fenotipos heredables distintos, algunos de los cuales se caracterizan por disminuir la expresión de antígenos tumorales. Esto daría lugar a la aparición de un clon dominante de mayor capacidad de resistencia frente a la respuesta inmunológica del huesped y a la eliminación de clones inmunogénicos. Este sería el caso de las células que integran los tumores invasivos y metastáticos¹⁵²

C.-MODULACION ANTIGENICA:

Este fenómeno incluye la endocitosis, el enmascaramiento y la redistribución de los antígenos asociados a las células neoplásicas lo que impediría que las células inmunológicas reconozcan y destruyan el tumor. La modulación antigénica fué observada por primera vez en leucemias murinas, pero similares observaciones se han realizado en tumores de células B y leucemias humanas¹⁵³

D.-FACTORES BLOQUEANTES:

En 1974, Hellstrom y cols¹⁵⁴ realizaron una serie de investigaciones que pusieron de manifiesto la existencia de anticuerpos bloqueantes. Observaron que cuando ponian en contacto un cultivo de células neoplásicas con linfocitos de pacientes con cáncer, se producía una destrucción de las células tumorales. Sin embargo, cuando a este cultivo le agregaban suero de pacientes con tumores en crecimiento, no se producía citólisis, debido a un bloqueo de la acción citotóxica de los linfocitos inmunes. Posteriormente también

observaron que si la adición de suero procedía de portadores de neoplasias en fase de remisión desaparecían estos anticuerpos bloqueantes. Se supone, que los antígenos de las células tumorales se unen a anticuerpos procedentes del huésped y forman complejos antígeno-anticuerpos que pueden ocupar los receptores Fc de las células efectoras responsables de la CCDA (citotoxicidad celular mediada por anticuerpos) y bloquean su función efectiva⁴⁵

E.-CELULAS SUPRESORAS ESPECIFICAS:

En animales experimentales se ha demostrado, que inmediatamente después de la inoculación de células tumorales antigénicas, aparecen células T supresoras (Ts1) las cuales producen a su vez un factor supresor (TsF1)¹⁵⁵ capaz de inducir un nuevo tipo de células supresoras o Ts2 que pueden inhibir a las células T efectoras (Tc citotóxicas y células T de hipersensibilidad retardada). Se han descrito también un factor TsF2 que induce la producción de células supresoras Ts3 que inhibirían a las células T colaboradoras Th¹⁵⁶

Así mismo, se ha demostrado un descenso de la subpoblación de linfocitos T colaboradores y una elevación de la subpoblación de linfocitos T supresores, en sangre periférica y en órganos linfoides de portadores de tumores en crecimiento. En consecuencia se produce una incapacidad para la formación de células T citotóxicas y para la liberación

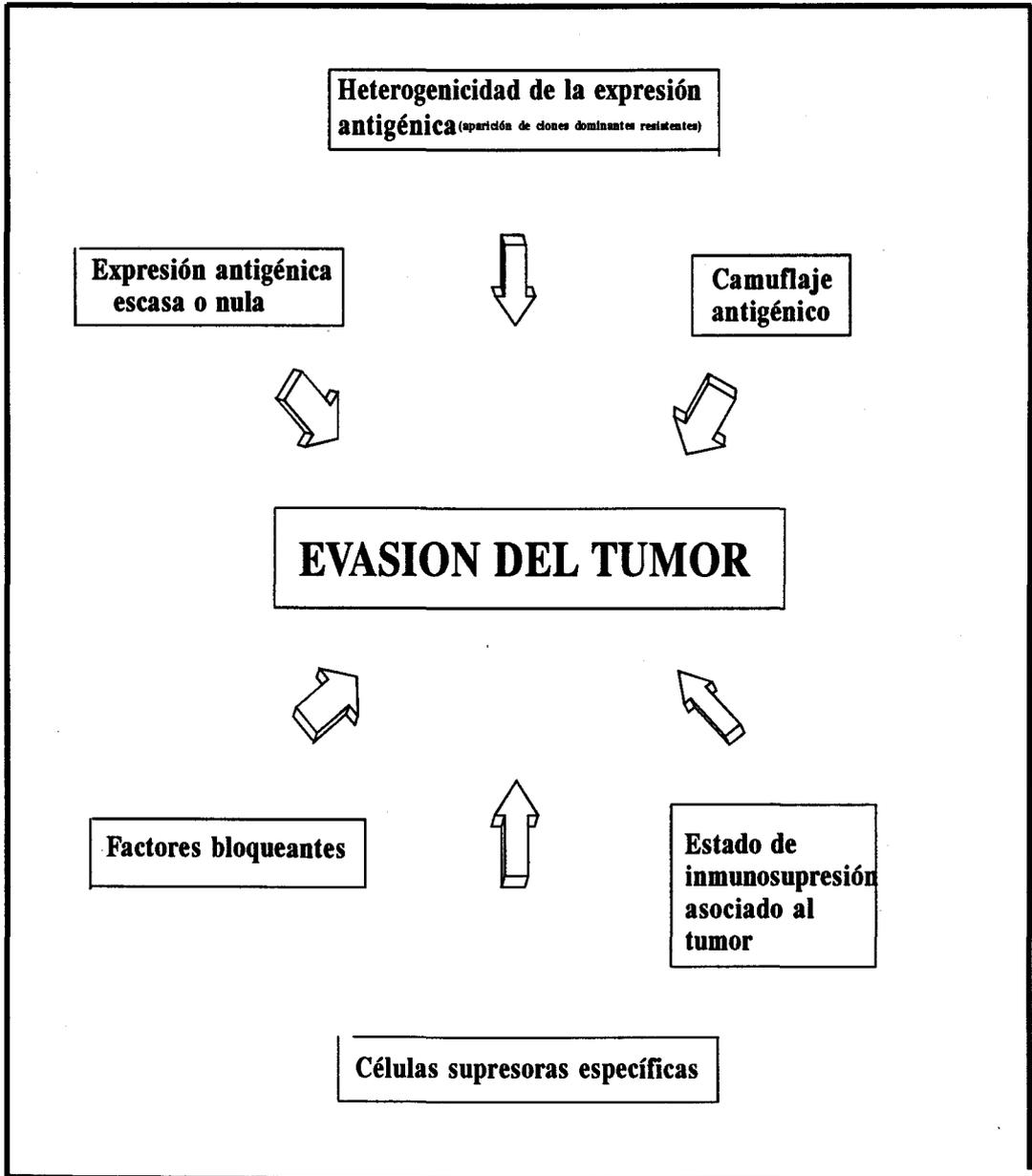
de linfoquinas necesarias para la activación de otros elementos efectores acentuándose la inmunosupresión del huesped ⁷

F.-SUPRESION ESPECIFICA:

En estados de desnutrición comunmente asociados a los procesos neoplásicos, se ha observado una disminución de la inmunidad mediada células y en menor medida de la inmunidad humoral. En portadores de tumores que presentan desnutrición, los macrófagos activados pueden suprimir la proliferación de linfocitos en presencia de mitógenos tales como la BCG y el C parvum¹⁵⁷

Los macrófagos activados por los antígenos tumorales y también las propias células neoplásicas liberan PGE₂, la cual puede inhibir la acción efectora de la respuesta inmune. La PGE₂ induce la elevación de la ciclogenasa que suprime la producción y activación de los linfocitos efectores¹⁵⁸

La interacción de estos diversos y complejos mecanismos colaboran para que la respuesta inmunológica del huesped sea ineficaz y la célula cancerosa adquiera una autonomía completa y prolifere de forma incontrolada.



Esq.1.4.1: Evasión del tumor al control del sistema inmune

5.- INMUNOTERAPIA:

Como consecuencia de los avances en el conocimiento del sistema inmune y de los mecanismos que inhiben el crecimiento de las células neoplásicas, están apareciendo nuevas estrategia para el control inmunológico del cáncer.

En la actualidad, con pocas excepciones, no hay ninguna pauta de inmunoterapia que sea más eficaz que la terapéutica convencional; unicamente puede facilitar la eliminación de focos tumorales inaccesibles al tratamiento habitual.

La inmunoterapia tiene como objetivo, por un lado, aumentar la resistencia específica e inespecífica del huesped, y por otro, reducir al mínimo las posibilidades de escapar al control inmunológico por la inducción de otros cambios potencialmente perjudiciales en la regulación inmunitaria.⁴⁷

Mathe clasificó la inmunoterapia en el cáncer en tres grandes grupos: activa, pasiva y adoptiva (ESQUEMA 1.5.1). La inmunoterapia activa la subdividió en específica e inespecífica¹⁵⁹

5.1.-INMUNOTERAPIA ACTIVA:

La finalidad de la inmunoterapia activa consiste en estimular la respuesta inmunológica del portador frente a su propio tumor. Antes de aplicar cualquier tipo de tratamiento inmunológico, es preciso reducir al mínimo la masa tumoral, preferentemente a 10^8 células con métodos quirúrgicos, radioterápicos o quimioterápicos . De esta manera se reducen al mínimo el número de células tumorales y además, se eliminan las células Ts del paciente, que inhiben la acción de las células efectoras inmunológicas.¹⁶⁰

Inmunoterapia activa específica.-

Basándose en el hecho de que algunos tumores expresan antígenos asociados que pueden estimular la respuesta inmunológica específica, se han desarrollado vacunas experimentales tumorales¹⁶¹.

En un principio se usaron con este fin, células tumorales inactivadas mediante procedimientos radiactivos o químicos y posteriormente, eran inoculados al paciente sin resultados prometedores. En algunos casos estas células tumorales intactas se han mezclado con inmunoestimulantes como la BCG o bien, se han tratado con neuroaminidasa la cual, puede desenmascarar determinantes inmunogénicos¹⁶²

Recientemente se han desarrollado técnicas más sofisticadas, mediante el uso de células tumorales genéticamente alteradas, en las que se han insertado genes para una citoquina ¹⁶³. Parece ser que la presencia de un gen extra para la IL2, IL4, u otras citoquinas, así como para antígenos de histocompatibilidad (HLA-DR), pueden hacer a las células tumorales inoculadas considerablemente más inmunogénicas, dando lugar a un aumento de la resistencia del huésped frente al tumor. Actualmente se están realizando ensayos clínicos en esta línea ¹⁶⁴

También se han realizado estudios en animales inmunizados con células tumorales modificadas con virus o con haptenos, con el fin de aumentar la respuesta inmunitaria específica ¹⁶⁵

Inmunoterapia activa inespecífica.-

Consiste en emplear una serie de agentes capaces de incrementar de manera inespecífica la respuesta inmunitaria hacia las células tumorales. A estos agentes se les ha denominado **Modificadores de la Respuesta Biológica (MRB)**(TABLA 1.5.1).

Los **MRB** pueden ser divididos en dos categorías principales:

a) **Agentes biológicos o químicos**, que estimulan los mecanismos de defensa del huésped involucrados en el control del crecimiento de las células tumorales ya sea

aumentando la activación de los elementos efectores o bien inhibiendo los mecanismos supresores de la respuesta inmunológica frente a los tumores

b) Productos celulares que pueden tener efectos antitumorales directos¹⁶⁶

La lista de inmunomoduladores aumenta continuamente a medida que se adquieren nuevos conocimientos sobre el sistema inmune y sus mecanismos de regulación (TABLA 1.5.1)

Inmunomoduladores biológicos.-. Los más usados han sido la BCG y el *Corynebacterium parvum*

BCG: Es una cepa atenuada del *Mycobacterium bovis* que fué desarrollada como una vacuna frente a la tuberculosis humana por Calmette y Guerin en el Instituto Pasteur en 1908. La inyección intralesional de BCG puede producir regresión de hepatomas en modelos animales y reactivar la inmunidad sistémica¹⁶⁷. Esta reactivación de la respuesta inmune puede ser la causa del aumento de la supervivencia en pacientes con melanomas malignos que han recibido BCG intralesional antes de su extirpación quirúrgica. La BCG produce la estimulación de los macrófagos y secundariamente la liberación por estos de tres linfoquinas: el interferón, el factor estimulante de colonias y el TNF¹⁶⁸.

El *C.parvum* es otro adyuvante microbiano que produce varias reacciones inmunológicas. La administración intraperitoneal de *C.parvum* a pacientes con carcinoma epitelial de ovario, ha inhibido la formación de ascitis y producido regresión de implantes tumorales pequeños en la superficie peritoneal¹⁶⁹

El *C.parvum* produce estimulación de las células B, inducción de la actividad citotóxica de los macrófagos y de las células NK, recuperación de la hematopoyesis (probablemente a través de la producción de CSF mediante macrófagos activados) activación del complemento, producción de TNF y actividad antitumoral¹⁷⁰.

Inmunomoduladores sintéticos. El **Levamisol** es el inmunomodulador más ampliamente estudiado. Fue introducido como un antihelmíntico de amplio espectro en 1966. El levamisol activa la producción de linfocitos T en pacientes inmunodeprimidos, restaura la inhibición de la migración de los linfocitos en respuesta a un estímulo antigénico y aumenta la producción de mediadores solubles de la hipersensibilidad retardada¹⁶⁸. Su utilidad como coadyuvante en el tratamiento del cáncer ha sido comprobado en muchos ensayos clínicos, pero estos resultados no han sido suficientes como para justificar su uso generalizado para este propósito¹⁷¹.

Productos celulares: La **timosina** produce un efecto estimulante sobre la función de las células T en los pacientes con enfermedades malignas en los que la actividad de

estas células está deprimida. Se dispone de dos productos de la timosina, sintetizadas mediante técnicas de DNA recombinante para uso clínico: la fracción 5, es extraída del timo de los terneros y contiene varios polipéptidos y la fracción α -1, un polipéptido con función linfoquina varias veces más potente que la fracción 5; ambas inducen la maduración de los prelinfocitos T estimulando la aparición de marcadores fenotípicos característicos¹⁷².

Citoquinas.-Las citoquinas han sido identificadas, caracterizadas e investigadas mediante técnicas de ingeniería genética por su capacidad para el tratamiento de tumores humanos y experimentales¹⁷³. Las dos citoquinas más utilizadas en la inmunoterapia son los interferones y la IL2.

Los interferones.- Debido a su actividad antiviral su utilización clínica ya ha sido usada en papilomas juveniles de laringe o en condilomas genitales por HPV. Casi un 60% de pacientes con SIDA y sarcoma de Kaposi pueden responder temporalmente al tratamiento con interferón¹⁷⁴

La IL2.- Se ha utilizado conjuntamente con las células LAK (células Killer activadas con linfoquinas) y con los TILs (linfocitos infiltrantes de tumores) para el tratamiento de tumores malignos que normalmente no responden a la quimioterapia convencional como los melanomas e hipernefomas¹⁷⁵

5.2.-INMUNOTERAPIA PASIVA.-

Tiene como fundamento la transferencia al enfermo de anticuerpos procedentes de sujetos portadores del mismo tumor en regresión o curados. Dentro de la inmunoterapia pasiva tiene especial importancia los anticuerpos monoclonales producidos mediante la técnica de los hibridomas⁷².

Los anticuerpos monoclonales anti AAT(antígenos asociados a tumores) tienen la capacidad de localizar de forma selectiva las células neoplásicas. Se han utilizado diferentes estrategias para el control inmunológico tumoral mediante el uso de anticuerpos monoclonales. Unas veces dirigiéndolo a la superficie de la célula tumoral como un anticuerpo citotóxico con o sin la participación del complemento, otras veces dirigiéndolo hacia moléculas que son necesarias para el crecimiento y la diferenciación de las células tumorales como, por ejemplo, receptores para factores de crecimiento, y en otras ocasiones conjugados a isótopos radioactivos, drogas quimioterápicas o toxinas bacterianas¹⁷⁶

Anticuerpos monoclonales antilinfomas y antileucemias han conseguido respuestas parciales en leucemias y linfomas en varios estudios publicados¹⁷⁷. Desafortunadamente los resultados obtenidos hasta ahora no han sido tan halaguenos como se esperaban y la mitica "bala mágica" que destruye solo las células neoplásicas pero no las normales, no ha conseguido sus fines.

Las razones de este fracaso se explican por la heterogeneidad de los tumores (no todas las células del tumor expresan los mismos antígenos), la modulación antigénica, el rechazo hacia el anticuerpo monoclonal, la baja expresión antigénica de algunas neoplasias o el inadecuado acceso vascular.

5.3.-TERAPIA ADOPTIVA .-

Se basa en la inoculación al paciente de células inmunocompetentes (linfocitos T y B) y productos celulares (factor de transferencia) que intervienen en la respuesta inmunológica frente a las células tumorales.

Steven Rosenberg,¹⁷⁸ del National Institute of Health de Bethesda basándose en la capacidad de los linfocitos para reconocer y destruir las células neoplásicas y en que los niveles de tales linfocitos son insuficientes en los individuos portadores de tumores, aisló mediante leucoforesis de sangre periférica gran número de estos linfocitos. Posteriormente los cultivó in vitro durante varios días en presencia de IL2. Esto convirtió a los linfocitos en células Killer activadas por la linfoquina o células LAK, capaces de destruir las células tumorales. Seguidamente las inyectó a pacientes junto con grandes dosis de IL2 recombinante obtenida mediante técnicas de ingeniería genética. Con esta terapia se obtuvieron resultados muy prometedores en carcinomas renales y en melanomas malignos.

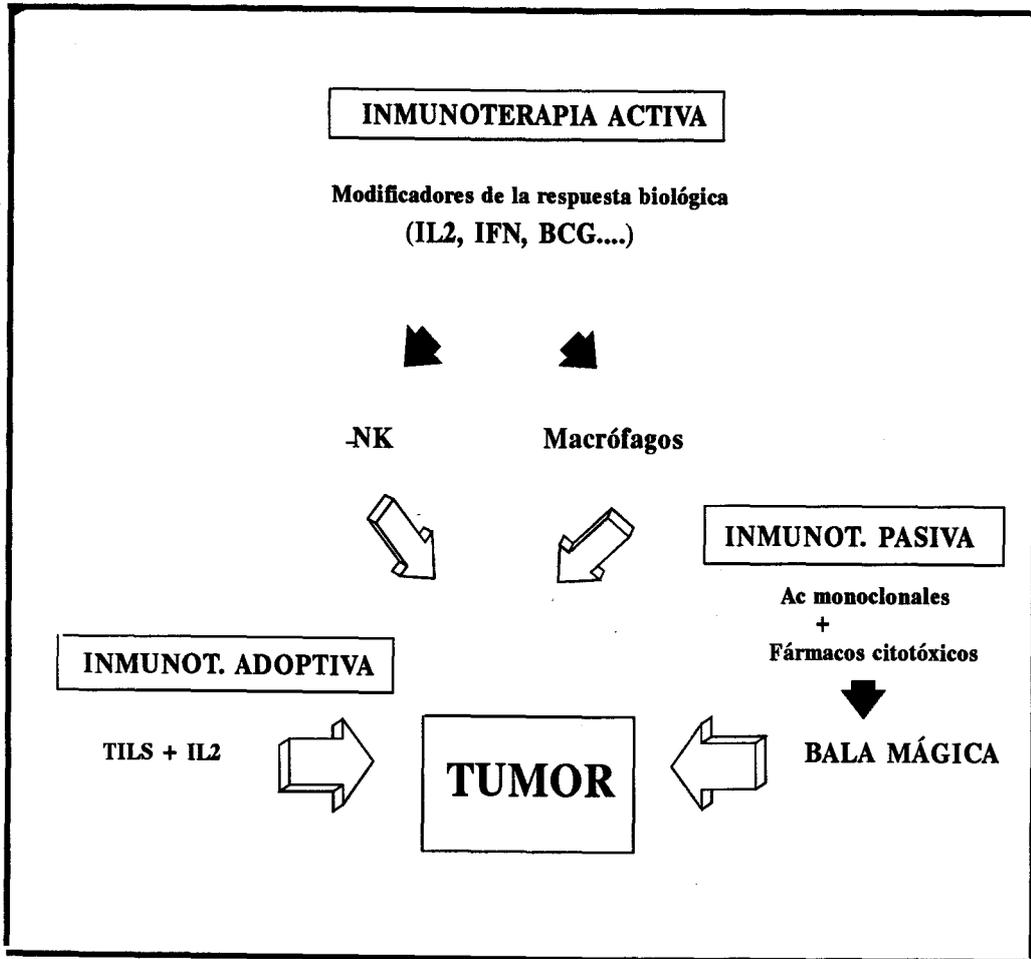
Posteriormente se aislaron linfocitos infiltrantes de tumores o TILs en lugar de linfocitos periféricos y desarrollando la misma técnica obtuvieron remisiones totales parciales en un 20% de pacientes con estos mismos tipos de carcinomas.

Actualmente se están investigando nuevas técnicas de terapia genética contra el cáncer. Las células tumorales extraídas de un paciente con cáncer, se transforman "in vitro" en potenciales "vacunas" al introducir en ellas un gen extra para la IL2 o para alguno de los factores activadores de los macrófagos o para antígenos de histocompatibilidad y posteriormente son reintroducidas en el paciente para estimular un rechazo inmunológico del tumor¹⁶⁶.

Aunque actualmente el problema consiste en que el sistema inmunológico no sabe reconocer el tumor como algo "extraño", es posible que la manipulación genética de las células neoplásicas quizás lo consiga.

Tipo de BRM	Ejemplos	Efecto principal
Productos bacterianos	BCG, C.parvum, muramil-dipeptido dimicolato-trehalasa	Activación de macrófagos y NK
Moléculas sintéticas	Copolímero pirano MVE, poli-I:C, pirimidinas	Inducción del interferón
Citoquinas	Interferones, IL-2, TNF	Activación de macrófagos y NK
Hormonas	Timosina,timulina, timopoyetina	Modulación de la función de las células T

TABLA 1.5.1: Modificadores de la respuesta biológica



ESQUEMA 1.5.1: INMUNOTERAPIA

II.HIPOTESIS DE TRABAJO

HIPOTESIS DE TRABAJO

En el transcurso de los últimos años ha habido un gran interés para afrontar la problemática del cáncer desde el punto de vista inmunológico, esto es, del estudio de los mecanismos de defensa del organismo frente a las células cancerosas.

A los inmunólogos les gusta pensar que la conquista del cáncer está en sus manos, sin embargo, debe decirse que por el momento tal conquista no está garantizada.

Sabemos que muchos tumores humanos expresan antígenos de superficie y que algunos de éstos son capaces de inducir una respuesta inmunológica en el paciente, tanto en el ámbito local como en el ámbito sistémico; que el cáncer asocia un estado de inmunodeficiencia y, finalmente, que existen en la actualidad posibilidades terapéuticas para modular la respuesta inmunitaria.

Basándonos en estas premisas, hemos querido estudiar bajo un aspecto inmunológico los dos tipos de neoplasias ginecológicas más frecuentes: el carcinoma epidermoide del cuello uterino y el adenocarcinoma de endometrio en estadios precoces, es decir, cuando en teoría el sistema inmunitario puede ofrecer resistencia al desarrollo tumoral.

Para ello hemos investigado :

A) En primer lugar, la expresión antigénica de estas neoplasias bajo dos puntos de vista :

HIPOTESIS DE TRABAJO

- En el ámbito sistémico, mediante determinaciones séricas de diversos antígenos asociados a tumores .

- En el ámbito local, mediante la expresión de antígenos HLA de clase I y de clase II.

B) En segundo lugar, para observar la respuesta inmunológica, hemos estudiado las concentraciones séricas de dos interleuquinas.

C) Finalmente, para valorar las repercusiones inmunológicas que para el paciente tiene el crecimiento de las células malignas, hemos explorado:

- La inmunidad celular *in vivo* mediante pruebas cutáneas de hipersensibilidad retardada

- La inmunidad humoral, mediante determinaciones de inmunoglobulinas y fracciones del sistema complemento.

III. MATERIAL Y METODO

1.- Pacientes :

Durante tres años (junio 90 - junio 93) hemos asistido en el Servicio de Obstetricia y Ginecología del Hospital Universitario Virgen de Valme, un total de 85 pacientes con el diagnóstico de carcinoma epidermoide de cuello uterino y adenocarcinoma de endometrio, en estadios tempranos (0 y I , F.I.G.O.).

A todas se les ofreció participar en el ensayo que planteamos, aceptando voluntariamente 59 de ellas, seis abandonaron el estudio en los primeros meses y las 53 restantes (31 neoplasias cervicales y 22 endometriales) lo completaron.

De estas 53 pacientes, 11 han sido controladas durante tres años, 12 durante dos años y 30 durante un año, con una media de seguimiento de 20 meses (tablas 3.1 y 3.2).

Como grupo control, seleccionamos 10 pacientes con patología ginecológica benigna y le aplicamos el mismo protocolo de estudio experimental. Para el análisis de la expresión de antígenos HLA de clase I y de clase II, elegimos 10 cortes histológicos de cérvix y 10 de endometrio sin patología.

MATERIAL Y METODO

Nuestros criterios para la inclusión de pacientes en el grupo de estudio fueron dos: diagnóstico anatomopatológico de carcinoma escamoso cervical o adenocarcinoma de endometrio y, estadio 0 ó estadio I de la enfermedad segun la clasificación de la F.I.G.O. de 1988. (TABLAS 3.3 y 3.4).

	CA CERVIX	CA ENDOMETRIO
ESTADIO 0	12	3
ESTADIO I	19	19
TOTAL	31	22

TABLA 3.1.-Distribución de las pacientes según tipo y estadio de la neoplasia

	PRIMER AÑO		SEGUNDO AÑO		TERCER AÑO	
	N	%	N	%	N	%
CA DE CERVIX	6	11,3	8	15,1	17	32,1
CA ENDOMETRIO	6	11,3	4	7,6	12	22,6
TOTAL	12	22,6	12	22,7	19	54,7

TABLA 3.2.- Distribución de las pacientes durante el tiempo del estudio

ESTADIO 0: Carcinoma "in situ", carcinoma intraepitelial (CIN III).

ESTADIO I : La lesión tumoral está limitada estrictamente al cuello.

Ia: Carcinomas preclínicos, solo se diagnostican mediante microscopio.

Ia1: Evidencia microscópica mínima de invasión del estroma.

Ia2: Lesiones detectadas microscópicamente que pueden medirse.

La profundidad de la invasión no puede sobrepasar los 5 mm.

La extensión horizontal no debe sobrepasar los 7 mm.

Lesiones mayores tienen que estadiarse como un E. Ib

Ib: Lesiones mayores que en el E. Ia2 vistas clínicamente o no.

Espacios endolinfáticos o endovenosos no tienen que alterar el estadiaje pero tienen que ser especificados para determinar si afectarán decisiones en un futuro tratamiento.

TABLA 3.3: Clasificación del Carcinoma de Cérnix (FIGO 1988)

ESTADIO 0: Hiperplasia endometrial atípica, carcinoma "in situ". Hallazgos sospechosos de malignidad

ESTADIO Ia: (G 1,2,3): Tumor limitado al endometrio.

Ib: (G 1,2,3): Invasión de menos de la 1/2 del miometrio.

Ic: (G 1,2,3): Invasión de más de la 1/2 del miometrio.

TABLA 3.4 : Clasificación del carcinoma de endometrio

2.-METODOLOGIA:

Protocolo de estudio:

A cada paciente incluida en el programa, la hemos estudiado bajo dos aspectos: clínico y experimental.

Bajo el punto de vista clínico, el seguimiento lo hemos efectuado antes del tratamiento y posteriormente cada tres meses durante el primer año y cada 6 durante el resto del ensayo.

Para el estudio experimental se realizó una extracción sanguínea de cada pacientes antes de aplicarle la terapéutica y otra al completar cada año de seguimiento. Las muestras fueron centrifugadas a 3.000 R.P.M durante 3 minutos y después de separado el suero, éste fué conservado a -70°C hasta que fueron recopilados todos los casos del estudio.

Realizamos finalmente el examen comparativo de los resultados en las distintas fases del estudio, así como entre ambos tipos de carcinoma.

2.1.-Estudio clínico:

Pacientes con carcinoma de cérvix :

Evaluamos aspectos epidemiológicos, clínicos, diagnósticos, analíticos y terapéuticos.

Factores epidemiológicos:

Los factores epidemiológicos fueron recogidos en la primera visita.

En las pacientes con carcinoma de cervix hemos considerado los siguientes datos:

- edad
- paridad
- edad de la menarquia
- edad de comienzo de las relaciones sexuales
- antecedentes de infección genital
- tabaquismo
- método anticonceptivo
- otro tipo de enfermedades asociadas

Parámetros clínicos:

En cada visita efectuada por las pacientes en estudio, hemos valorado los datos clínicos y exploratorios que a continuación se detallan:

- metrorragia:
- leucorrea
- algias pélvicas
- síntomas digestivos
- síntomas renales
- síntomas respiratorios
- exploración genital
- exploración mamaria

Pruebas diagnósticas

Previamente al tratamiento, en las pacientes con carcinoma cervical realizamos:

- citología
- colposcopia
- biopsia dirigida
- legrado endocervical
- ecografía
- radiografía de tórax
- urografía intravenosa (en casos de sospecha de ca invasor)

En los sucesivos controles después del tratamiento pacientes con carcinoma de cervix en estadio 0:

- Citología (triple toma)
- Colposcopia y eventual biopsia cervical

En los casos de carcinoma invasor:

- Citología vaginal
- Ecografía pelvico-abdominal (cada 6 meses el 1º año y posteriormente anual)
- Urografía intravenosa anual
- Radiografía de tórax anual

Pruebas analíticas:

- Hemograma completo: Hb, Hcto, leucocitos, linfocitos y plaquetas
- Bioquímica: glucemia, urea-, creatinina, ac.úrico, GOT, GPT, Na, K y fosfatasa alcalina.
- Orina: sedimento, proteínas y glucosuria.

Procedimiento terapéutico:

- Quirúrgico:**
- conización con Laser CO2
 - conización con bisturí frío

-histerectomía simple

-histerectomía con anexectomía bilateral con o sin limpieza ganglionar

-histerectomía radical según técnica de Wertheim-Meigs

Radioterápico : -radioterapia externa con acelerador de electrones

-braquiterapia con Cs ¹³⁷

Pacientes con carcinoma de endometrio :

Factores epidemiológicos:

-edad

-paridad

-edad de la menarquia

-edad de la menopausia

-enfermedades mamarias

-antecedentes de: diabetes

obesidad

hipertensión

medicación hormonal

enfermedades hepato-biliares

radioterapia.

Parámetros clínicos:

En todas las visitas efectuadas por las pacientes en estudio, se valoraron los datos clínicos y exploratorios que a continuación se detallan:

- metrorragia:
- leucorrea
- algias pélvicas
- síntomas digestivos
- síntomas renales
- síntomas respiratorios
- exploración genital
- exploración mamaria

Pruebas diagnósticas :

Previamente al tratamiento, realizamos:

- citología triple toma
- toma endometrial
- microlegrado
- legrado fraccionado

-ecografía pelvico-abdominal

-urografía intravenosa

-radiografía de tórax

En las revisiones posteriores a la terapéutica:

-citología vaginal

-ecografía pélvico abdominal(cada 6 meses el 1º año y posteriormente anual)

-urografía intravenosa anual

-radiografía de tórax anual

-mamografía anual

Pruebas analíticas :

-Hemograma completo: Hb, Hcto, leucocitos, linfocitos y plaquetas

-Bioquímica: glucemia, urea, creatinina, ac.úrico, GOT, GPT, Na, K y fosfatasa alcalina.

-Orina: sedimento, proteínas y glucosuria.

Procedimiento terapéutico :

Quirúrgico: -histerectomía simple

-histerectomia con anexectomia bilateral y colpectomía parcial con o sin
limpieza ganglionar

-histerectomia radical según técnica de Wertheim-Meigs

Médico:-En el carcinoma endometrial: progestágenos (acetato de medroxiprogesterona)

Radioterápico : -radioterapia externa con acelerador de electrones

-braquiterapia con Cs ¹³⁷

2.2.-ESTUDIO EXPERIMENTAL:

En el estudio experimental investigamos la expresión antigénica de estas neoplasias en el ámbito sistémico, mediante las determinaciones séricas de los niveles de **Ca-125**, **CEA** y el **SCC** o antígeno del carcinoma escamoso y, en el ámbito local, mediante la expresión de antígenos **HLA de clase I y de clase II** en el tejido tumoral, obtenido a través del material de biopsia de las pacientes seleccionadas.

Para observar la respuesta inmunológica, hemos estudiado las concentraciones séricas de dos interleuquinas: la **INTERLEUQUINA 1- β (IL1- β)** y el **FACTOR DE NECROSIS TUMORAL- α (TNF- α)**, antes y después de haber recibido el tratamiento.

Por último, para evaluar las repercusiones inmunológicas que para el paciente tienen estas neoplasias, hemos explorado la inmunidad humoral, valorando los niveles de inmunoglobulinas **IgA, IgM, IgG**, y de las fracciones **C3 y C4** del complemento y, la inmunidad celular *in vivo* mediante pruebas cutáneas de hipersensibilidad retardada aplicando el **MULTITEST**, previamente y al año de la aplicación terapéutica.

2.2.1.-Determinación de los niveles de CEA:

La cuantificación del CEA en suero se ha realizado en placas de microtitulación mediante un inmunoensayo en fase sólida (DELFLIA CEA^R, Kabi Pharmacia S.A.); basada en la técnica de sandwich directa en la cual, dos anticuerpos monoclonales (derivados del ratón) son dirigidos contra dos determinantes antigénicos distintos en la molécula CEA. Standards, controles y muestras de pacientes que contienen CEA reaccionaran con los anticuerpos monoclonales inmovilizados en el fondo y superficie interna del pocillo de la placa. Posteriormente, un segundo anticuerpo marcado con europium reaccionará con el complejo de CEA-AC. monoclonal.

Una solución intensificadora disociará los iones de europium de los anticuerpos marcados en la solución, donde formarán quelatos con los componentes de la solución intensificadora. La fluorescencia de cada muestra es proporcional a la concentración de CEA.

Procedimiento de ensayo:

1.-Aspirar el buffer utilizando un lavador automático (Automatic washer-Delfia Platewash prod.nº 1296-024) que hay en los pocillos.

2.-Añadir 25 µl de 6 standards por duplicado, controles y muestras

3.-Dispensar 200 µl de buffer (Tris-clorhídrico pH 7,8).

MATERIAL Y METODO

4.-Incubar durante 3 horas agitando (Automatic shaker-Delfia Plate-shake) .Antes de que transcurra la totalidad de este tiempo, se prepara la dilución de trazador con arreglo al número de tiras empleado en el ensayo.

5.-Lavar dos veces cada pocillo con soluciones de lavado (Tween 20).

6.-Añadir 200 μ l de trazador diluido.

7.-Incubar durante una hora a temperatura ambiente en un agitador horizontal (Automatic shaker-Delfia Plateshake).

8.-Lavar cada pocillo 4 veces.

9.-Añadir 200 μ l de solución intensificadora.

10.-Leer fluorescencia en un fluorímetro con lectura a tiempo de resolución.

Cálculos de los resultados:

Los resultados de muestras y controles se han obtenido mediante un programa de reducción de datos a partir de las concentraciones de los standares (FiaCalc).

2.2.2-Determinación de los niveles de Ca-125:

La cuantificación del Ca-125 se lleva a cabo mediante un ELISA (técnica sandwich en un paso con tecnología de estreptavidina) adaptada a un autoanalizador ES-600 de Boehringer Mannheim.

Procedimiento de ensayo:

- 1.-Pipetear 0,1 ml de standards,control y muestras .
- 2.-Pipetear 1 ml de una solución compuesta por:biotina unida a anticuerpo monoclonal específico en buffer fosfato y anticuerpo conjugado marcado con POD.
- 3.-Incubar durante 90 minutos.
- 4.-Aspirar y en el plazo de 5 minutos llenar los tubos 2 veces hasta el borde con Enzimun test (solución de lavado).
- 5.-En los 5 minutos siguientes aspirar completamente.
- 6.-En el plazo de 10 minutos, hacer el pipeteo siguiente:1 ml de solución sustrato (fosfato/citrato 100 mmoles/l, pH 4,4 H₂O₂ y perborato sódico 3,2 mmoles/l) cromógeno (ABTS^o 1,9 mmoles/l)
- 7.-Incubar 60 minutos sin agitar y evitando la luz solar directa
- 8.-Mezclar el contenido de los tubos, trasvasar a la cubeta de lectura y leer las extinciones

2.2.3.-Determinación de los niveles de SCC:

El antígeno SCC o antígeno asociado al carcinoma de células escamosas se cuantifica mediante el IMx SCC basado en la tecnología de inmunoensayo enzimático de micropartículas (MEIA).

Procedimiento de ensayo

El ensayo se realiza con el analizador IMx Abbot. Los reactivos IMx SCC se agregan a la celda de reacción en la secuencia siguiente:

1.-El conjunto sonda/electrodo dispensa la muestra, el tampón de dilución MEIA número 2 y las micropartículas recubiertas de anticuerpo contra el antígeno SCC a la cavidad de incubación de la celda de reacción.

2.-El antígeno SCC se une a las micropartículas recubiertas de anticuerpo contra el antígeno SCC para formar un complejo antígeno-anticuerpo.

3.-Una alícuota de la mezcla de reacción que contiene el complejo antígeno-anticuerpo unido a las micropartículas se transfiere a la matriz de fibra de vidrio. Las micropartículas se unen de manera irreversible a la matriz de fibra de vidrio.

4.-La matriz se lava para eliminar los materiales no unidos.

5.-Un segundo anticuerpo dirigido contra el antígeno SCC conjugado con fosfatasa alcalina se dispensa sobre la matriz y se une al complejo Ag-Ac.

6.-La matriz se lava para eliminar los materiales no unidos.

7.-El sustrato, fosfato de 4-metilumbeliferona, se agrega a la matriz y el producto fluorescente se mide por el sistema óptico MEIA

2.2.4.-Análisis de la expresión de antígenos HLA de clase II .-

Las biopsias de las pacientes en estudio junto con la de los 20 casos controles, previamente incluidas en parafina, fueron analizadas mediante técnica inmunohistoquímica en microscopía óptica, según la técnica de Sternberger

Técnica de Sternberger

1.-Poner los cortes en 3 baños de xileno de 15 minutos cada uno para su desparafinización y pasar por los alcoholes de graduación descendente hasta llevar al agua.

2.-Proceder a la inhibición de la peroxidasa endógena y pseudoperoxidasa tratando con peróxido de hidrógeno al 3% durante 30 minutos a temperatura ambiente.

3.-Lavar con agua destilada.

4.-Cubrir los cortes con suero normal de cerdo al 10% en TBS (TBS-NSWS) durante 20 minutos.

5.-Quitar el exceso de TBS-NSWS, secar los portas excepto la zona del corte y

cubrir este con una o dos gotas del antisuero **ANTI-HUMAN HLA-R (DAKO-HLA-DR,CR3/43, monoclonal mouse)** a una dilución de 1/100.

6.-Incubar en placa de Petri húmeda, colocando los portas sobre varillas de vidrio, durante 60 minutos a temperatura ambiente.

7.-Al término de la incubación, se lavan los cortes con TBS(tampón Buffer Salino) durante 10 minutos. A continuación se vuelven a secar como en el paso 5º y se cubren con el anticuerpo **MONOCLONAL ANTIMOUSE (Boehringer Mannheim Immunodiagnostics)**, a una dilución de 1/100, en placa de Petri durante 30 minutos a temperatura ambiente.

8.-Nuevo lavado similar al realizado en el paso anterior y cubrir con la dilución elegida del complejo PaP (peroxidasa antiperoxidasa) a una dilución del 1/100 durante 30 minutos, en placa de Petri a temperatura ambiente.

9.-Al término de la incubación con el PaP, se lavan los cortes con el tampón TRIS en un vaso de Coplin, mientras se preparan los reactivos para la demostración de la actividad peroxidásica.

10.-Demostración de la actividad peroxidásica:

Revelado con diaminobencidina:se prepara una solución con 3mg de diaminobencidina,10 ml de amortiguador TRIS y una gota de peróxido de hidrógeno al 30%.

11.-El revelado debe hacerse bajo control microscópico en un microscopio con solo dos objetivos (panorámico y 10%),al que se le ha quitado el carro. En la platina del microscopio se coloca una placa de Petri con dos varillas de vidrio sobre las que se coloca el porta el cual se cubre con una o dos gotas del revelador , observando al microscopio la

aparición del color propio de la reacción .Se debe controlar el tiempo de inicio cuando se cubre el corte y el momento en que consideremos que el color de la reacción específica es suficientemente intenso.

12.-La reacción se para introduciendo los cortes en agua destilada donde se le dan varios lavados.

13.-Finalmente se contratiñen con hematoxilina y se deshidratan y montan en la forma habitual.

Para cada especimen fueron incluidos controles negativos,sin añadirles el anticuerpo primario o ANTI-HUMAN HLA-DR, y controles positivos usando cortes de amígdala humana.

2.2.5.-Análisis de la expresión de antígenos HLA de clase I:

El análisis de la expresión de antígenos HLA de clase I, se realizó en cortes del material de biopsia de las pacientes en estudio, incluido en parafina,mediante técnica de inmunohistoquímica en microscopía óptica,según técnica de Sternberger:

1.-Poner los cortes en tres baños de xileno de 15' cada uno para su desparafinización y pasar por los alcoholes descendentes hasta llevar al agua.

2.-Proceder a la inhibición de la peroxidasa endógena tratando con peróxido de hidrógeno al 3%, durante 30' a temperatura ambiente.

3.-Lavar con agua destilada.

4.-Cubrir los cortes con suero normal de cerdo durante 20'

5.-Quitar el exceso de TBS y secar los portas excepto la zona del corte y cubrir con una o dos gotas de antisuero β_2 -microglobulina (β_2 -microglobulin DAKO-immunoglobulins) a una dilución de 1/100.

6.-Incubar a temperatura ambiente durante una hora, en caja húmeda de Petri, colocando los portas sobre varillas de vidrio.

7.-Al término de la incubación se lavan los cortes con TBS durante 10' A continuación se vuelven a secar como en el paso 5º y se cubren con una o dos gotas de anticuerpo policlonal de conejo (anti-rabbit IgG-biotin Boehringer Mannheim) a una dilución de 1/100. Incubar a temperatura ambiente durante 30'.

8.-Nuevo lavado similar al realizado en el paso anterior y cubrir con el complejo PaP a una dilución del 1/100 durante 30' a temperatura ambiente.

9.-Al término de la incubación ,se lavan los cortes con TRIS en un vaso de Coplin mientras se preparan los reactivos para la demostración de la actividad peroxidásica.

10.-Se realiza el revelado con diaminobencidina en solución con TRIS y peróxido de hidrógeno, bajo control microscópico .

11.-La reacción se para introduciendo los cortes en agua destilada y finalmente se contratiñen con hematoxilina y se montan en la forma usual.

Como controles negativos en cada especimen se usaron cortes a los que se les aplicó la misma técnica pero sin añadirles el anticuerpo primario o β_2 microglobulina y como controles positivos amígdala humana

2.2.6.-Determinacion de los niveles de FNT- α e IL1- β

La cuantificación de estas citoquinas en suero se ha realizado mediante un enzimoimmunoensayo heterogeneo (ELISA), llevado a cabo en placas "microtiter" (FNT- α , e IL1- β EASIA, Medgenix diagnostic, Bruselas). Dicha técnica se basa en el empleo de varios anticuerpos monoclonales dirigidos, en cada caso, frente a distintos epitopos de las moléculas de FNT- α e IL1- β . Uno de estos anticuerpos (AC de captura) se encuentra absorbido al fondo y superficie interna del pocillo de la placa. Esta técnica no requiere ningún proceso de extracción de la muestra. El procedimiento de ensayo para cada citoquina es el siguiente:

Procedimiento de ensayo para el FNT- α

- 1.-Colocar 200 μ l de cada uno de los calibradores (por duplicado), controles y muestras en los pocillos correspondientes.
- 2.-Dispensar 50 μ l de bufer de incubación (tris maleato con albúmina sérica bovina y conservantes) en todos los pocillos.
- 3.-Incubar la placa durante 2 horas a temperatura ambiente sobre un agitador horizontal (EASIA) a 700 \pm 100rpm.
- 4.-Lavar con solución de Tween 20 al 20%, haciendo 3 ciclos de dispensado y aspirado.

MATERIAL Y METODO

5.-Añadir 100 μ l.de calibrador 0 a todos los pocillos.

6.-Dispensar 50 μ l del anticuerpo anti-FNT- α conjugado con peroxidasa de rábano picante (HRP).

7.-Incubar durante 2 horas a temperatura ambiente sobre un agitador a 700 ± 100 rpm.

8.-Lavar la placa siguiendo el mismo procedimiento que la vez anterior.

9.-Añadir 200 μ l de la solución de revelado recién preparada [tetrametilbencidina (TMB) en tampón acetato/citrato con peróxido de hidrogeno], dentro de los 15 minutos que siguen al paso de lavado.

10.-Incubar la placa durante 30 minutos a temperatura ambiente agitándola continuamente a $700 \pm$ rpm, evitando la exposición directa a la luz del sol.

11.-Dispensar 50 μ l de la solución de parada (SO_4H_2 1.8N).

12.-Leer las absorbancias dentro de una hora y calcular los resultados como se describe más adelante.

Procedimiento de ensayo para la IL1- β .

- 1.-Dispensar 200 μ l.de cada uno de los calibradores (por duplicado),controles y muestras, en los pocillos correspondientes.
- 2.-Añadir 50 μ l de anticuerpo anti-IL1- β conjugado con HRP a todos los pocillos.
- 3.-Incubar durante 2 horas a temperatura ambiente sobre un agitador horizontal a 700 \pm rpm.
- 4.-Lavar la placa con solución de Tween 20 al 20%, haciendo 3 ciclos de dispensado y aspirado.
- 5.-Añadir 200 μ l de la solución de revelado (TMB en tampón acetato/citrato con peróxido de hidrogeno), dentro de los 15 minutos que siguen al paso de lavado.
- 6.-Incubar la placa durante 15 minutos en las mismas condiciones que en el paso 3 evitando la exposición directa a la luz del sol.
- 7.-Dispensar 50 μ l de la solución de parada (SO₄H₂ 1.8N).
- 8.-Leer las absorbancias dentro de las 3 horas siguientes y calcular las concentraciones correspondientes como se describe más adelante.

Procedimiento de lectura:

La intensidad del color desarrollado se cuantificó en un lector automático que utiliza una reducción de datos policromatica (Vmax EASIA reader,Medgenix,Belgica). La placa es leida en primer lugar a 450 nm,y posteriormente a 490 nm para el caso de que

hubiera absorbancias superiores a 1.5 Unidades de densidad óptica; el filtro de referencia utilizado es de 630 nm. Se utilizó una función de 4 parámetros logísticos para construir la curva de calibración y las concentraciones de las muestras se determinaron por interpolación sobre dicha curva.

Evaluación del método de ELISA:

Límite de detección: su estudio se ha llevado a cabo calculando la concentración correspondiente a la media de 20 replicados del calibrador 0 más 2 desviaciones standar. Así mismo, se han practicado diluciones seriadas de un estándar conocido con el estándar 0, hasta una concentración próxima al límite de detección establecido por la casa comercial.

En las instrucciones del fabricante viene especificado un limite de detección de 3 pg/ml para el FNT alfa y de 2 pg/ml para la IL1 beta.

B.7-Determinaciones de los niveles de IgG, IgM, IgA, C3 y C4:

La determinación cuantitativa de las inmunoglobulinas IgG, IgM, IgA, y del C3 y C4, se ha efectuado mediante antiseros específicos frente a proteínas humanas con un nefelómetro terminal Behring.

Las proteínas contenidas en el suero humano forman, por medio de una reacción

hubiera absorbancias superiores a 1.5 Unidades de densidad óptica; el filtro de referencia utilizado es de 630 nm. Se utilizó una función de 4 parámetros logísticos para construir la curva de calibración y las concentraciones de las muestras se determinaron por interpolación sobre dicha curva.

Evaluación del método de ELISA:

Límite de detección: su estudio se ha llevado a cabo calculando la concentración correspondiente a la media de 20 replicados del calibrador 0 más 2 desviaciones standar. Así mismo, se han practicado diluciones seriadas de un estándar conocido con el estándar 0, hasta una concentración próxima al límite de detección establecido por la casa comercial.

En las instrucciones del fabricante viene especificado un limite de detección de 3 pg/ml para el FNT alfa y de 2 pg/ml para la IL1 beta.

2.2.7-Determinaciones de los niveles de IgG, IgM, IgA, C3 y C4:

La determinación cuantitativa de las inmunoglobulinas IgG, IgM, IgA, y del C3 y C4, se ha efectuado mediante antisueros específicos frente a proteínas humanas con un nefelómetro terminal Behring.

Las proteínas contenidas en el suero humano forman, por medio de una reacción

inmunoquímica con anticuerpos específicos, inmunocomplejos los cuales pueden dispersar un rayo de luz incidente. La intensidad de la luz dispersada es proporcional a la concentración de la correspondiente inmunoglobulina en la muestra. La valoración se realiza comparando con un estándar de concentración conocida.

2.2.8.-Exploración "in vivo" de la inmunidad mediada por células:

El estudio de la inmunidad mediada por células "in vivo", se realizó mediante pruebas cutáneas de hipersensibilidad retardada. Empleamos el método **MULTITEST IMC** del Instituto **MERIEUX (RHÔNE-POULENC FARMA S.A.E.)**. Se trata de un procedimiento de multipuntura constituido por un aplicador de resina acrílica, con 8 cabezas cargadas con 7 antígenos distintos y un control de glicerina.

Cada cabeza está numerada del 1 al 8 conteniendo los siguientes antígenos :

- 1.-Tétanos.....550.000 Unidades Mérieux/ml
- 2.-Difteria.....1.100.000 Unidades Mérieux/ml
- 3.-Estreptococo (grupo C).....2.000 Unidades Mérieux/ml
- 4.-Tuberculina.....300.000 Unidades Mérieux/ml
- 5.-Control (glicerina).....70% p/v
- 6.-Cándida albicans.....2.999 Unidades Mérieux/ml
- 7.-Trichophyton mentagrophytes.....150 Unidades Mérieux/ml
- 8.-Proteus mirabilis.....150 Unidades Mérieux/ml

MATERIAL Y METODO

Aplicamos el MULTITEST en la cara anterior del brazo previamente desinfectado con alcohol, ejerciendo una presión firme y constante durante al menos 5", de manera que se visualicen claramente sobre la piel la marca de las 8 cabezas y posteriormente se delimitan graficamente (con bolígrafo o rotulador) el lugar donde se aplicó el test.

La lectura de los resultados la realizamos a las 48 horas de la aplicación. Medimos solamente la induración, no el eritema, con una regla de precisión milimétrica. Una reacción la consideramos positiva si el diametro medio en mm es igual o superior a 2 mm.

3.-Análisis estadístico

Para analizar las variables clínicas estudiadas dentro de los factores epidemiológicos (edad, paridad...) en nuestro protocolo, hemos realizado un método estadístico descriptivo. Para valorar el grado de significación estadística de las diferencias observadas entre las pacientes con carcinoma de cérvix y las pacientes con adenocarcinoma de endometrio, hemos aplicado la prueba de χ^2 . El nivel de significación estadístico establecido ha sido de 0,05.

En cuanto a las variables experimentales cuantitativas (CEA, Ca-125, SCC, TNF, IL1, Inmunoglobulinas y fracciones C3 y C4 del complemento) en los dos grupos de neoplasias (cérvix y endometrio) una vez estratificadas en las diferentes fases en que efectuamos el ensayo (antes del tratamiento, después del tratamiento y en el último control efectuado) y en los distintos estadios clínicos de la FIGO, hemos aplicado :

a) un método estadístico descriptivo calculando la media, la desviación estandar la máxima y la mínima de las concentraciones de estas variables.

b) un estudio de asociación utilizando el test no paramétrico de Mann-Whitney, debido a que los subconjuntos obtenidos de la estratificación de las variables no fueron homogéneos.

MATERIAL Y METODO

La hipótesis nula establecida fué la inexistencia de diferencias significativas al comparar las concentraciones de las variables de los distintos grupos. Se consideró significativo un valor de $p \leq 0,05$.

Para el estudio comparativo de las variables cualitativas del ensayo, es decir, expresión de antígenos HLA de clase I y II, y pruebas cutáneas de hipersensibilidad retardada, entre los dos tipos de neoplasias (cérnix y endometrio) antes y después del tratamiento, hemos utilizado el test de χ^2 y el test exacto de Fisher para tablas 2 x 2 estableciendo como nivel de significación estadística 0,05.

IV . RESULTADOS

1.-ESTUDIO CLINICO

1.1-Factores de interés epidemiológico

Edad :

La edad media de las pacientes con carcinoma de cérvix ha sido de 42,9 años y la de las pacientes con adenocarcinoma de endometrio ha sido de 64,3 años, existiendo diferencias estadísticamente significativas al comparar ambos grupos ($p < 0,05$) (TABLAS 4.1 y 4.2).

Paridad :

La media del número de hijos para el carcinoma de cervix ha sido de 3,2 y de 2,8 para el carcinoma de endometrio, no apreciándose diferencias significativas entre ambos tipos de neoplasias (TABLA 4.3).

Menarquia y Menopausia:

La edad media de la menarquia ha sido de 12,5 años para las pacientes con carcinoma de cuello y de 13,5 años para las pacientes con adenocarcinoma de endometrio, lo que representa diferencias significativas entre ambas ($p < 0,05$).

En cuanto a la edad de la menopausia en las pacientes con carcinoma de cérvix ha sido de 45,5 años y de 50,4 en las que padecen carcinoma endometrial presentando también entre ambas diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$).

Edad de comienzo de las relaciones sexuales :

La edad media de inicio de las relaciones sexuales en las pacientes con carcinoma de cérvix ha sido de $19,1 \pm 3,3$ años. Un 32,2% tuvieron su primer coito antes de los 20 años.

Antecedentes de infección genital :

Dentro del grupo de pacientes que padecen neoplasias cervicales uterinas en nuestro estudio, 11, es decir, un 35,48% han presentado infección por HPV.

Antecedentes de tabaquismo :

Otro de los factores epidemiológicos que hemos estudiado en los casos de carcinomas cervicales ha sido el tabaquismo. Un 25,8% de las pacientes de este grupo son fumadoras de más de 10 cigarrillos al día (GRAFICO 4.1).

Antecedentes anticonceptivos :

Es importante destacar que la mayoría de las pacientes de nuestro estudio con neoplasia cervical (64,4%) han sido diagnosticadas cuando estaban en etapa asintomática en la consulta de planificación familiar (48,3%) y en la consulta de obstetricia (16,1%), mediante controles citológicos rutinarios .

La distribución de las enfermas en cuanto al método anticonceptivo usado ha sido de un 45% para los anticonceptivos orales, un 35,4% para el coito interrumpido y un 22% para el DIU.

Antecedentes de otras enfermedades asociadas :

Dentro del grupo de pacientes con carcinoma de endometrio, hemos investigado una serie de antecedentes médicos que pueden asociarse con este tipo de neoplasia. Hemos observado que ninguna enferma de nuestro estudio había sido expuesta a radiaciones, ni tampoco presentaba patología mamaria.

Sin embargo, un 82,3% de estas enfermas son obesas, un 72,7% hipertensas, el 13,6% padecen diabetes en tratamiento y el 40,9% tenían antecedentes de colecistopatía. Solo una paciente había recibido terapia tiroidea por presentar bocio hipofuncionante (GRAF 4.2)

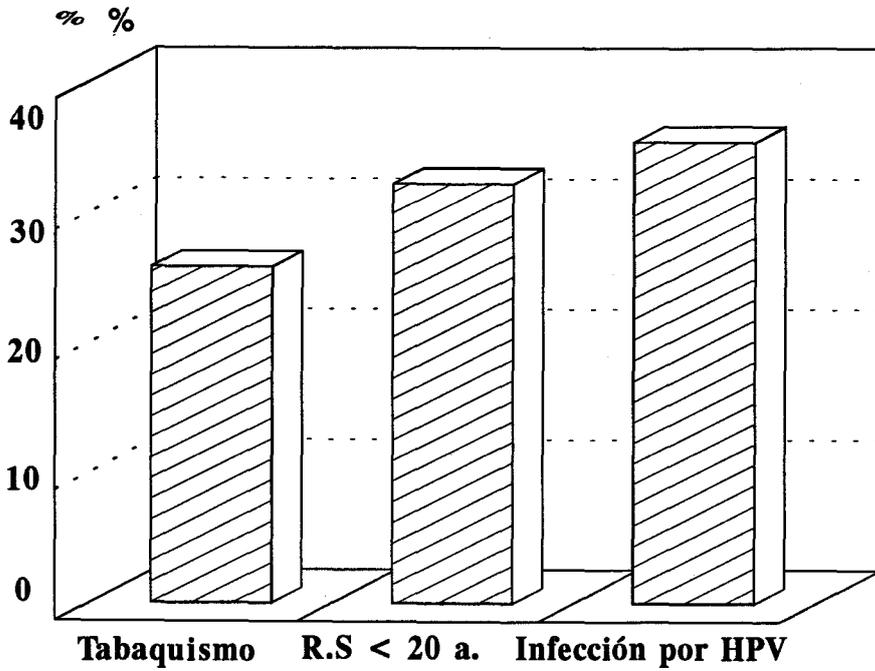
RESULTADOS**TABLA 4.1.-EDAD**

	MEDIA	DS	MIN	MAX
Ca de cérvix	42,9	11,8	28	80
Ca de endometrio	64,3	9,8	39	81

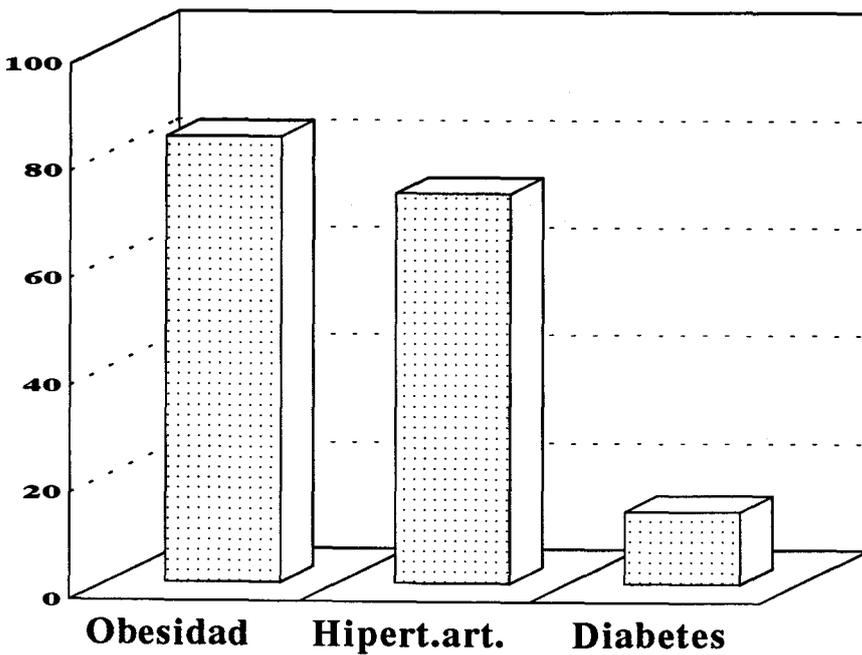
p<0,05

TABLA 4.2.-EDAD SEGUN ESTADIO

	ESTADIO 0	ESTADIO 1
Ca de cérvix	41,2	45,5
Ca de endometrio	49,3	66,6
	N.S	p <0,05



GRAF 4.1: Factores epidemiológicos del ca de cérvix



GRAF 4.2: Factores epidemiológicos del ca de endometrio

1.2.- Parámetros clínicos

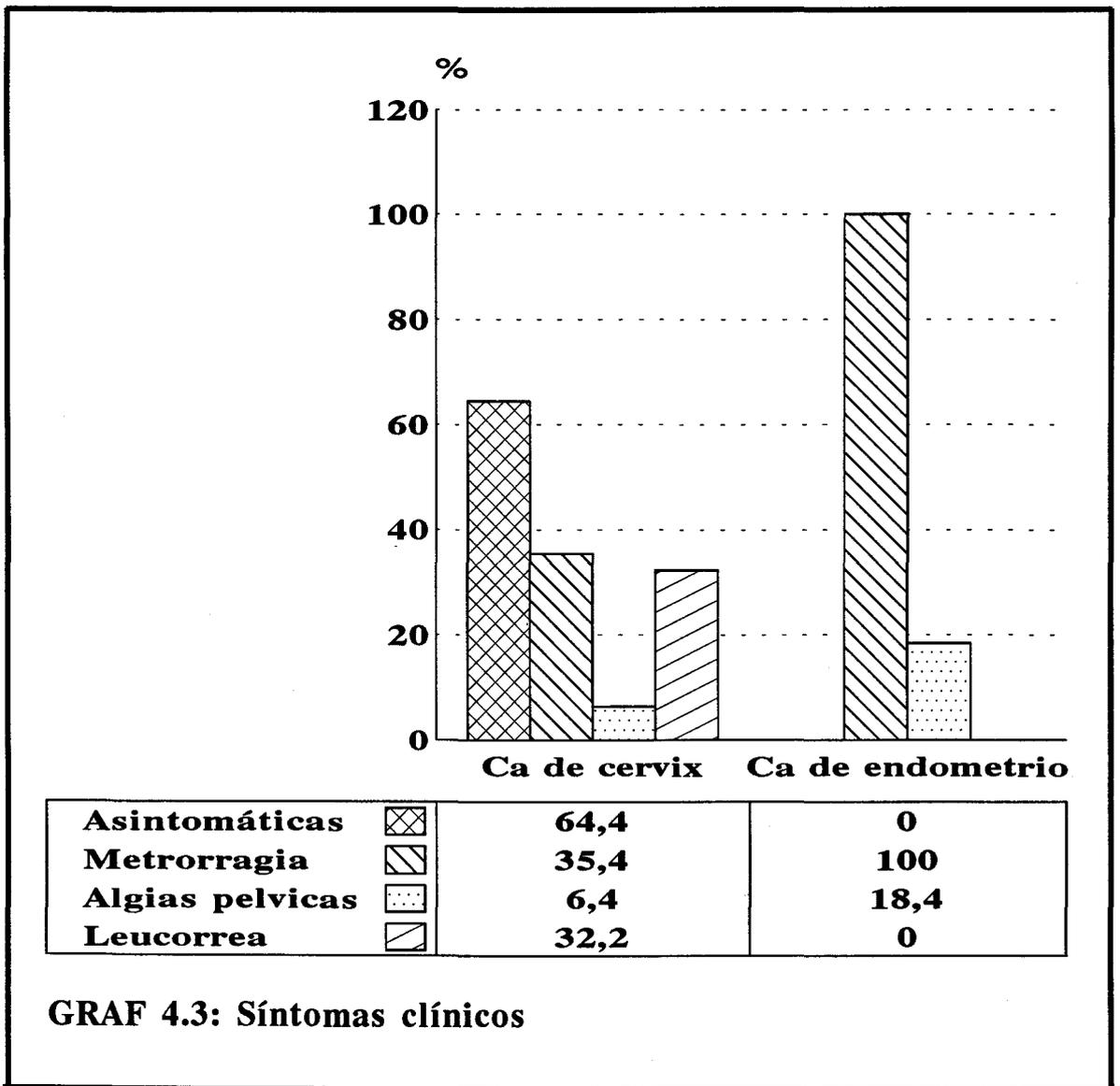
Pacientes con carcinoma de cervix :

En la primera visita efectuada antes del tratamiento, un 35,4% de las pacientes que padecen carcinoma cervical han presentado metrorragia, 32,2% leucorrea y solo un 6,4 se quejaba de molestias en hipogastrio. Ninguna ha presentado clínica digestiva, respiratoria o renal que hicieran sospechar enfermedad metastásica.

Todas las enfermas han permanecido asintomáticas en los sucesivos controles excepto una de las dos pacientes que han recidivado.

Pacientes con adenocarcinoma endometrial :

A diferencia de las pacientes con carcinoma cervical, el 100% de las enfermas con adenocarcinoma de endometrio han acudido a la consulta por presentar metrorragia que se ha acompañado de molestias abdominales en un 18,4% de los casos. Tampoco en este grupo de enfermas hemos evidenciado síntomas digestivos respiratorios o renales (GRAFICO 4.3).



GRAF 4.3: Síntomas clínicos

1.3.- Exploración clínica :

Pacientes con carcinoma de cervix :

Mediante la simple inspección del cuello uterino realizada con un espéculo, hemos descubierto una tumoración exofítica en el 16,1% de las pacientes y una tumoración endofítica en el 12,9%. En el resto de los casos hemos observado una mucosa macroscópicamente normal con zonas más o menos extensas de eritroplasia.

El tamaño uterino ha sido normal en el 90,3% de las enfermas y aumentado y de características miomatosas en el 6,4%. A una paciente le habían practicado anteriormente una histerectomía subtotal. En la exploración anexial solo una paciente ha presentado patología (un quiste unilateral de ovario típicamente benigno.)

No hemos observado ningun hallazgo patológico en la exploración mamaria en las enfermas de este grupo (TABLA 4.5).

En los controles posteriores al tratamiento, hemos podido constatar dos recidivas locales de la enfermedad (6,4%) con afectación parametrial en una de ellas.

Pacientes con carcinoma endometrial :

En la exploración cervical de las pacientes con carcinoma endometrial no hemos evidenciado patología de interés. Dos pacientes presentaban pólipos endocervicales.

En un 28,5% de las enfermas de este grupo hemos observado un útero aumentado de tamaño sin aspecto miomatoso. La exploración anexial fué siempre negativa . Tampoco hemos encontrado patología en el examen de las mamas de estas pacientes (TABLA 4.5).

En las exploraciones efectuadas a estas enfermas durante las visitas de control, hemos evidenciado signos de recidiva en cúpula vaginal en dos pacientes (9%).

	CA DE CERVIX	CA DE ENDOMETRIO
CUELLO Ectopia	83%	9,2%
T. exofítica	16,1%	
T. endofítica	12,9%	
UTERO Normal	90,3%	71,5%
Aumentado	6,4%	28,5%
ANEJOS Normales	96,8%	100%
Aumentados	3,2%	0%
MAMAS Normales	100%	100%

TABLA 4.5: Exploración clínica

1.4.- Pruebas complementarias .

Pacientes con carcinoma de cérvix

La citología ha sido positiva en un 100% de los casos, la colposcopia ha tenido un 16,1% de falsos negativos y la biopsia dirigida ha sido positiva en el 96,7% de nuestras pacientes, ya que hemos obtenido un falso negativo. Solamente a un 29% de las pacientes le hemos practicado legrado endocervical obteniendo un 22,2% de falsos negativos (GRAF4.4).

En los casos de sospecha de carcinoma invasivo , la exploración ecográfica pélvico-abdominal ha evidenciado signos de enfermedad neoplásica en el 15,7% de las enfermas de este grupo. No hemos observado hallazgos patológicos en el examen efectuado con los otros procedimientos utilizados para el estudio de extensión (Rx tórax, U.I.V y T.A.C).

En los controles del curso de la enfermedad , las dos pacientes con recurrencia de la neoplasia, han manifestado positividad en el estudio citológico siendo el resto de las exploraciones complementarias negativas. En los demás casos, todas las pruebas complementarias han sido negativas.

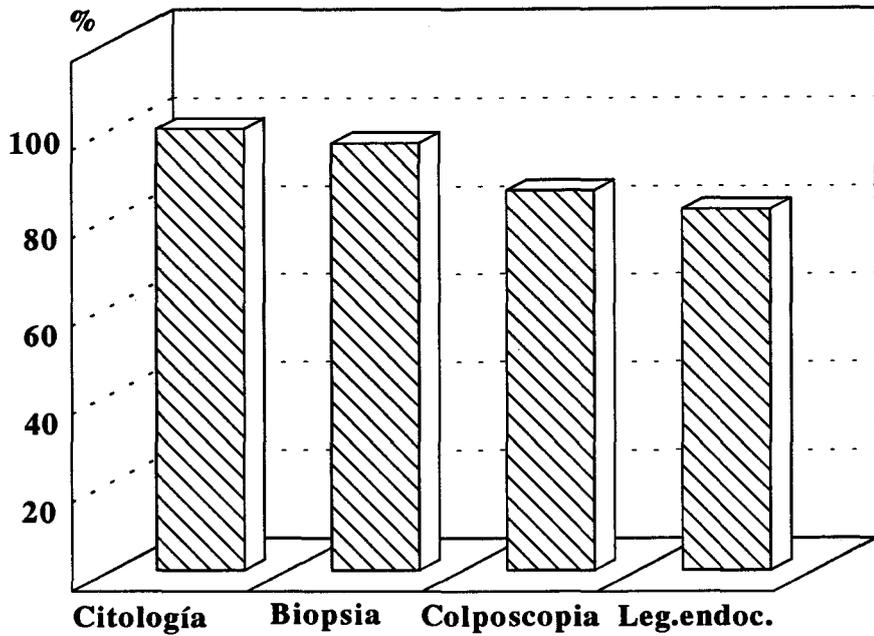
Pacientes con carcinoma endometrial.

La citología ha sido positiva solamente en el 8,3% de los casos y la toma de endometrio ha tenido un 50% de falsos negativos . Sin embargo, con el legrado fraccionado no hemos encontrado ningun falso positivo aunque en un caso el material obtenido no ha sido apto para el diagnostico.

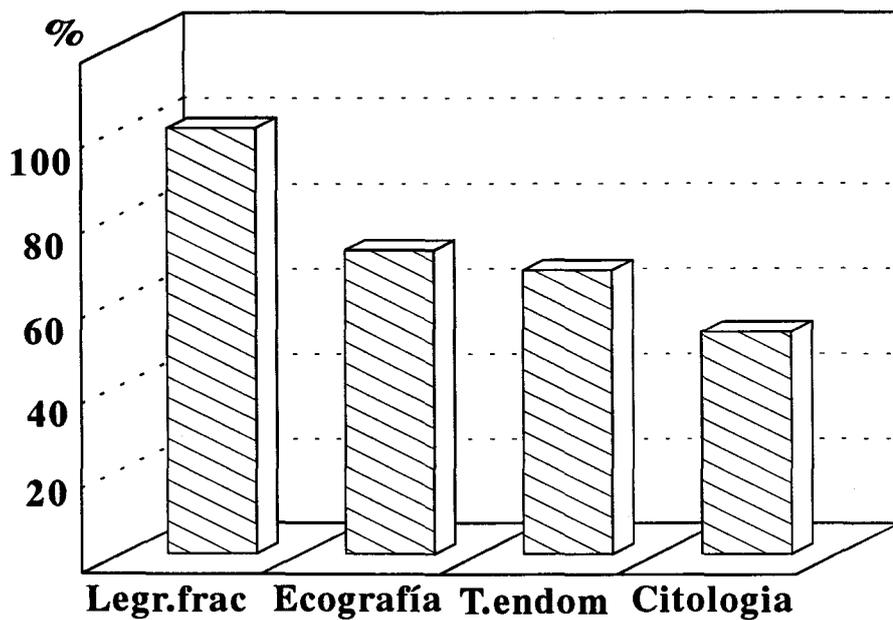
La ecografía, especialmente mediante la exploración con sonda vaginal está imponiendose como uno de los medios más útiles para el descubrimiento de la patología maligna del endometrio por su inocuidad y fiabilidad. Nosotros hemos obtenido un 63,6 % de resultados positivos (hay que reseñar que en los dos primeros años del estudio no disponíamos de sonda vaginal en nuestro Servicio) (GRAF 4. 5).

El estudio de extensión realizado mediante Rx tórax TAC y UIV ha sido inicialmente negativo en todos los casos del estudio.

Sin embargo, durante el periodo de control, hemos observado que las dos pacientes que han presentado recurrencia de la neoplasia, han mostrado citologías positivas y también el TAC, la ecografía pélvico-vaginal y la radiografía de tórax. han evidenciado imágenes sospechosas de metástasis.



GRAF 4.4: Sensibilidad de las pruebas diagnósticas en el ca cervical



GRAF.4.5: Sensibilidad de las pruebas diagnósticas en el ca endometrial

1.5.- Pruebas analíticas.

En los análisis rutinarios efectuados a todos las pacientes incluidas en el estudio, hemos observado como dato de interés, que un 5% de casos han manifestado leucopenia (menos de 4.8000 leucocitos/mm³) en la primera determinación efectuada antes de recibir cualquier tipo de terapéutica y que ha ascendido a un 19% en los controles posteriores al tratamiento, proporción que se ha mantenido hasta el final del estudio. Así mismo, inicialmente hemos observado linfopenia (porcentaje de linfocitos inferior al 19%) en un 11,3% de pacientes, aumentando a un 15,5% después del tratamiento y a un 18,3% en la última revisión efectuada aunque estas variaciones no han sido significativas (TABLA 4.6).

Todos los parámetros bioquímicos se han mantenido dentro de los límites normales excepto un 9,4% de pacientes que han evidenciado hiperglucemia secundaria a la diabetes que padecían. Una paciente con recidiva de carcinoma endometrial ha mantenido cifras anormalmente bajas de fosfatasa alcalina desde el comienzo del estudio.

TABLA 4.6: RESULTADOS ANALÍTICOS (SERIE BLANCA)

	LEUCOPENIA	LINFOPENIA
Determinaciones iniciales	5%	11,3%
Determinaciones postratamiento	19%	15,5%
Determinaciones finales	19%	18,5%
	N.S	N.S

1.6.- Tratamiento

Pacientes con carcinoma de cérvix

En las enfermas con neoplasia cervical en estadio 0, hemos realizado una conización en 14 de los 19 casos. El 50 % de estas conizaciones se ha efectuado mediante técnica con Laser de CO₂. Al 21,4% de estas pacientes le hemos practicado una histerectomía simple posterior por encontrarse los bordes de la pieza afectados por la neoplasia.

Entre las 12 pacientes con carcinoma de cérvix en estadio I, en el 75% de los casos hemos efectuado una histerectomía con anexectomía bilateral, colpectomía parcial y limpieza ganglionar. En el 25% de los casos restantes hemos realizado histerectomía radical según técnica de Wertheim-Meigs (GRAFICO 4.6).

Posteriormente la enfermas con neoplasia en estadio Ib (58 %) recibieron tratamiento radioterápico combinado (radioterapia externa con acelerador de electrones y braquiterapia con Cesio radioactivo) .

A lo largo de los tres años de estudio hemos observado dos recidivas. Una en un carcinoma in situ y otra en una paciente con carcinoma en estadio Ib .

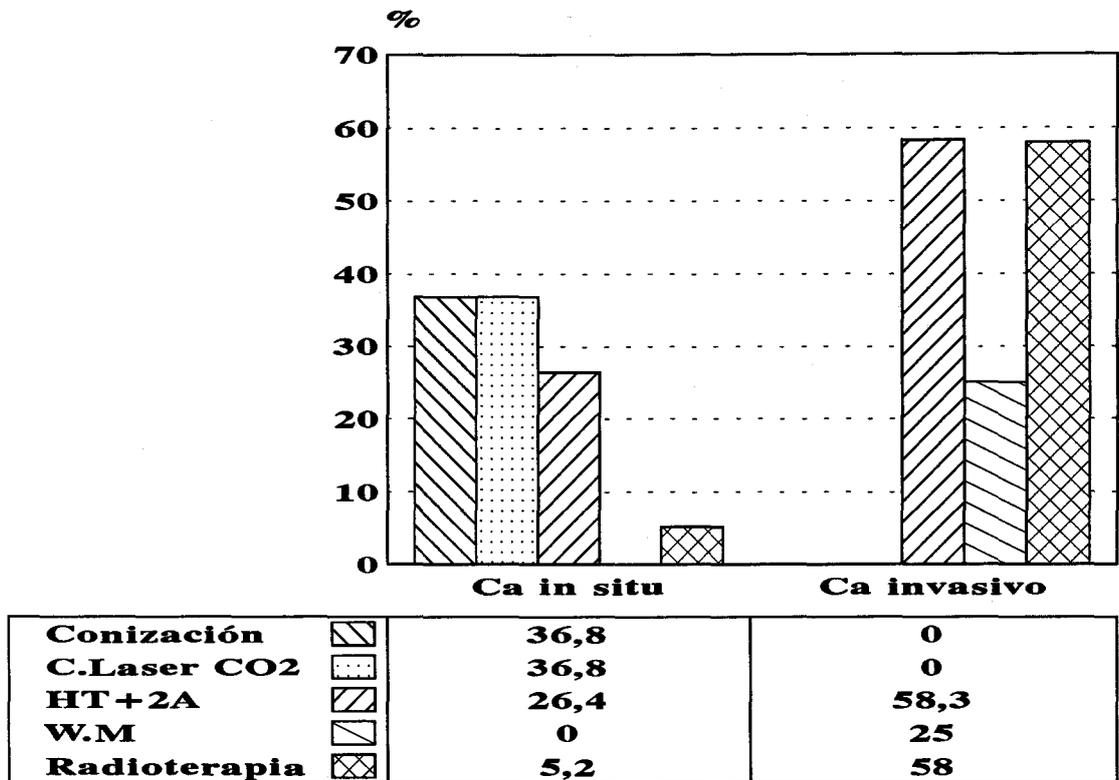
Pacientes con carcinoma de endometrio

Entre las pacientes con adenocarcinoma de endometrio hemos encontrado unicamente tres casos de neoplasia en estadio 0. Estas pacientes han sido tratadas exclusivamente, con histerectomia y anexectomía bilateral .

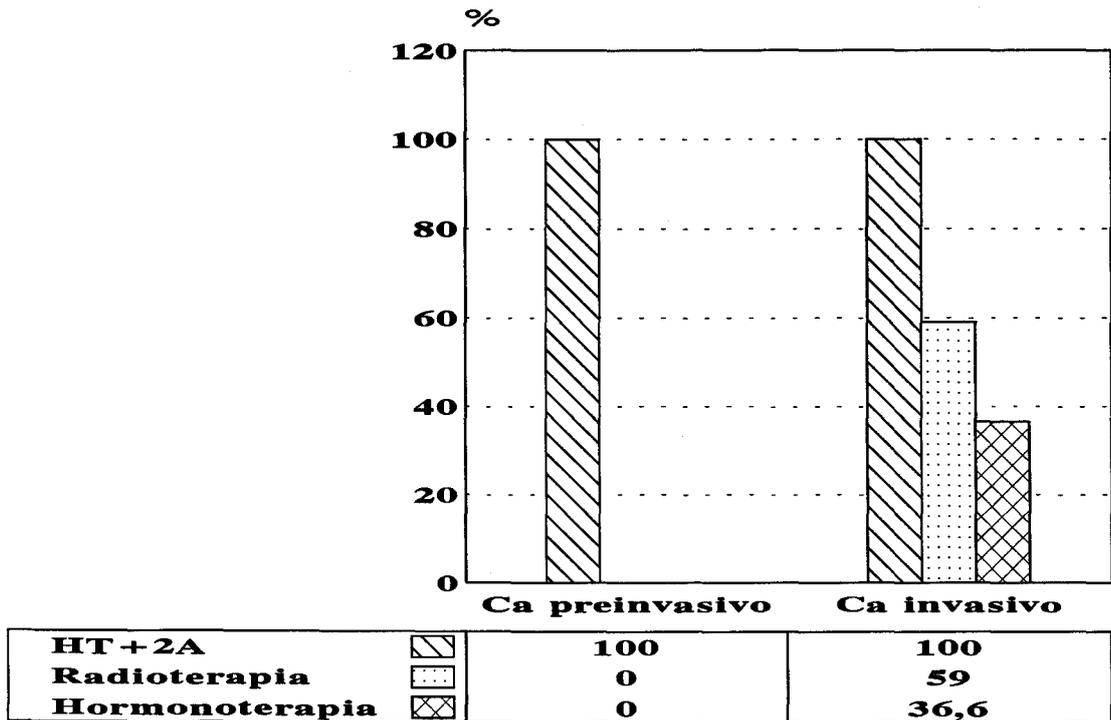
Las pacientes con carcinoma endometrial en estadio I han sido sometidas a tratamiento quirúrgico y posteriormente a las que presentaban invasión de más de la mitad del miometrio (59%) se les ha aplicado radioterapia externa mediante acelerador lineal de electrones combinada con braquiterapia con Cs ¹³⁷ (GRAFICO 4.7).

A un 36,6% de estas pacientes se les ha administrado también hormonoterapia con acetato de medroxiprogesterona durante un año a dosis un gramo semanal.

Durante el periodo de seguimiento hemos encontrado dos recidivas entre el primer y segundo año después del tratamiento. Ambas en las dos pacientes que presentaban neoplasias con un grado histológico de diferenciación de tipo 3.



Graf 6: Tratamiento en el Ca de Cérnix



Graf 7: Tratamiento en el Ca de Endometrio

2.-ESTUDIO EXPERIMENTAL

2.1.- Concentración de CEA

La cuantificación sérica de CEA obtenida mediante inmunoanálisis en fase sólida basada en la técnica de sandwich establece como valores normales de 0 a 5 ng/ml. Las determinaciones de CEA realizadas inicialmente, después de efectuado el tratamiento y en el último control, en los dos grupos estudiados (carcinoma epidermoide de cérvix y adenocarcinoma de endometrio) diferenciando las pacientes que se encontraban en estadio preinvasivo de las que se encontraban en estadio I, han mostrado los siguientes resultados: (FIGS 4.1, 4.2 y 4.3)

- Las concentraciones de CEA obtenidas en las pacientes con neoplasia cervical (tanto en estadio 0 como en estadio I), se han mantenido dentro de límites normales a lo largo de todo el estudio.

- Las pacientes con adenocarcinoma preinvasivo de endometrio, también han presentado valores normales de CEA tanto inicialmente como durante el tiempo de control.

- En cuatro casos (21%) de neoplasia endometrial en estadio I, hemos comprobado valores por encima de los límites normales antes de efectuar el tratamiento, pero estas cifras se han normalizado una vez que estas pacientes han sido tratadas .

Observando las concentraciones seriadas a lo largo del estudio en cada grupo de pacientes, no hemos constatado variaciones en los niveles de CEA, excepto en los adenocarcinomas invasivos de endometrio en los cuales se evidencia un descenso de los valores iniciales después de efectuar el tratamiento. (TABLAS 4.7 y 4.8)

A pesar de la normalidad de los resultados obtenidos, en el estudio estadístico realizado comparando las concentraciones de CEA entre los dos tipos histológicos de carcinoma, los dos estadios y los casos control en las distintas fases del ensayo, la hipótesis nula establecida, es decir, la inexistencia de diferencias entre los valores obtenidos en ambos grupos se rechazó al comparar (TABLA 4.9).

- Los títulos iniciales de las pacientes con carcinoma de cérvix en estadio preinvasivo e invasivo, observándose valores inferiores en las pacientes con carcinoma preinvasivo ($p < 0,05$)

- Las concentraciones de las enfermas con neoplasia cervical en estadio I obtenidas antes del tratamiento y el último control efectuado, presentando este grupo de pacientes concentraciones superiores antes de efectuado el tratamiento ($p < 0,05$).

- Los valores iniciales en los casos de adenocarcinoma de endometrio en estadio I y el grupo control, siendo menores los valores obtenidos en este último grupo ($p < 0,05$).

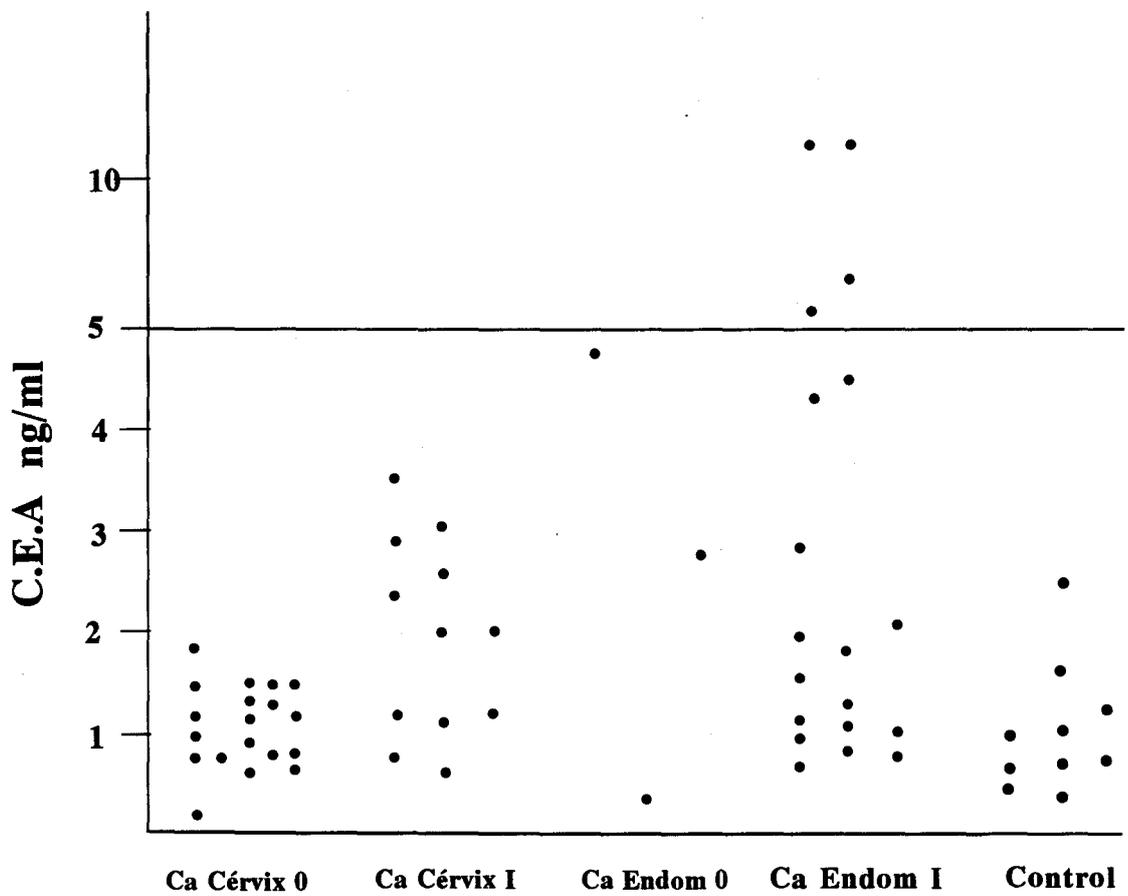


FIG 4.1: CONCENTRACION INICIAL DE CEA

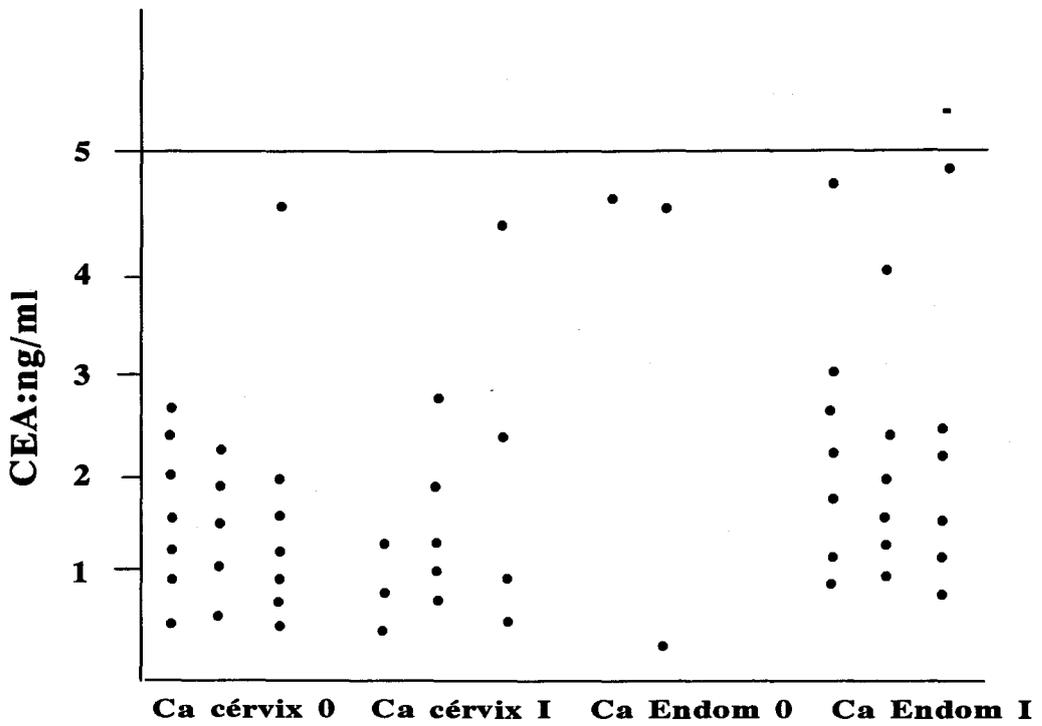


FIG 4.2: Concentración de CEA postratamiento

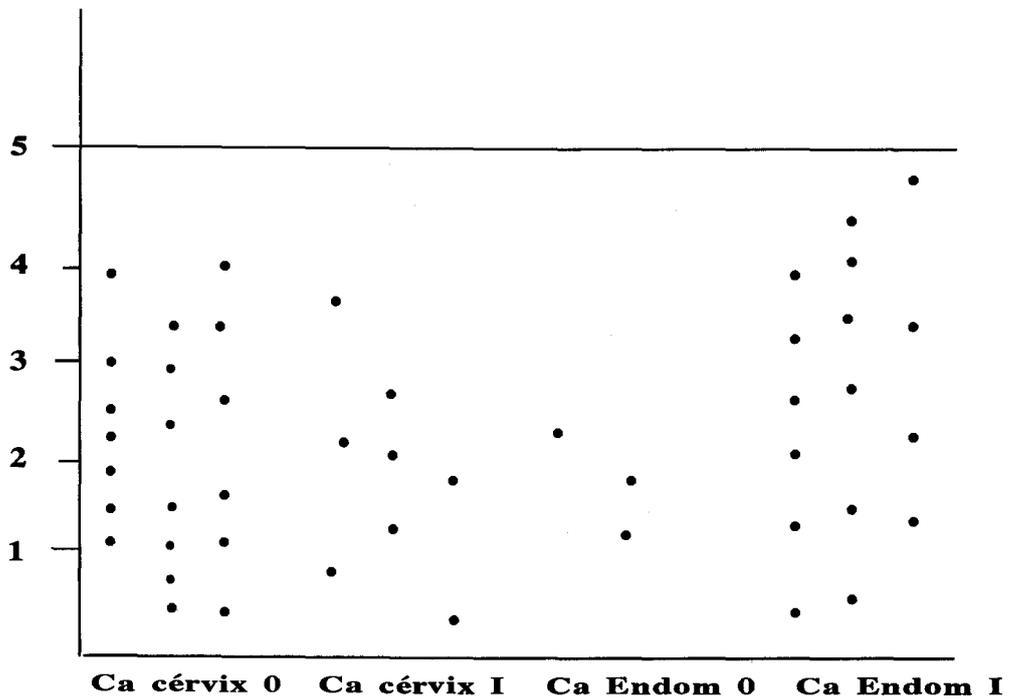


FIG 4.3: CONCENTRACION DE CEA EN EL U.C.

RESULTADOS**TABLA 4.7: CONCENTRACION DE CEA EN EL CARCINOMA DE CERVIX (ng/ml)**

		MEDIA	D.S	MIN	MAX
Estadío preinvasivo:	*Pre	1,06	0,38	0,27	1,93
	**Pos	1,15	0,57	0,30	2,54
	***U.C	1,04	0,68	0,10	2,72
Estadío invasivo:	Pre	1,90	0,99	0,61	3,59
	Pos	1,49	1,12	0,44	4,31
	U.C	1,04	0,68	0,10	2,72

Pre: previo al tratamiento; ** Pos: posterior al tratamiento;* U.C: último control*

TABLA 4.8: CONCENTRACION DE CEA EN EL CARCINOMA DE ENDOMETRIO

		MEDIA	D.S	MIN	MAX
Estadío preinvasivo:	*Pre	2,85	2,2	0,38	4,83
	**Pos	3,09	2,45	0,25	4,52
	***U.C	1,06	0,26	0,88	1,37
Estadío invasivo:	Pre	2,96	3,15	0,70	10,88
	Pos	1,98	1,28	0,59	4,95
	U.C	1,56	0,77	0,29	2,95

Pre: previo al tratamiento; ** Pos: posterior al tratamiento;* U.C: último control*

		Ca Cérvix 0			Ca Cérvix I			Ca Endomet 0			Ca Endomet I		
		* PRE	** POS	*** U.C.	PRE	POS	U.C.	PRE	POS	U.C.	PRE	POS	U.C.
Ca Cérvix 0	PRE			N.S									
	POS	N.S											
	U.C.		N.S										
Ca Cérvix I	PRE	p<0,05					p<0,05						
	POS		N.S		N.S								
	U.C.			N.S		N.S							
Ca endom 0	PRE	N.S								N.S			
	POS		N.S					N.S					
	U.C.			N.S					N.S				
Ca endom I	PRE				N.S			N.S					N.S
	POS					N.S			N.S		N.S		
	U.C.						N.S			N.S		N.S	
Control		N.S			N.S			N.S			p<0,05		

TABLA 4.9: RESULTADOS COMPARATIVOS DEL CEA

**Pre: Antes del tratamiento*

***Pos: Después del tratamiento*

****U.C: Ultimo control*

2.2.- Concentración de Ca-125

Los valores normales establecidos al cuantificar el Ca-125 en plasma por el método ELISA están comprendidos entre 0 y 35 mU /ml.

Nosotros hemos analizado el Ca-125 de las pacientes incluidas en el estudio antes de aplicar ningún tipo de terapéutica, después de la misma y en el último control efectuado .

Los resultados obtenidos son los que a continuación se detallan (FIG 4.4, 4.5 y 4.6):

A) Entre las pacientes con carcinoma de cérvix:

-No hemos encontrado elevación inicial de la concentración de este marcador tumoral a excepción de un solo caso de neoplasia preinvasiva y de otro caso de neoplasia invasiva.

B) En las pacientes con adenocarcinoma de endometrio

-La concentraciones de Ca-125 en el estadio 0, han permanecido normales a lo largo de todo el estudio.

-Hemos observado cifras elevadas en las determinaciones iniciales en cinco pacientes (26,3%) que se encontraban en estadio I. Después del tratamiento estos valores se normalizaron excepto en una paciente que posteriormente mostró recurrencia de la enfermedad.

El seguimiento de los valores de Ca-125 a lo largo del ensayo demuestra que, solo en las pacientes con adenocarcinoma de endometrio en estadio I, los niveles iniciales de este marcador, han descendido de forma evidente después de realizado el tratamiento (TABLAS 4.10 y 4.11).

Desde el punto de vista estadístico la comparación entre los dos tipos de carcinoma, diferenciando los dos estadios y los casos control, en las diferentes etapas del estudio, arrojó los siguientes resultados (TABLA 4.12):

La hipótesis nula establecida se rechazó al comparar las concentraciones de Ca-125 antes y después del tratamiento de las pacientes con adenocarcinoma en estadio I, observándose concentraciones más elevadas del Ca-125 previos a la terapia ($p < 0,01$).

Cuando son comparados los valores iniciales de las pacientes con neoplasia endometrial en estadio I y los obtenidos en el mismo grupo al final del estudio la hipótesis nula también fué rechazada, hallándose más altos los niveles de Ca-125 anteriores al tratamiento ($p < 0,01$).

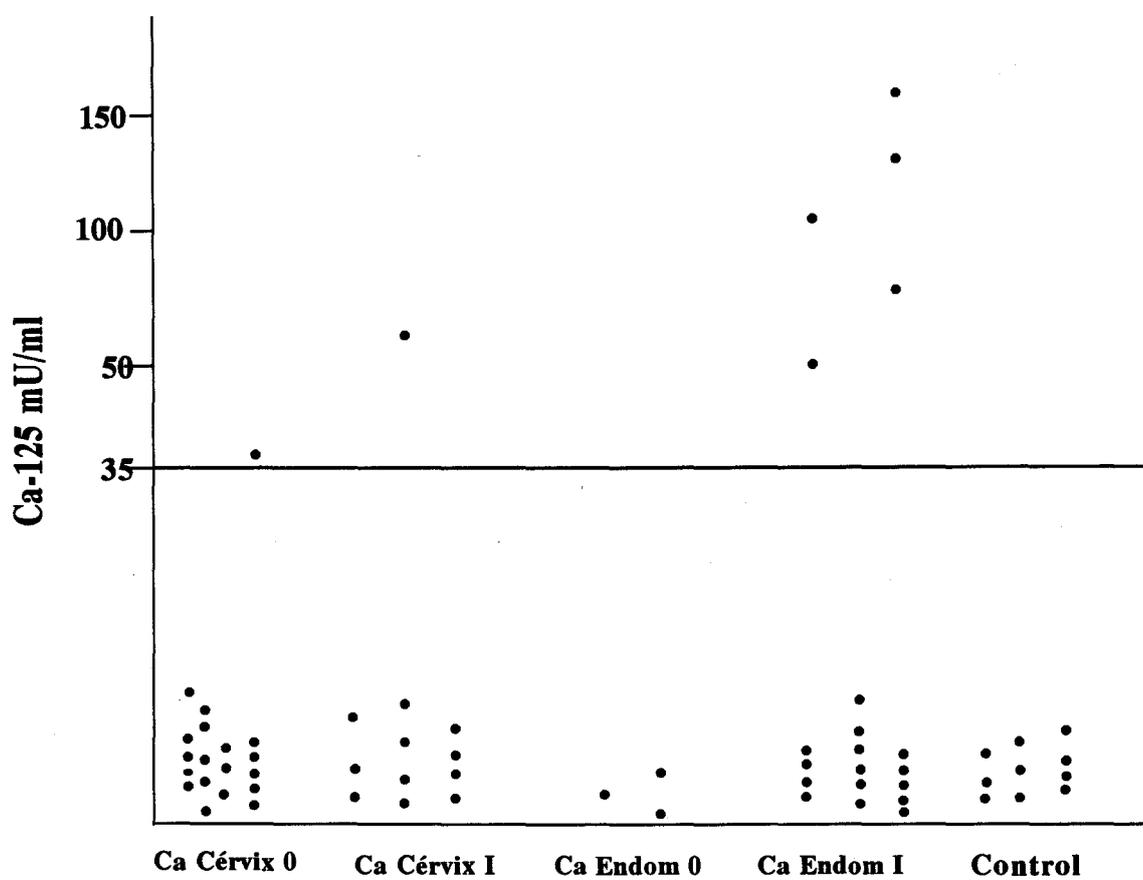


FIG 4.4: CONCENTRACION INICIAL DE CA-125

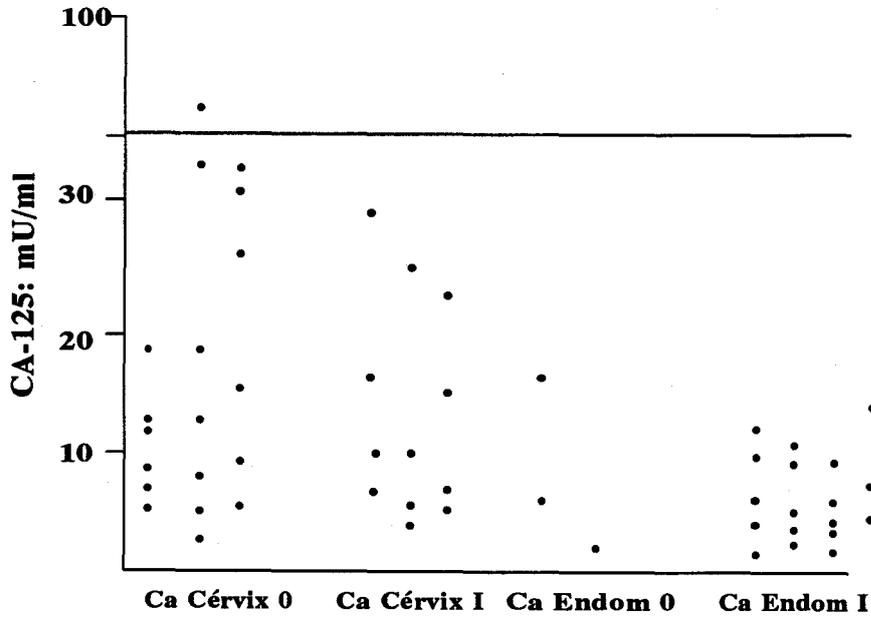


FIG 4.5: CONCENTRACION DE CA-125 POSTTO

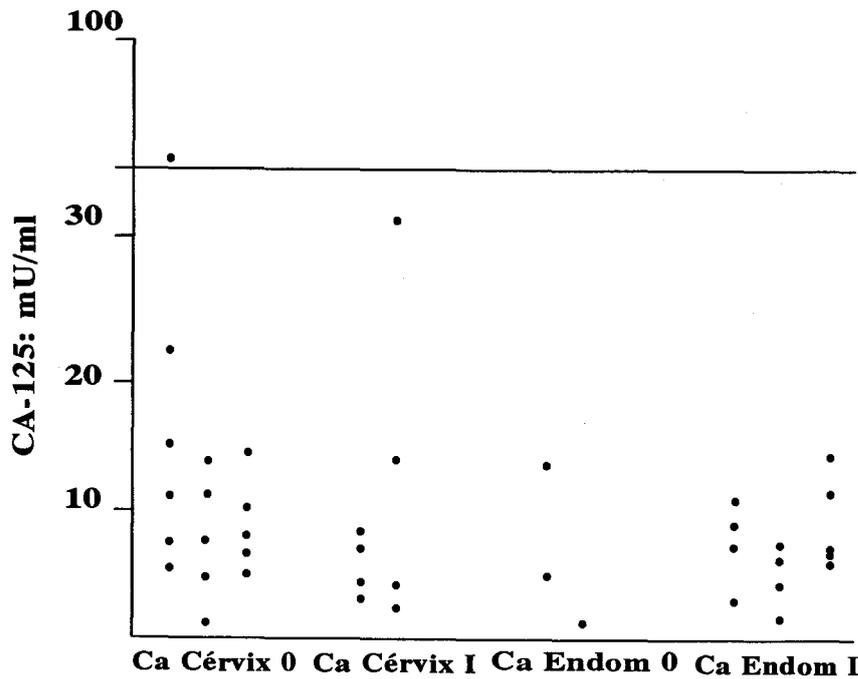


FIG 4.6: CONCENTRACION DE CA-125 EN EL U.C.

RESULTADOS**TABLA 4.10: CONCENTRACION DE Ca-125 EN EL CARCINOMA DE CERVIX (ng/ml)**

		MEDIA	D.S	MIN	MAX
Estadío preinvasivo:	*Pre	13,01	7,90	2,70	37,5
	**Pos	13,87	10,10	1,00	35,6
	***U.C	10,34	7,92	0,30	34,9
Estadío invasivo:	Pre	15,72	15,33	4,70	59,1
	Pos	11,52	7,97	4,10	29,2
	U.C	8,37	9,73	2,00	30,7

Pre: previo al tratamiento; ** Pos: posterior al tratamiento;* U.C: último control*

TABLA 4.11: CONCENTRACION DE Ca-125 EN EL CARCINOMA DE ENDOMETRIO

		MEDIA	D.S	MIN	MAX
Estadío preinvasivo:	*Pre	7,26	2,86	1,80	11,5
	**Pos	7,23	6,99	1,20	14,9
	***U.C	5,73	6,27	0,30	1,37
Estadío invasivo:	Pre	33,24	45,33	2,30	167
	Pos	11,59	22,16	1,00	102
	U.C	6,43	3,21	1,50	12,3

Pre: previo al 4tratamiento; ** Pos: posterior al tratamiento;* U.C: último control*

RESULTADOS

		Ca Cérvix 0			Ca Cérvix I			Ca Endomet 0			Ca Endomet I		
		* PRE	** POS	*** U.C.	PRE	POS	U.C.	PRE	POS	U.C.	PRE	POS	U.C.
Ca Cérvix 0	PRE			N.S									
	POS	N.S											
	U.C.		N.S										
Ca Cérvix I	PRE	N.S					N.S						
	POS		N.S		N.S								
	U.C.			N.S		N.S							
Ca endom 0	PRE	N.S								N.S			
	POS		N.S					N.S					
	U.C.			N.S					N.S				
Ca endom I	PRE				N.S			N.S					P<0,001
	POS					N.S			N.S		P<0,001		
	U.C.						N.S			N.S		N.S	
Control		N.S			N.S			N.S			N.S		

TABLA 4.12: RESULTADOS COMPARATIVOS DEL CA-125

*Pre: Antes del tratamiento

**Pos: Después del tratamiento

***U.C: Último control

2.3.- Concentración de S.C.C.

La cuantificación del antígeno asociado al carcinoma de células escamosas o antígeno SCC, realizado mediante un inmunoensayo enzimático de micropartículas (MEIA) en suero o plasma, determina como valores normales un rango de 0 a 2 ng /ml.

La concentración de SCC observada por nosotros, durante las diferentes etapas del estudio, se ha mantenido dentro de niveles normales excepto en los siguientes casos: (FIG 4.7, 4.8 y 4.9):

-Dos pacientes con carcinoma epidermoide en estadio 0 (10,5%) y tres en estadio I (25%), han mostrado valores elevados antes del tratamiento. En dos de ellas (una de cada estadio) persistieron después del tratamiento, pero todas se habían normalizado en el último control.

-Tres pacientes con adenocarcinoma endometrial en estadio I(15,7%), también presentaron concentraciones iniciales elevadas que se normalizaron después de la terapia y así permanecieron hasta el final del seguimiento.

No hemos visto cambios dignos de mención, en la media de las determinaciones seriadas de este marcador, efectuadas a lo largo de los tres años de estudio. (TABLAS 4.13 y 4.14).

Al comparar estadísticamente las concentraciones de SCC en los dos grupos histológicos de carcinoma, en los dos estadios y en los casos control durante las diferentes etapas del estudio, hemos llegado a la conclusión de que la hipótesis nula establecida ha podido ser mantenida, esto es, no hemos hallado diferencias en los distintos grupos del ensayo.

Exclusivamente, en la comparación entre los niveles iniciales de SCC de las pacientes con carcinoma epidermoide de cérvix en estadio preinvasivo y los obtenidos después del tratamiento, hemos podido rechazar la hipótesis nula, es decir, hemos encontrado diferencias significativas ($p < 0,05$) (TABLA 4.15).

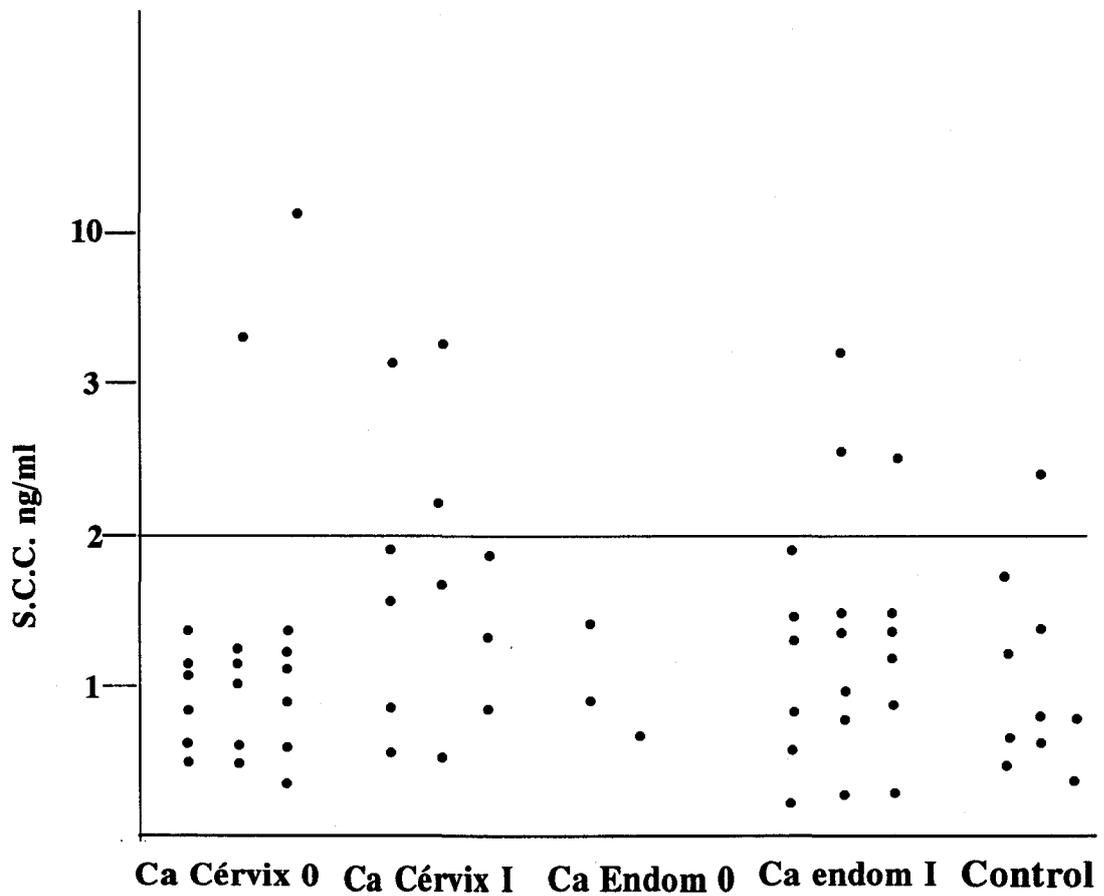


FIG 4.7: CONCENTRACION INICIAL DE SCC

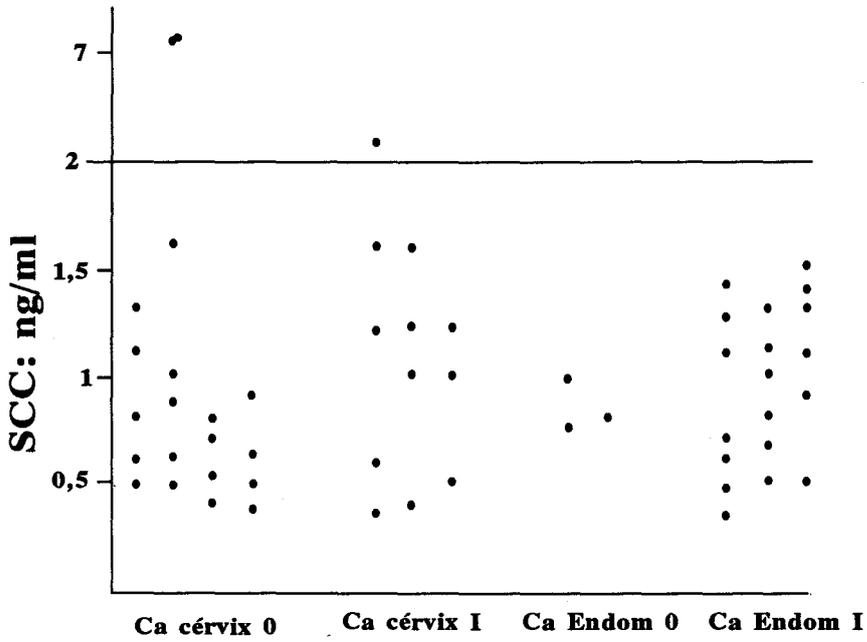


FIG 4.8: Valores de SCC postratamiento

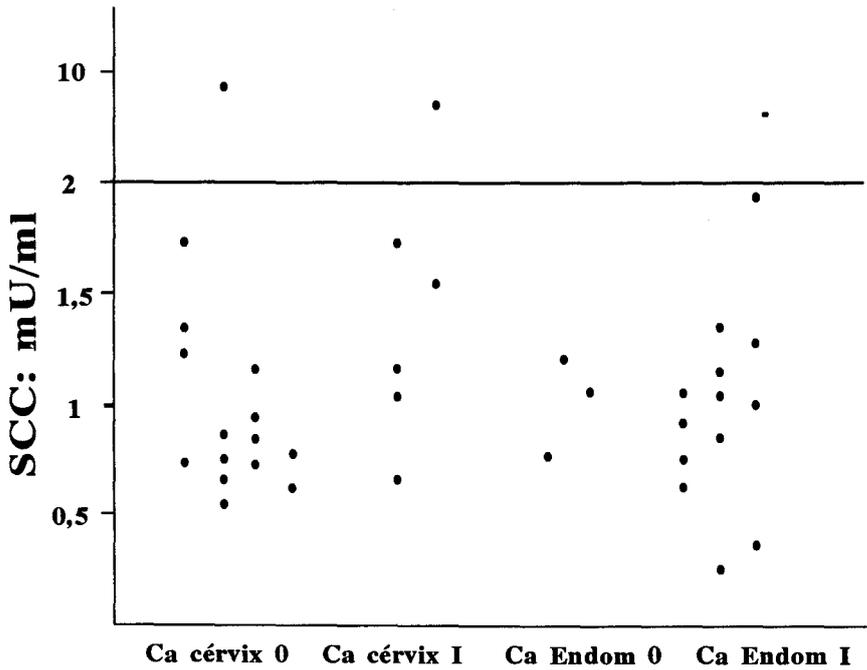


FIG 4.9: Valores de SCC en el último control

RESULTADOS**TABLA 4.13: CONCENTRACION DE SCC EN EL CARCINOMA DE CERVIX (ng/ml)**

		MEDIA	D.S	MIN	MAX
Estadío preinvasivo:	*Pre	1,55	0,50	0,30	10,3
	**Pos	1,14	0,42	0,40	8,70
	***U.C	1,22	1,38	0,50	6,10
Estadío invasivo:	Pre	1,70	0,94	0,4	3,50
	Pos	1,71	2,12	0,4	8,30
	U.C	1,31	0,56	0,6	2,30

Pre: previo al tratamiento; ** Pos: posterior al tratamiento;* U.C: último control*

TABLA 4.14: CONCENTRACION DE SCC EN EL CARCINOMA DE ENDOMETRIO

		MEDIA	D.S	MIN	MAX
Estadío preinvasivo:	*Pre	1,03	0,41	0,7	1,5
	**Pos	0,83	0,15	0,7	1,0
	***U.C	4,33	5,12	0,7	10,2
Estadío invasivo:	Pre	1,55	1,48	0,2	6,5
	Pos	0,94	0,35	0,4	1,5
	U.C	0,91	0,42	0,2	1,9

Pre: previo al tratamiento; ** Pos: posterior al tratamiento;* U.C: último control*

		Ca Cérvix 0			Ca Cérvix I			Ca Endomet 0			Ca Endomet I		
		* PRE	** POS	*** U.C.	PRE	POS	U.C.	PRE	POS	U.C.	PRE	POS	U.C.
Ca Cérvix 0	PRE			N.S									
	POS	N.S											
	U.C.		N.S										
Ca Cérvix I	PRE	N.S					N.S						
	POS		p<0,05		N.S								
	U.C.			N.S		N.S							
Ca endom 0	PRE	N.S								N.S			
	POS		N.S					N.S					
	U.C.			N.S					N.S				
Ca endom I	PRE				N.S			N.S					N.S
	POS					N.S			N.S		N.S		
	U.C.						N.S			N.S		N.S	
Control		N.S			N.S			N.S			N.S		

TABLA 4.15: RESULTADOS COMPARATIVOS DEL SCC

**Pre: Antes del tratamiento*

***Pos: Después del tratamiento*

****U.C: Ultimo control*

2.4.- Expresión de los antígenos HLA de clase I y HLA de clase II

Al estudiar las alteraciones en la expresión de los antígenos de histocompatibilidad de clase I (normalmente presente en todas las células nucleadas del organismo en diverso grado) tanto en los casos experimentales como en los casos control, hemos observado lo siguiente: (TABLA 4.16)(FOTOGRAFIAS 1-10)

Todos los epitelios escamosos de los cervix normales, así como los epitelios columnares de los endometrios normales exhibieron moléculas HLA de clase I

De las 31 biopsias de carcinoma epidermoide de cérvix examinadas, 6 de ellas (19,35%) carecieron de expresión de antígenos HLA-I, dos correspondieron a neoplasias preinvasivas (6,45%) y cuatro (12,9%) pertenecían a neoplasias cervicales invasivas. Al comparar estadísticamente estos resultados con los casos de epitelio escamoso normal (controles), no hemos observado diferencias significativas.

De las 22 muestras histológicas de adenocarcinoma de endometrio inspeccionados, 7 (31,8%) mostraron ausencia de fenotipo HLA-I. Comparando estas observaciones con las obtenidas en endometrios normales y aplicando el test de χ^2 , comprobamos la existencia de diferencias significativas ($p=0,05$)

RESULTADOS

Por otro lado, hemos investigado también la expresión de moléculas HLA de clase II que normalmente tienen una distribución restringida a los linfocitos B, monocitos, macrófagos y algunas células epiteliales, y que puede alterarse en algunas neoplasias.

En los 31 epitelios neoplásicos cervicales examinados hubo ocho (66,6%) de los carcinomas invasivos presentaron patrones de tinción positivos para antígenos HLA de clase II (TABLA 4.17).

Al observar las biopsias de los 22 adenocarcinomas endometriales invasivos, hemos comprobado que una proporción del 41,2% mostraron fenotipos de clase II.

Por el contrario, todos los epitelios escamosos de cérvix y columnares de endometrios, normales, presentaron ausencia de expresión de antígenos HLA de clase II.

En el estudio estadístico realizado para comparar la expresión antigénica HLA de clase II en los casos de carcinoma escamoso de cérvix y en los adenocarcinomas de endometrio con los controles normales, hemos observado que existen diferencias significativas en ambos grupos ($p < 0,05$), por lo que fué rechazada la hipótesis nula.

RESULTADOS**TABLA 4.16: Expresión de antígenos HLA de clase I**

Tipo histológico	Positiva	Negativa
* Ca epidermoide	25 (80,6%)	6 (19,35%)
** Adenocarcinoma	15 (68,18%)	7 (31,8%)
* Epit.escamoso normal	10 (100%)	0
**Endometrio normal	10 (100%)	0

* *N.S*

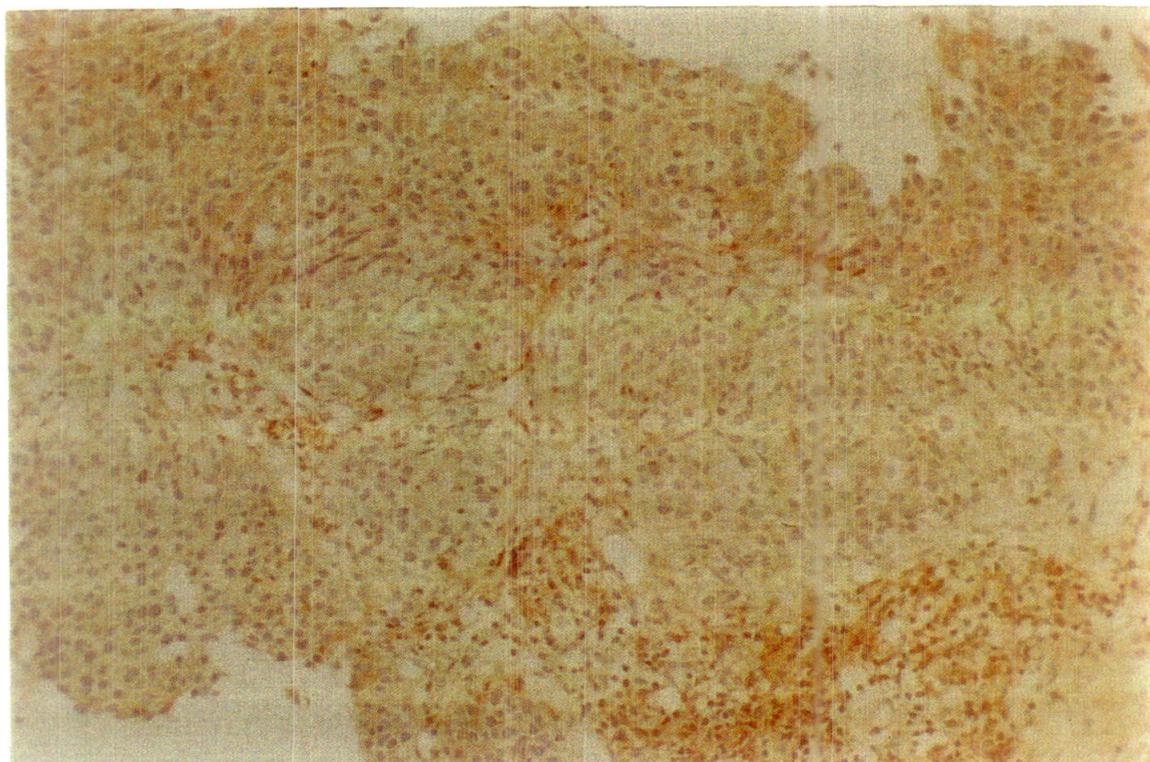
** $p=0,05$

TABLA 4.17: Expresión de antígenos HLA de clase II

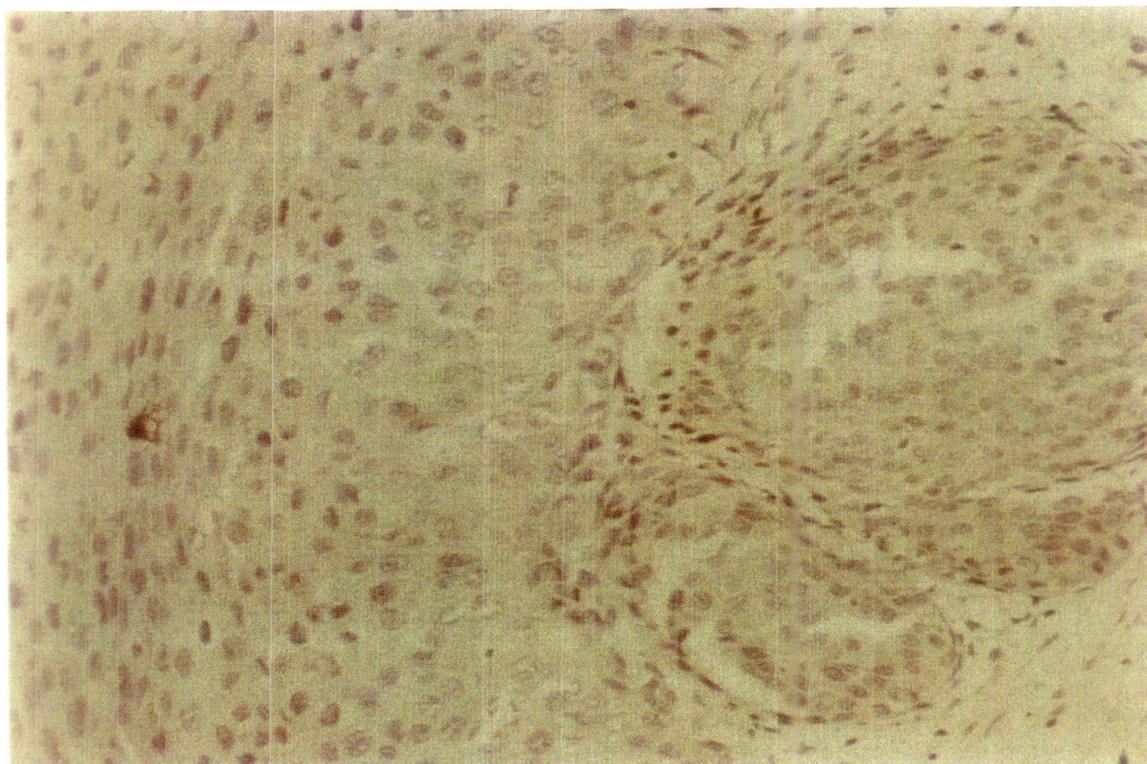
Tipo histológico	Positiva	Negativa
*Ca epidermoide	8(66,6 %)	4(33,3%)
**Adenocarcinoma	8(42,1%)	11(57,8%)
*Epit.escamoso normal	0(0%)	10 (100%)
**Endometrio normal	0(0%)	10 (100%)

* $p<0,05$

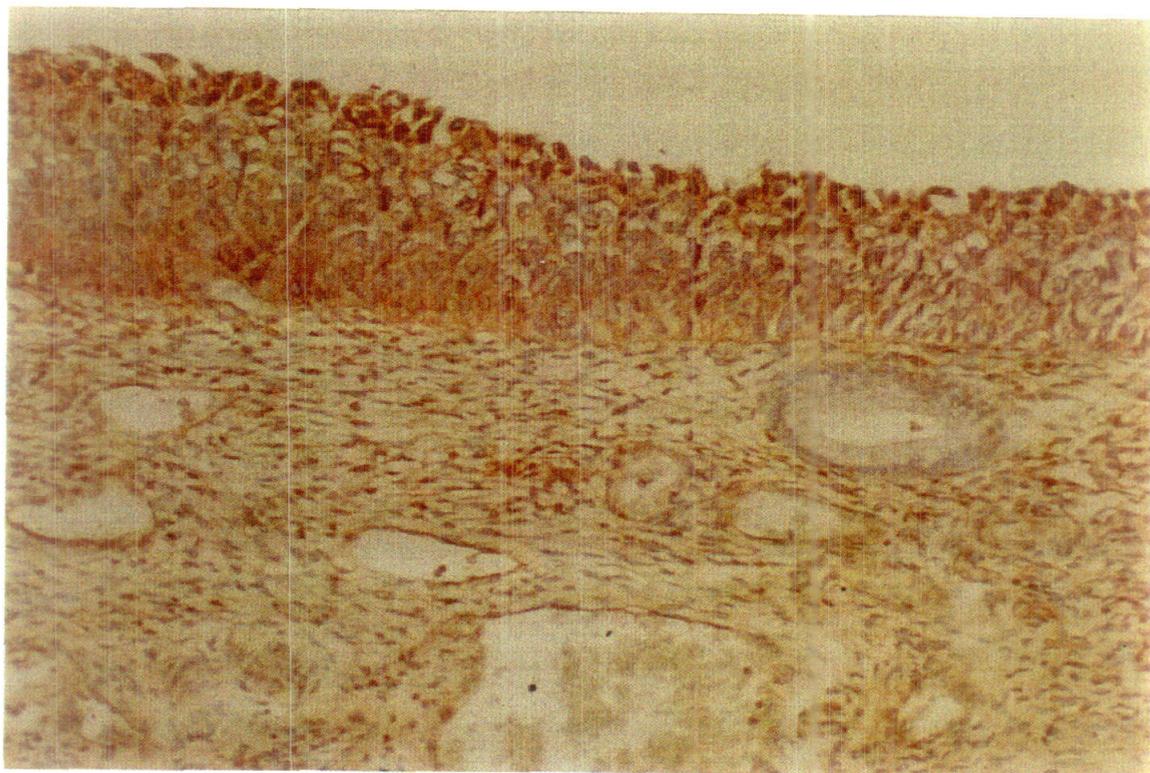
** $p<0,05$



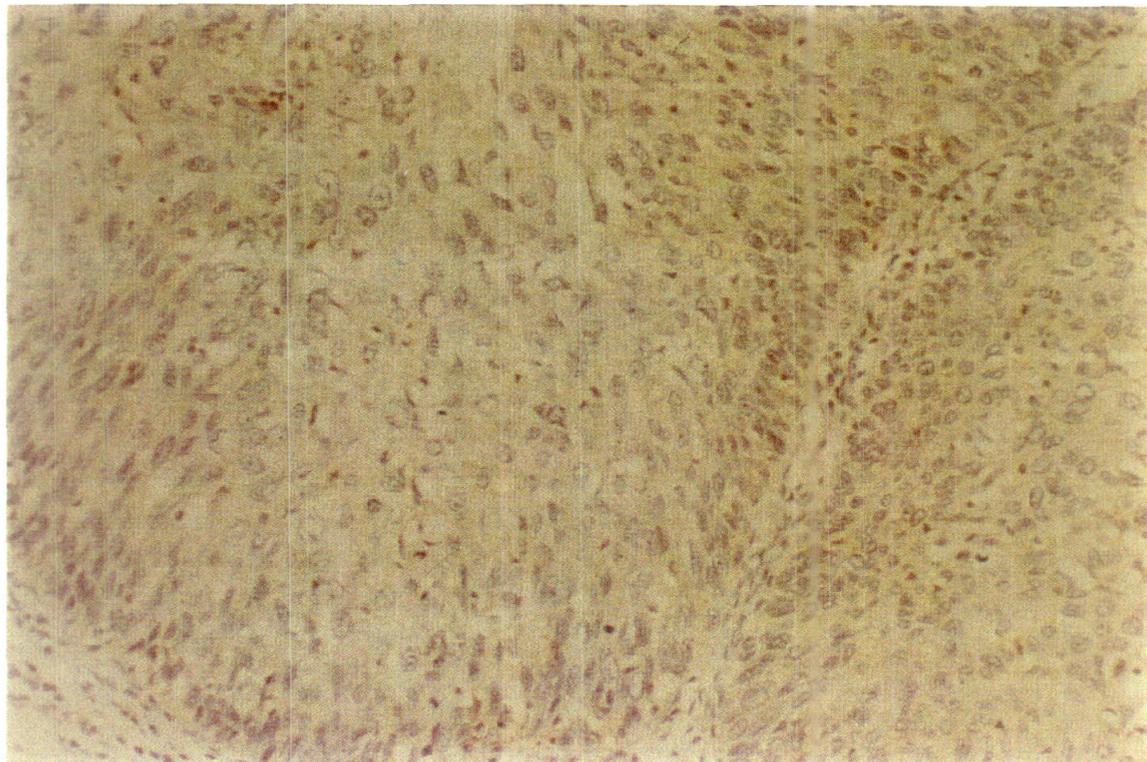
Fotogr 1: Carcinoma de Cérvix. Expresion antigénica HLA I positiva



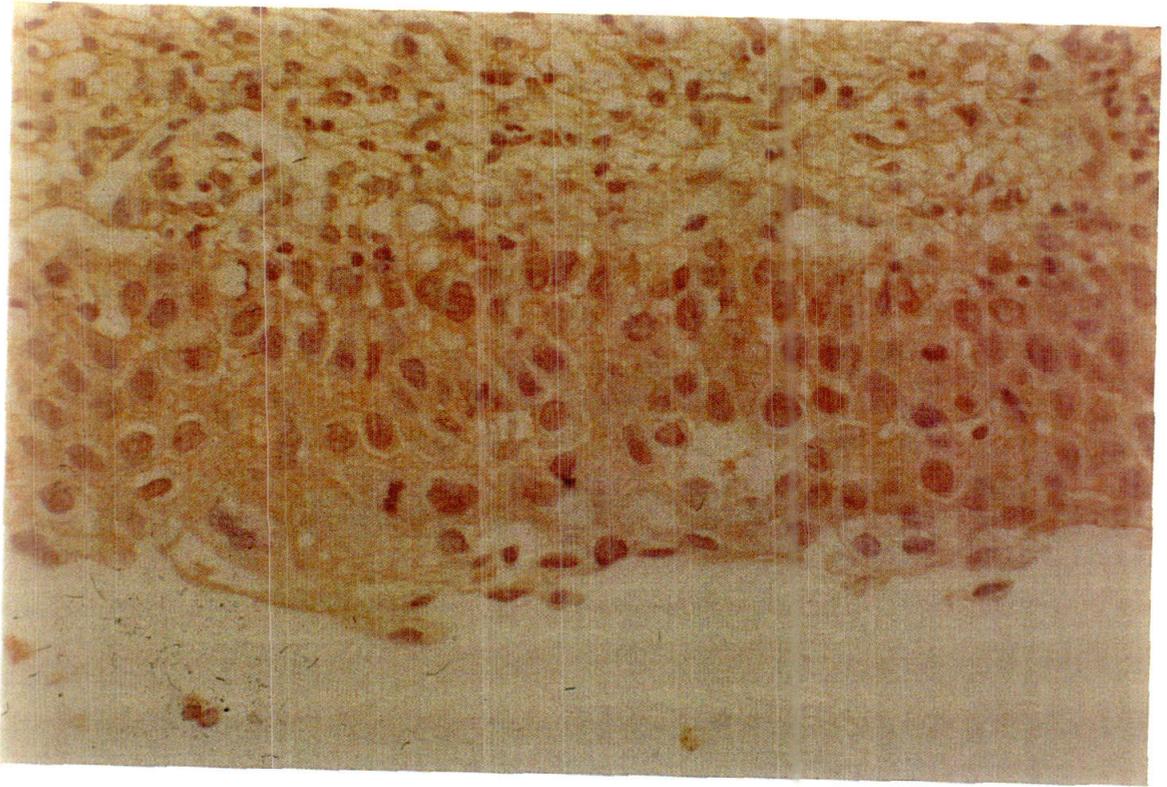
Fotogr 2 : Carcinoma de Cérvix. Expresion antigénica HLA I negativa



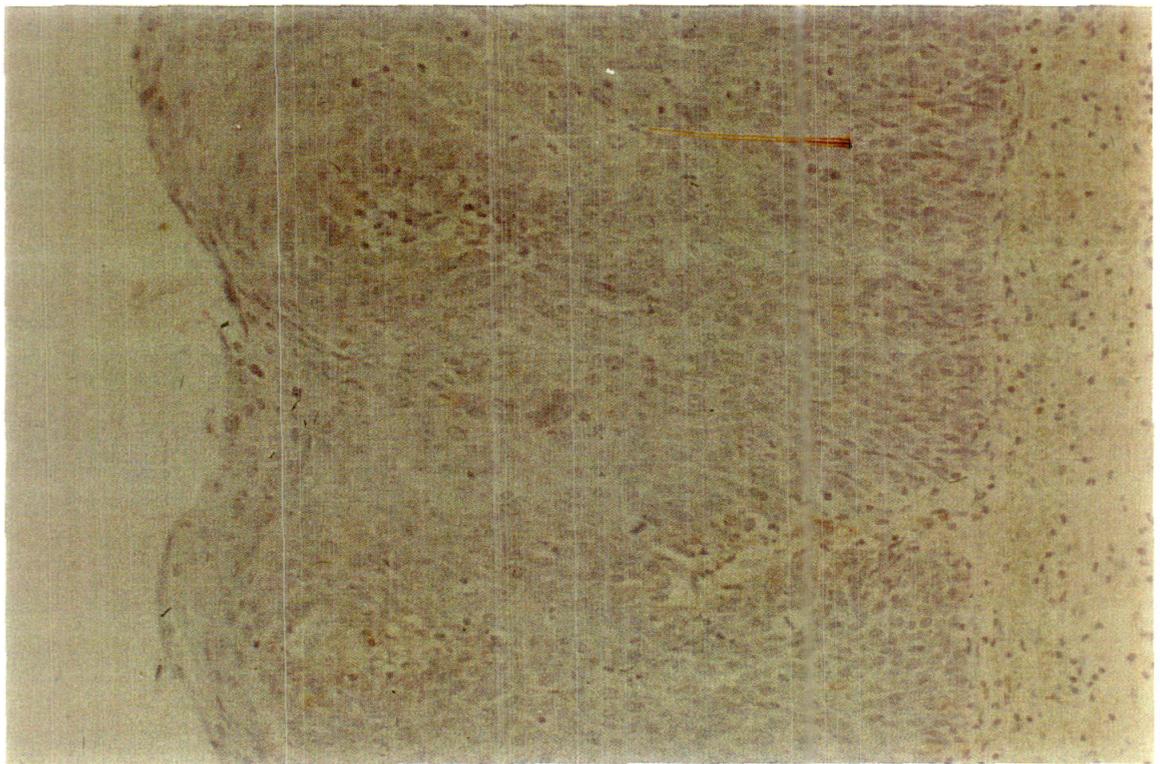
Fotogr 3: Carcinoma "in situ" de Cérvix. Expresion antigénica HLA I positiva



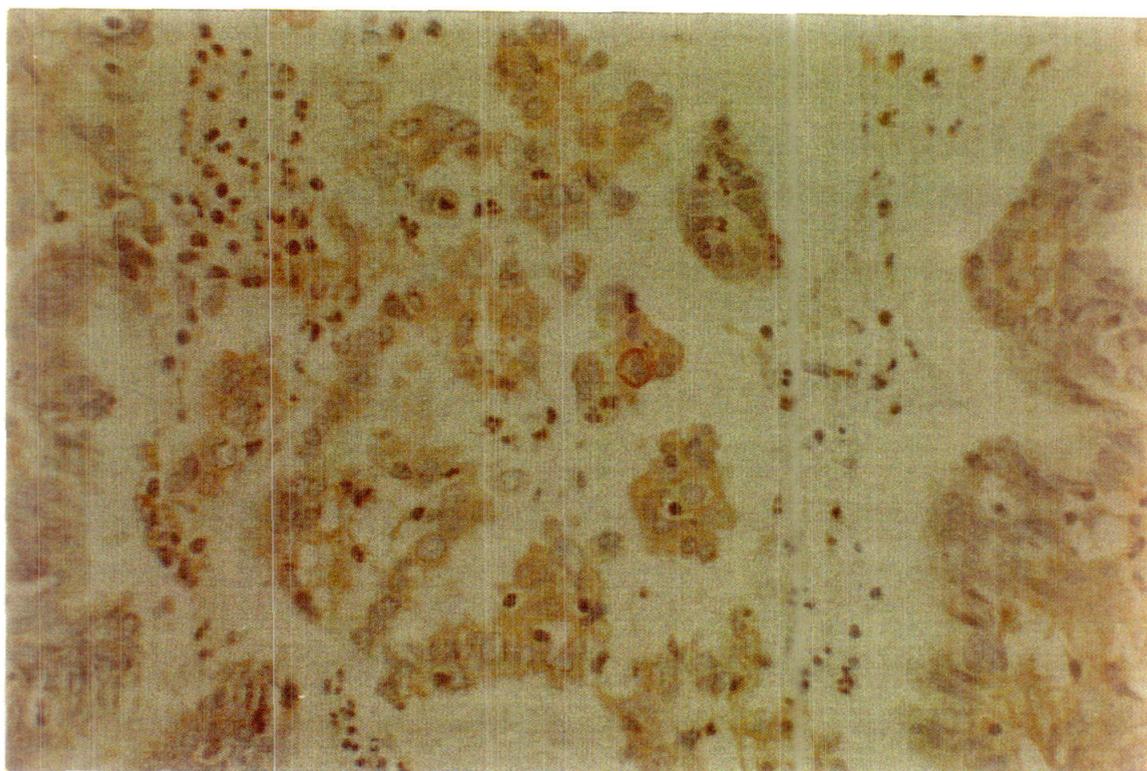
Fotogr 4 : Carcinoma "in situ" de Cérvix. Expresion antigénica HLA I negativa



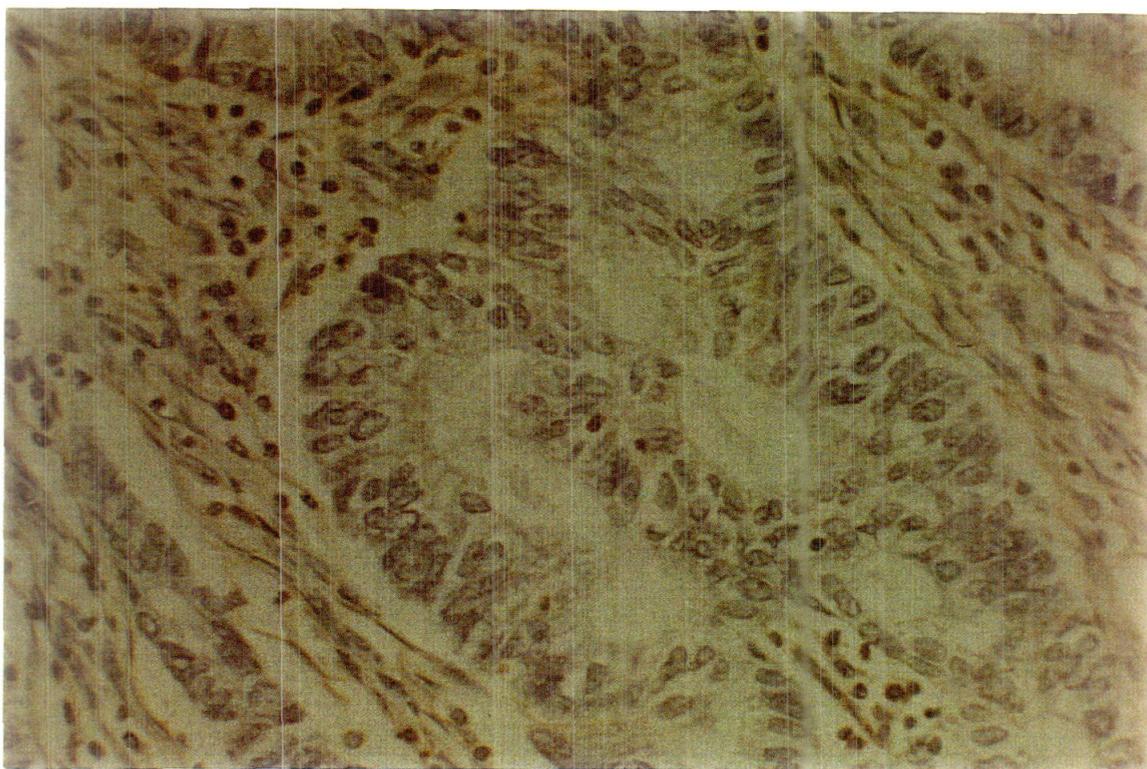
Fotogr 5: Carcinoma de Cérvix. Expresion antigénica HLA II positiva



Fotogr 6 : Carcinoma "in situ" de Cérvix. Expresion antigénica HLA II negativa



Fotogr 7: Adenocarcinoma de endometrio. Expresión antigénica HLA I positiva



Fotogr 8: Adenocarcinoma de endometrio. Expresión antigénica HLA I negativa



Fotogr 9: Adenocarcinoma de endometrio. Expresión antigénica HLA II positiva



Fotogr 10: Adenocarcinoma de endometrio. Expresión antigénica HLA II negativa

2.6.-Concentración de TNF- α e IL-1 β

Los valores de límite de detección calculados mediante la $X + 2DE$ de 20 determinaciones del estándar 0 efectuadas en la misma serie analítica han quedado establecidos como sigue:

Para el TNF- α : 40 pg /ml

Para la IL-1 β : 30 pg/ml.

Hemos realizado las determinaciones de estas citoquinas, a partir de las muestras séricas obtenidas de todas las pacientes incluidas en el estudio, antes y después de efectuado el tratamiento, así como de los casos control (TABLAS 4.18, 4.19, 4.21 y 4.22).

Todos los resultados obtenidos han permanecido por debajo de los límites de detección (FIG. 4.10, 4.11, 4.12 Y 4.13). Teniendo en cuenta este hecho y conociendo además que por debajo de este nivel los coeficientes de variación de las concentraciones obtenidas son muy amplios, al analizar las concentraciones de ambas citoquinas en los diferentes grupos mediante el test U-de Mann Witney, hemos observado diferencias significativas entre los valores medios iniciales de IL1- β de las pacientes con carcinoma epidermoide cervical, tanto en estadio preinvasivo como en estadio invasivo y el grupo control, comprobándose que los valores de este último grupo son inferiores a los obtenidos en las pacientes con carcinoma de cérvix ($p < 0,01$) (TABLA 4.23)

RESULTADOS

De igual manera, hemos observado diferencias significativas entre las concentraciones medias iniciales de TNF-a en las pacientes con adenocarcinoma invasivo de endometrio y el grupo control, siendo superiores los valores obtenidos en las pacientes neoplásicas ($p < 0,05$) (TABLA 4.20).

RESULTADOS**TABLA 4.18: CONCENTRACION DE TNF- α EN EL CARCINOMA DE CERVIX (mg /dl)**

	MEDIA	D.S	MIN	MAX
Estadío preinvasivo:* Pre	0,06	0,04	0,012	0,17
**Pos	0,12	0,22	0,010	0,79
Estadío invasivo: Pre	0,09	0,26	0,02	0,77
Pos	0,07	0,29	9E-3	0,83

**Pre: previo al tratamiento; Pos: posterior al tratamiento*

TABLA 4.19: CONCENTRACION DE TNF- α EN EL CARCINOMA DE ENDOMETRIO(mg /dl)

	MEDIA	D.S	MIN	MAX
Estadío preinvasivo:* Pre	0,27	0,37	0,02	0,71
** Pos	0,26	0,38	0,01	0,79
Estadío invasivo : Pre	0,17	0,26	0,01	0,93
Pos	0,06	0,07	4E-3	b 0,34

**Pre: previo al tratamiento; ** Pos: posterior al tratamiento*

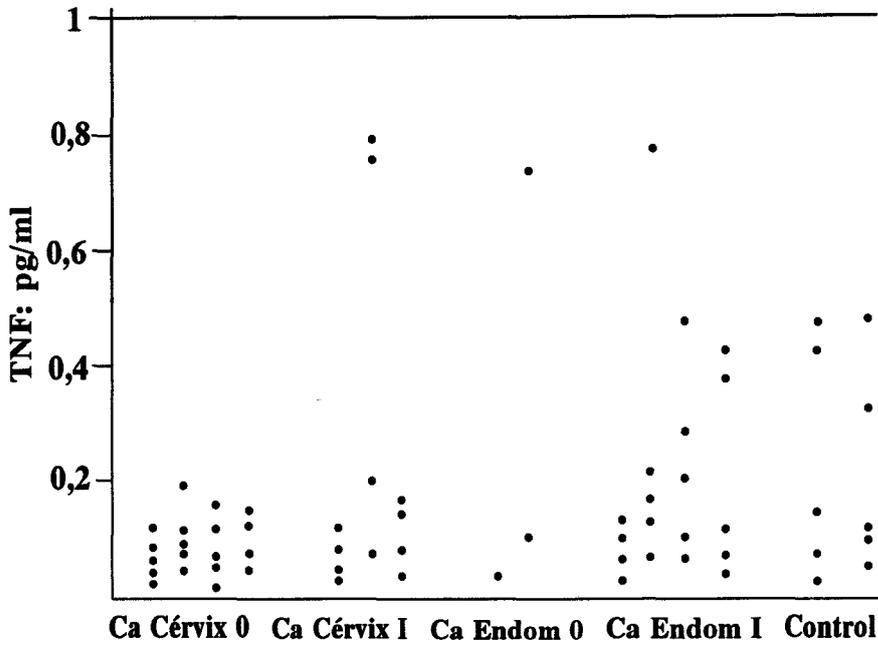


FIG 4.10: CONCENTRACION INICIAL DE TNF

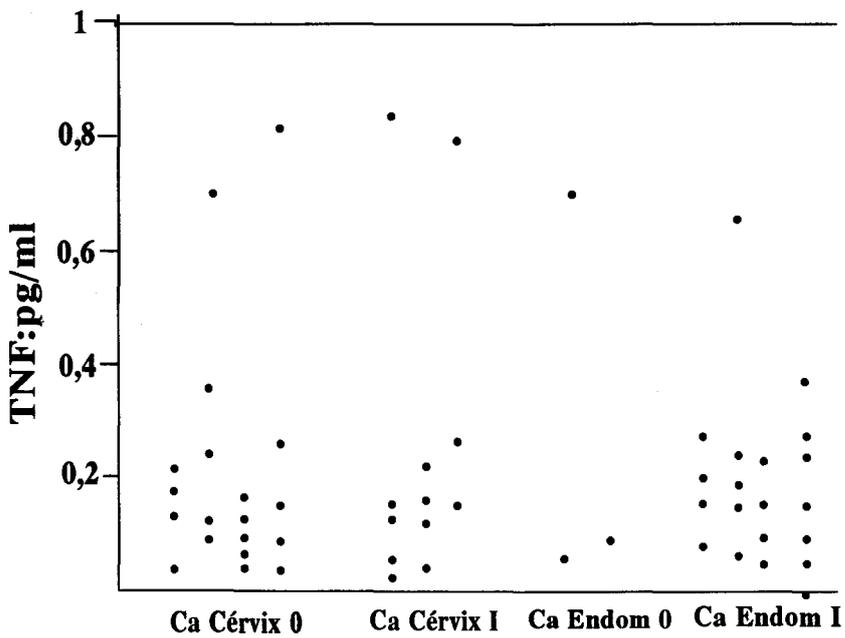


FIG 4.11: CONCENTRACION DE TNF POSTTO

RESULTADOS

		Ca Cérvix 0		Ca Cérvix I		Ca Endomet 0		Ca Endomet I	
		* PRE	** POS	PRE	POS	PRE	POS	PRE	POS
Ca Cérvix 0	PRE								
	POS	N.S							
Ca Cérvix I	PRE	N.S			N.S			N.S	
	POS		N.S						N.S
Ca endom 0	PRE	N.S					N.S		
	POS		N.S						
Ca endom I	PRE					N.S			N.S
	POS						N.S		
Control		N.S		N.S		N.S		p<0,05	

TABLA 4.20: RESULTADOS COMPARATIVOS DEL TNF

**Pre: Antes del tratamiento*

***Pos: Después del tratamiento*

RESULTADOS**TABLA 4.21: CONCENTRACION DE IL1- β EN EL CARCINOMA DE CERVIX (mg /dl)**

	MEDIA	D.S	MIN	MAX
Estadío preinvasivo:* Pre	0,05	0,06	0	0,26
**Pos	0,04	0,06	6E-3	0,28
Estadío invasivo: Pre	0,031	0,02	0	0,08
Pos	0,033	0,02	0	0,10

Pre: previo al tratamiento; Pos: posterior al tratamiento*

TABLA 4.22:CONCENTRACION DE IL1- β EN EL CARCINOMA DE ENDOMETRIO(mg /dl)

	MEDIA	D.S	MIN	MAX
Estadío preinvasivo:* Pre	0,029	0,030	5E-3	0,065
** Pos	0,059	0,078	6E-3	0,16
Estadío invasivo: Pre	0,024	0,119	2E-3	0,457
Pos	0,045	0,089	4E-3	0,331

Pre: previo al tratamiento; Pos: posterior al tratamiento*

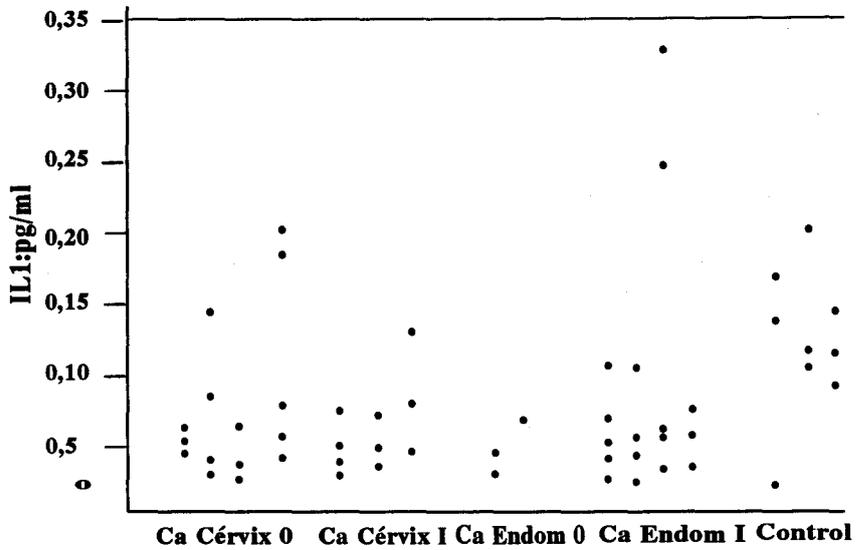


FIG 4.12: CONCENTRACION INICIAL DE IL1

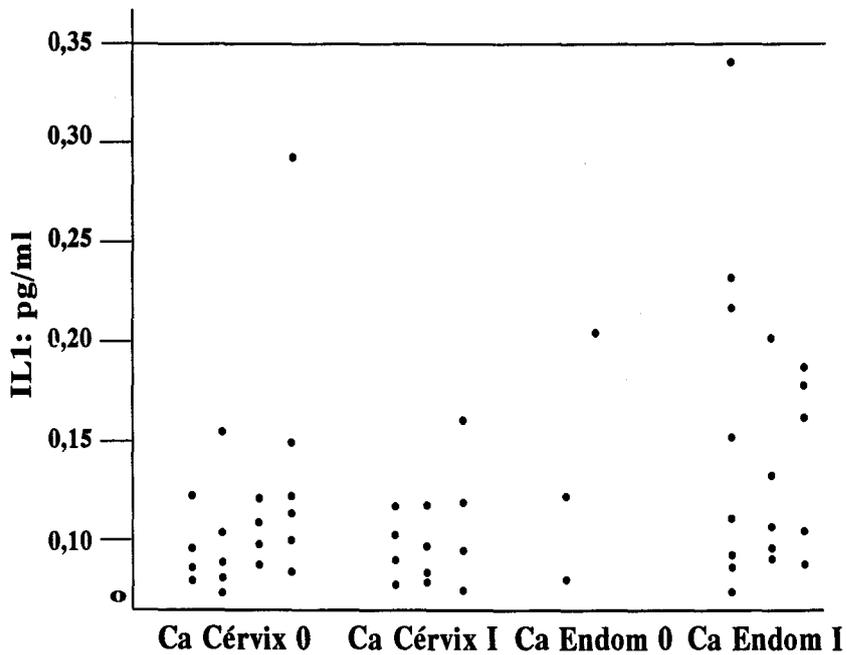


FIG 4.13: CONCENTRACION DE IL1 POSTTO

RESULTADOS

		Ca Cérvix 0		Ca Cérvix I		Ca Endomet 0		Ca Endomet I	
		* PRE	** POS	PRE	POS	PRE	POS	PRE	POS
Ca Cérvix 0	PRE								
	POS	N.S							
Ca Cérvix I	PRE	N.S			N.S			N.S	
	POS		N.S						N.S
Ca endom 0	PRE	N.S					N.S		
	POS		N.S						
Ca endom I	PRE					N.S			N.S
	POS						N.S		
Control		p<0,001		p<0,001		N.S		N.S	

TABLA 4.23: RESULTADOS COMPARATIVOS DE LA IL1

**Pre: Antes del tratamiento*

***Pos: Después del tratamiento*

2.7.- Concentración de Inmunoglobulinas

La determinación cuantitativa de las inmunoglobulinas IgG, IgA e IgM realizadas mediante antisueros específicos frente a proteínas humanas, fija como valores normales los comprendidos entre 800-1.800 mg /dl para la IgG, 90-450 mg /dl para la IgA y 60-250 mg /dl para la IgM.

Los resultados obtenidos por nosotros demuestran que la concentración de IgG (TABLAS 4.24 y 4.25) ha permanecido dentro de los límites normales en todas las series estudiadas, presentando una discreta elevación después de efectuar el tratamiento (FIG 4.14 4.15 y 4.16).

La IgA se mostró elevada en una proporción entre un 10 y un 20% de todos los grupos estudiados y esta proporción se mantuvo en las determinaciones posteriores al tratamiento e incluso en las efectuadas en el último control.(FIG 4.17, 4.18 y 4.19)(TABLAS 4.27 y 4.28).

De las tres inmunoglobulinas estudiadas, hemos comprobado que la IgM se ha presentado elevada en una mayor proporción de pacientes, tanto inicialmente como después de realizado el tratamiento. De todas las series estudiadas, las pacientes con adenocarcinoma de endometrio son las que con mayor frecuencia han mostrados niveles elevadosde IgM alcanzando a un 62% en las muestras obtenidas en controles posteriores a la terapia(FIG 4.20, 4.21 y 4.22)(TABLAS 4.30 y 4.31).

RESULTADOS

En el estudio estadístico realizado al comparar la concentración de las tres inmunoglobulinas entre los dos grupos histológicos de carcinoma(epidermoide de cérvix y adenocarcinoma endometrial), los dos estadios y los casos control hemos observado que la hipótesis nula fué rechazada al confrontar:

a) los valores iniciales de IgG y también los del último control, obtenidos entre las pacientes con neoplasia cervical preinvasiva y las pacientes con neoplasia cervical invasiva, siendo superiores los valores observados en las neoplasias presinvasivas en ambas ocasiones($p < 0,05$) (TABLA 4.26) .

b) las determinaciones de IgG efectuadas antes del tratamiento en los carcinoma preinvasivo de endometrio y en los carcinomas preinvasivos de cérvix observándose niveles superiores en la neoplasias endometriales ($p < 0,05$) (TABLA 4.26).

La hipótesis nula (es decir, la inexistencia de diferencias significativas) fué aceptada en todas las comparaciones efectuadas entre las concentraciones de IgA en los diferentes grupos (TABLA 4.29)

Finalmente, la hipótesis nula no fué admitida al comparar los valores de IgM obtenidos en las pacientes con neoplasia endometrial preinvasiva y los observados en el grupo control, evidenciandose cifras superiores en los carcinomas de endometrio($p < 0,05$) (TABLAS 4.32).

RESULTADOS**TABLA 4.24: CONCENTRACION DE IgG EN EL CARCINOMA DE CERVIX (ng/ml)**

	MEDIA	D.S	MIN	MAX
Estadío preinvasivo:*Pre	1408	288	754	2050
**Pos	1534	266	1060	2150
***U.C	1514	192	1110	1750
Estadío invasivo: Pre	1134	377	584	1850
Pos	1432	364	998	2110
U.C	1236	269	930	1690

Pre: previo al tratamiento; ** Pos: posterior al tratamiento;* U.C: último control*

TABLA 4.25: CONCENTRACION DE IgG EN EL CARCINOMA DE ENDOMETRIO

	MEDIA	D.S	MIN	MAX
Estadío preinvasivo:*Pre	1032	126	888	1120
**Pos	1366	86	1290	1460
***U.C	1376	378	1030	1780
Estadío invasivo: Pre	1260	485	479	2760
Pos	1356	381	675	2130
U.C	1305	253	804	1690

Pre: previo al tratamiento; ** Pos: posterior al tratamiento;* U.C: último control*

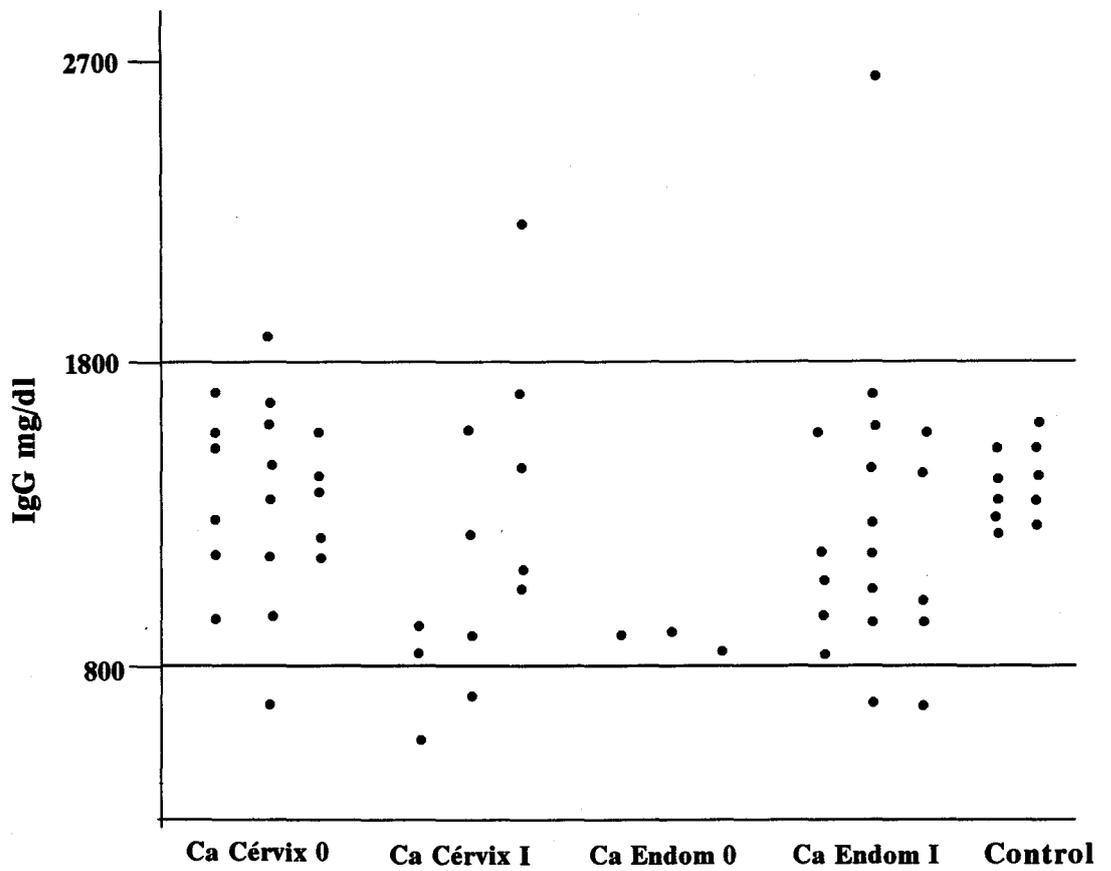


FIG 4.14: CONCENTRACION INICIAL DE IgG

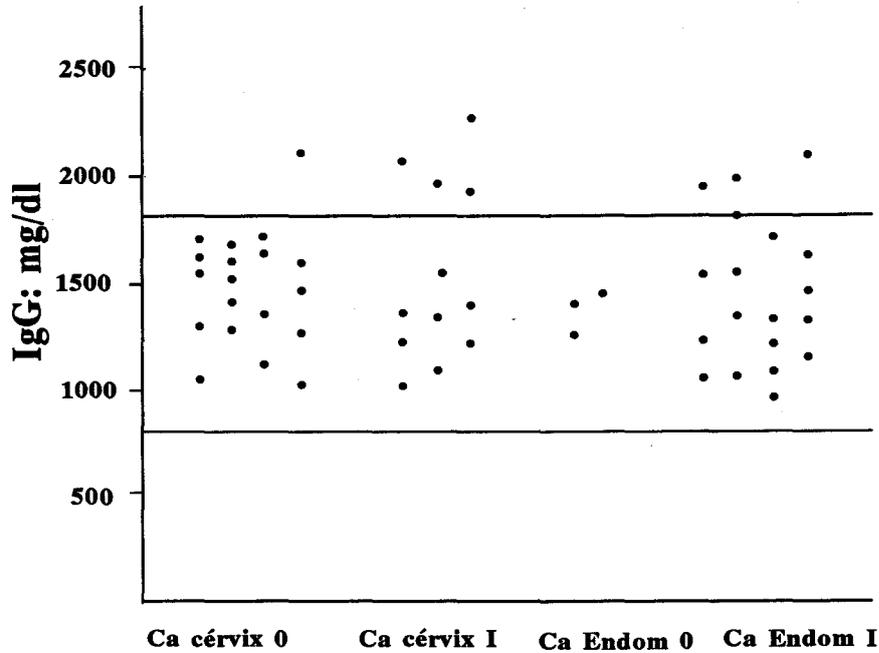


FIG 4.15: CONCENTRACION DE IgG POSTTO

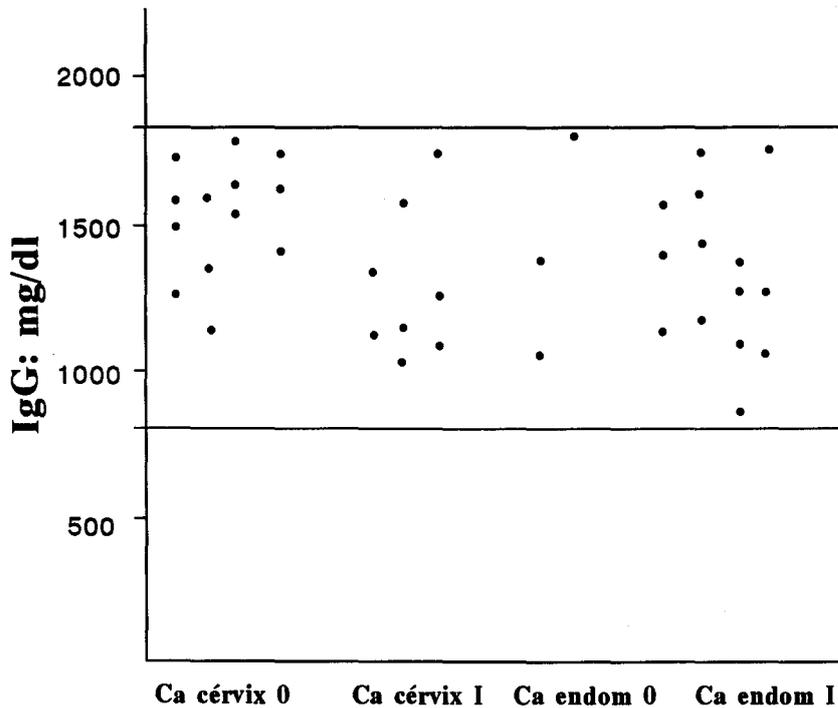


FIG 4.16: CONCENTRACION DE IgG EN EL ULTIMO CONTROL

RESULTADOS

		Ca Cérvix 0			Ca Cérvix I			Ca Endomet 0			Ca Endomet I		
		* PRE	** POS	*** U.C.	PRE	POS	U.C.	PRE	POS	U.C.	PRE	POS	U.C.
Ca Cérvix 0	PRE			N.S									
	POS	N.S											
	U.C.		N.S										
Ca Cérvix I	PRE	P<0,05					N.S						
	POS		N.S		N.S								
	U.C.			P<0,05		N.S							
Ca endom 0	PRE	P<0,05								N.S			
	POS		N.S					N.S					
	U.C.			N.S					N.S				
Ca endom I	PRE				N.S			N.S					N.S
	POS					N.S			N.S		N.S		
	U.C.						N.S			N.S		N.S	
Control		N.S			N.S			P<0,05			N.S		

TABLA 4.26: RESULTADOS COMPARATIVOS DE LA IgG

**Pre: Antes del tratamiento*

***Pos: Después del tratamiento*

****U.C: Ultimo control*

RESULTADOS**TABLA 4.27: CONCENTRACION DE IgA EN EL CARCINOMA DE CERVIX (mg/ml)**

	MEDIA	D.S	MIN	MAX
Estadío preinvasivo: *Pre	287	140	120	604
**Pos	312	130	131	594
***U.C	324	108	170	511
Estadío invasivo: Pre	301	72	161	446
Pos	360	114	235	633
U.C	349	42	235	600

Pre: previo al tratamiento; ** Pos: posterior al tratamiento; * U.C: último control*

TABLA 4.28: CONCENTRACION DE IgA EN EL CARCINOMA DE ENDOMETRIO

	MEDIA	D.S	MIN	MAX
Estadío preinvasivo: *Pre	272	77	183	321
**Pos	363	123	251	495
***U.C	351	99	249	448
Estadío invasivo: Pre	353	44	107	805
Pos	381	37	146	722
U.C	558	170	133	265

Pre: previo al tratamiento; ** Pos: posterior al tratamiento; * U.C: último control*

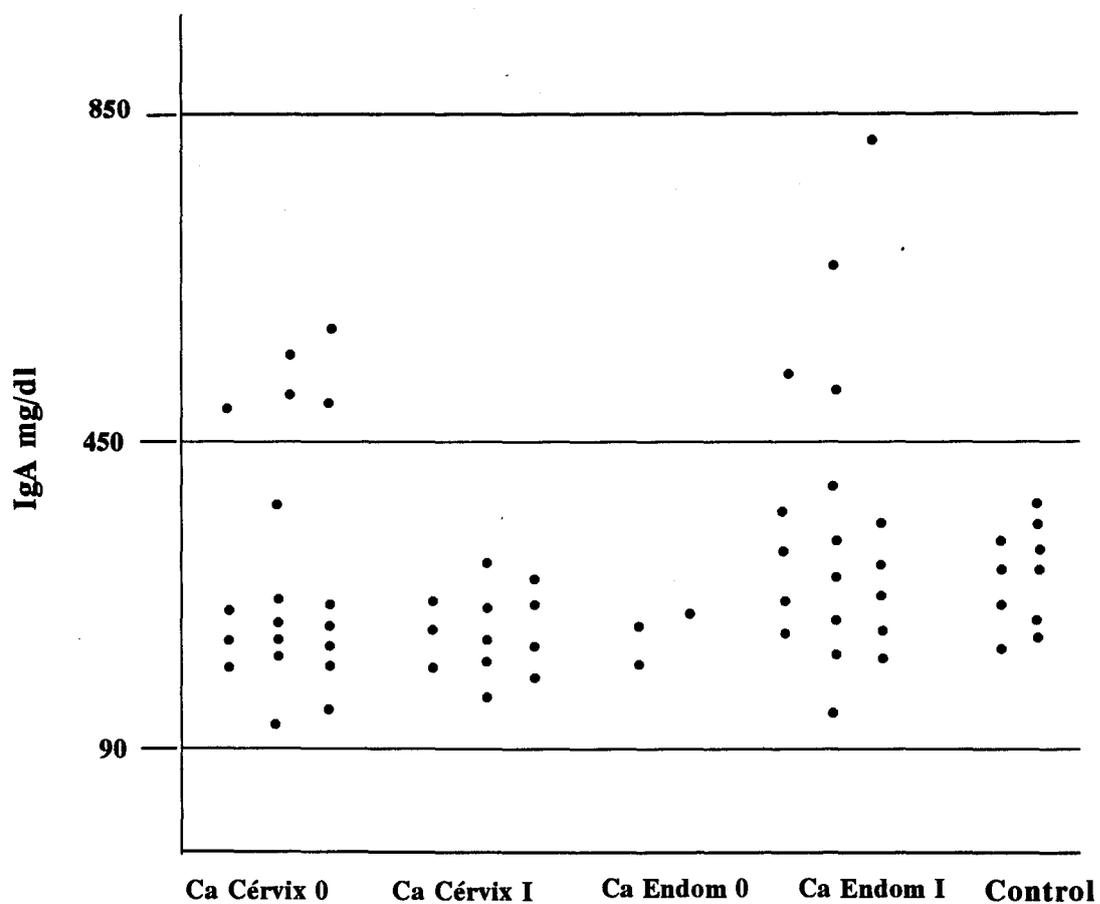


FIG 4.17: CONCENTRACION INICIAL DE IgA

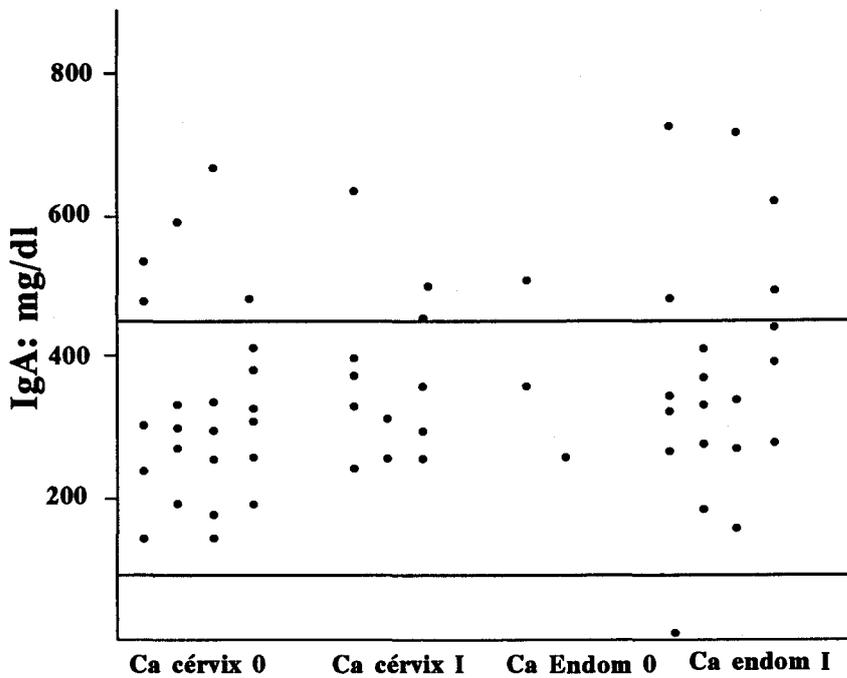


FIG 4.18: CONCENTRACION DE IgA POSTRATAMIENTO

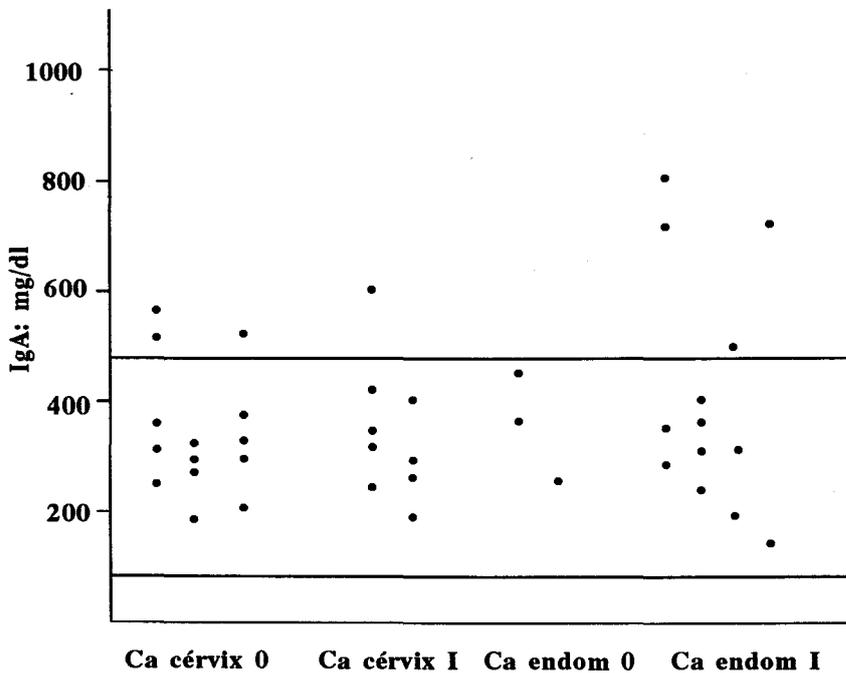


FIG 4.19: CONCENTRACION DE IgA EN EL ULTIMO CONTROL

RESULTADOS

		Ca Cérvix 0			Ca Cérvix I			Ca Endomet 0			Ca Endomet I		
		* PRE	** POS	*** U.C.	PRE	POS	U.C.	PRE	POS	U.C.	PRE	POS	U.C.
Ca Cérvix 0	PRE			N.S									
	POS	N.S											
	U.C.		N.S										
Ca Cérvix I	PRE	N.S					N.S						
	POS		N.S		N.S								
	U.C.			N.S		N.S							
Ca endom 0	PRE	N.S								N.S			
	POS		N.S					N.S					
	U.C.			N.S					N.S				
Ca endom I	PRE				N.S			N.S					N.S
	POS					N.S			N.S		N.S		
	U.C.						N.S			N.S		N.S	
Control		N.S			N.S			N.S			N.S		

TABLA 4.29: RESULTADOS COMPARATIVOS DE LA Iga

**Pre: Antes del tratamiento*

***Pos: Después del tratamiento*

****U.C: Último control*

RESULTADOS**TABLA 4.30: CONCENTRACION DE IgM EN EL CARCINOMA DE CERVIX (mg/ml)**

		MEDIA	D.S	MIN	MAX
Estadío preinvasivo:	*Pre	202	88,8	149	456
	**Pos	260	104	109	464
	***U.C	237	72,4	120	355
Estadío invasivo:	Pre	174	74,3	63	375
	Pos	262	116	26	394
	U.C	229	66,5	165	362

Pre: previo al tratamiento; ** Pos: posterior al tratamiento;* U.C: último control*

TABLA 4.31: CONCENTRACION DE IgM EN EL CARCINOMA DE ENDOMETRIO

		MEDIA	D.S	MIN	MAX
Estadío preinvasivo:	*Pre	181	45,6	104	185
	**Pos	202	80,3	187	333
	***U.C	225	52,7	188	292
Estadío invasivo:	Pre	200	233	64	1080
	Pos	284	371	56	1489
	U.C	221	266	65	1120

Pre: previo al tratamiento; ** Pos: posterior al tratamiento;* U.C: último control*

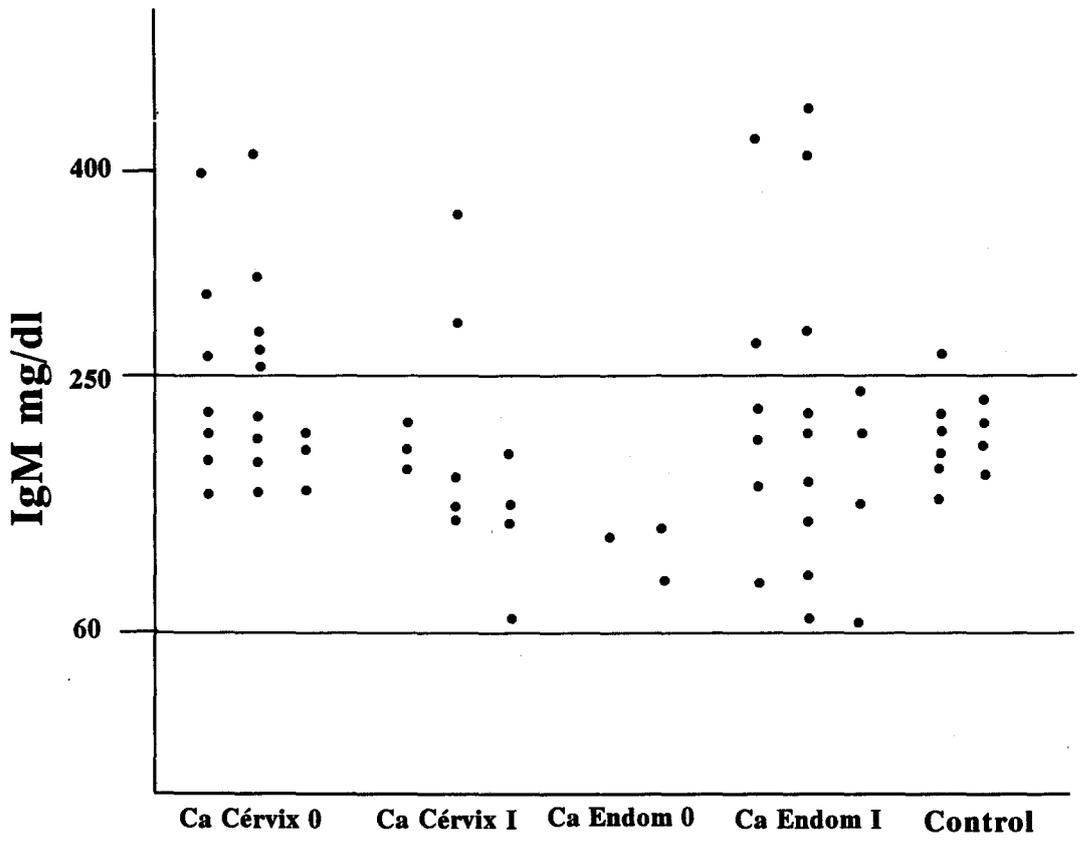


FIG 4.20: CONCENTRACION INICIAL DE IgM

RESULTADOS

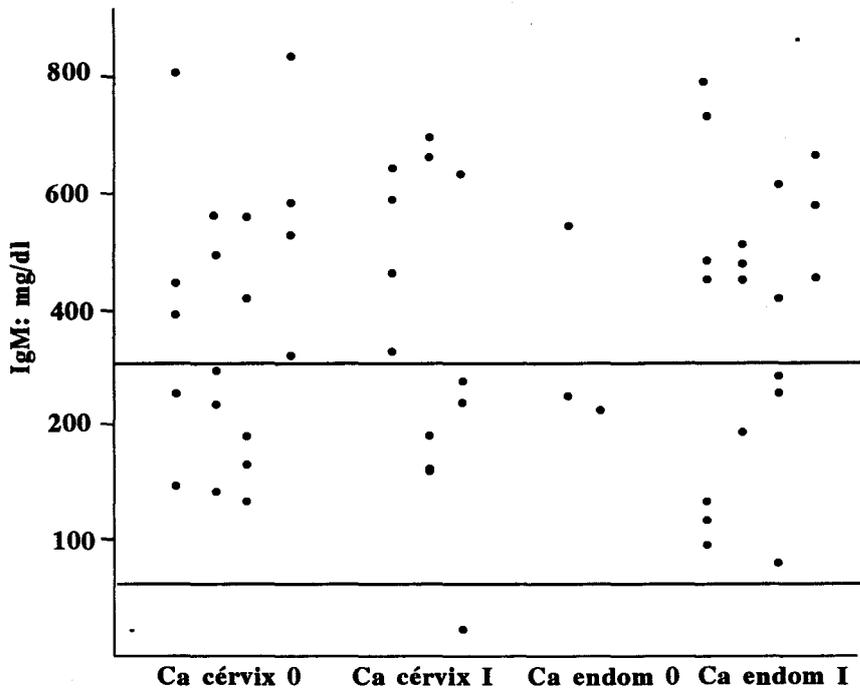


FIG 4.21: CONCENTRACION DE IgM POSTTO

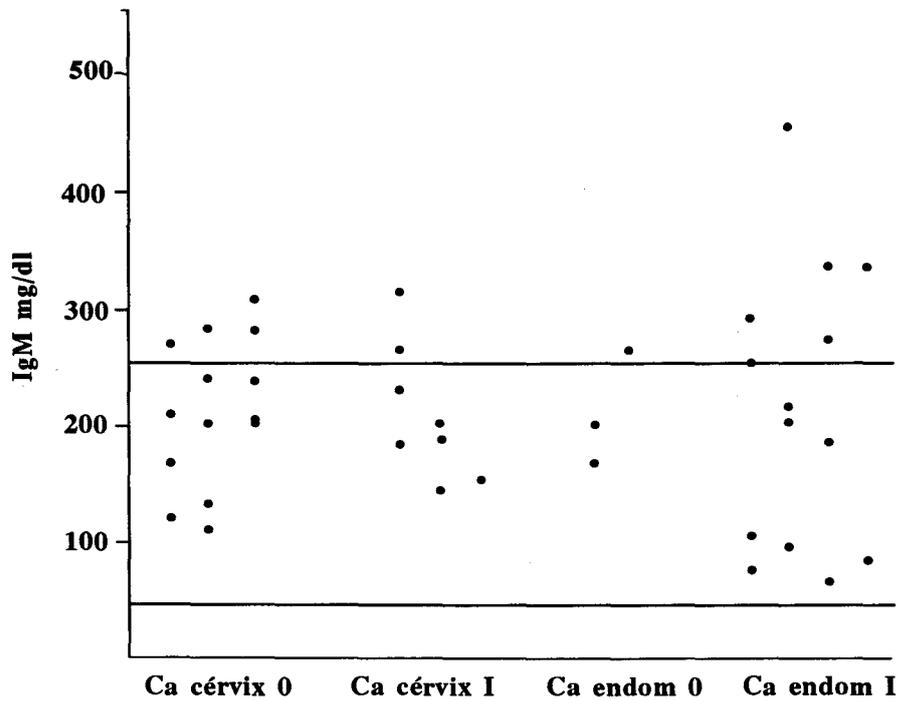


FIG.4.22: CONCENTRACION DE IgM EN EL ULTIMO CONTROL

RESULTADOS

		Ca Cérvix 0			Ca Cérvix I			Ca Endomet 0			Ca Endomet I		
		* PRE	** POS	*** U.C.	PRE	POS	U.C.	PRE	POS	U.C.	PRE	POS	U.C.
Ca Cérvix 0	PRE			N.S									
	POS	N.S											
	U.C.		N.S										
Ca Cérvix I	PRE	N.S					N.S						
	POS		N.S		N.S								
	U.C.			N.S		N.S							
Ca endom 0	PRE	N.S								N.S			
	POS		N.S					N.S					
	U.C.			N.S					N.S				
Ca endom I	PRE				N.S			N.S					N.S
	POS					N.S			N.S		N.S		
	U.C.						N.S			N.S		N.S	
Control		N.S			N.S			p<0,05			N.S		

TABLA 4.32: RESULTADOS COMPARATIVOS DE LA IgM

*Pre: Antes del tratamiento

**Pos: Después del tratamiento

***U.C: Ultimo control

B.7.-Concentración de C3 Y C4.

La valoración de la concentración sérica de los componentes C3 y C4 del complemento, se ha realizado mediante anticuerpos monoclonales frente a estas proteínas y señala un rango de valores normales entre 20 a 50 mg /dl para el C4.

Los resultados hallados por nosotros a lo largo de los tres años de seguimiento, demuestran que los valores de C3 se encuentra dentro de los límites normales en todas las series estudiadas a excepción de un 21% de las pacientes con adenocarcinoma de endometrio (FIGS 4.23, 4.24 y 4.25) (TABLAS 4.33 y 4.34).

Sin embargo, las pacientes con neoplasia invasiva (cervicales y endometriales) presentaron concentraciones elevadas de C3 en los controles efectuados después de haber sido tratadas, en una proporción de 1 33-36% .

Al estudiar la concentración de C4 en los diferentes grupos del ensayo, hemos observado valores superiores a los normales en todas las series antes del tratamiento, en una proporción que osciló entre un 16% de las pacientes con carcinoma invasivo de cérvix y un 42% de las pacientes con adenocarcinoma invasivo de endometrio. Esta proporción se elevó al 42 y 59% respectivamente, después de haber sido tratadas (FIG 4.26, 4.27 y 4.28) (TABLAS 4.36 y 4.37).

RESULTADOS

Los resultados comparativos de los valores del C3 entre los dos tipos histológicos, los dos estadios y los casos control en las diferentes etapas del estudio, desde el punto de vista estadístico demuestran que la hipótesis nula establecida no ha sido aceptada al comparar los valores obtenidos en los casos de carcinoma de cérvix en estadio 0 y en estadio I, después de haberles aplicado el tratamiento, observándose valores inferiores en las pacientes con carcinoma preinvasivo ($p < 0,01$) (TABLA 4.35).

También hemos encontrado diferencias significativas al comparar los niveles iniciales de C3 con los obtenidos después de ser tratadas las pacientes con neoplasia cervical invasiva, evidenciándose niveles superiores después del tratamiento ($p < 0,05$) (TABLA 4.35).

El estudio estadístico de las concentraciones de C4, prueban que la hipótesis nula establecida fué rechazada al comparar los valores de C4 en los dos grupos histológicos de carcinoma en estadio preinvasivo, en el último control efectuado siendo superiores las concentraciones observadas en las neoplasias endometriales ($p < 0,05$).

Tampoco fué aceptada la hipótesis nula comparando las cifras de C4 observadas en los casos de adenocarcinoma de endometrio en estadio preinvasivo y en estadio invasivo al final del estudio, apreciándose cifras superiores en el estadio preinvasivo ($p < 0,05$) (TABLA 4.38)

RESULTADOS

Finalmente ,hemos encontrado diferencias significativas, al comparar los niveles de C4 presentados por las pacientes con carcinoma cervical en estadio I antes del tratamiento y al término del seguimiento,siendo inferiores los valores de las determinaciones iniciales($p < 0,05$). (TABLA 4.38).

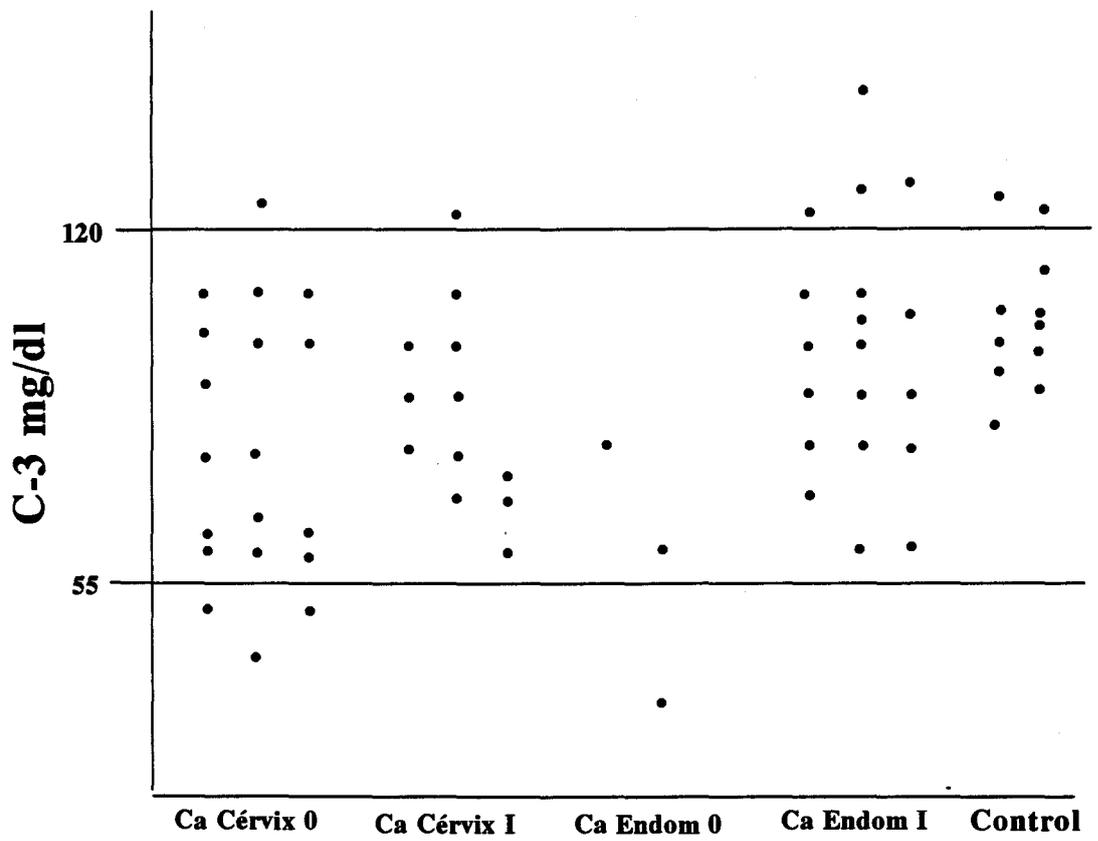


FIG 4.23: CONCENTRACION INICIAL DE C-3

RESULTADOS

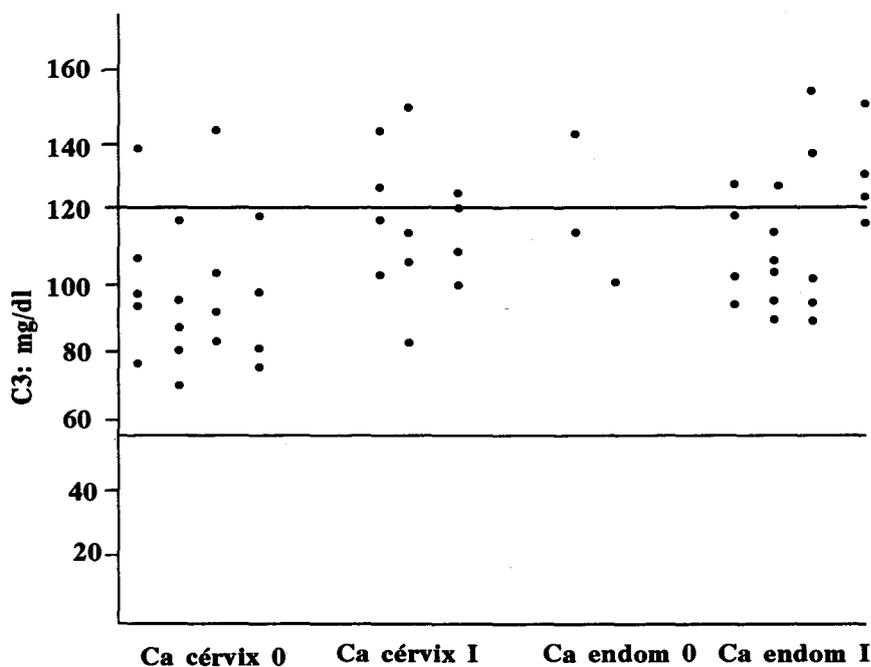


FIG 4.24: CONCENTRACION DE C3 DESPUES DEL TRATAMIENTO

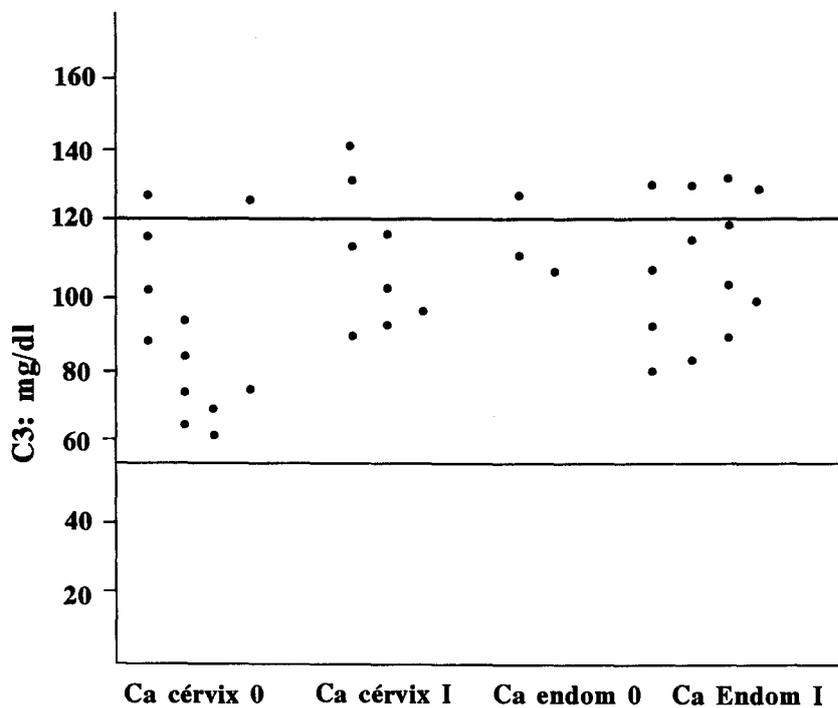


FIG 4.25: CONCENTRACION DE C3 EN EL ULTIMO CONTROL

RESULTADOS**TABLA 4.33: CONCENTRACION DE C3 EN EL CARCINOMA DE CERVIX (mg/ml)**

		MEDIA	D.S	MIN	MAX
Estadío preinvasivo:	*Pre	84	23,5	46,5	121
	**Pos	91	21,3	64,6	141
	***U.C	172	30,5	60,5	118
Estadío invasivo:	Pre	90	20	51,4	123
	Pos	112	20,1	76	149
	U.C	108	18,7	90,4	140

Pre: previo al tratamiento; ** Pos: posterior al tratamiento;* U.C: último control*

TABLA 4.34: CONCENTRACION DE C3 EN EL CARCINOMA DE ENDOMETRIO

		MEDIA	D.S	MIN	MAX
Estadío preinvasivo:	*Pre	80,1	12,3	68,6	93,2
	**Pos	115	23,1	94,3	140
	***U.C	115	11,8	108	129
Estadío invasivo:	Pre	105,3	40,7	65	218
	Pos	112	19,4	84,3	153
	U.C	105	17,6	77,9	129

Pre: previo al tratamiento; ** Pos: posterior al tratamiento;* U.C: último control*

RESULTADOS

		Ca Cérvix 0			Ca Cérvix I			Ca Endomet 0			Ca Endomet I		
		* PRE	** POS	*** U.C.	PRE	POS	U.C.	PRE	POS	U.C.	PRE	POS	U.C.
Ca Cérvix 0	PRE			N.S									
	POS	N.S											
	U.C.		N.S										
Ca Cérvix 1	PRE	N.S					N.S						
	POS		p<0,01		p<0,01								
	U.C.			N.S		N.S							
Ca endom 0	PRE	N.S							N.S				
	POS		N.S					N.S					
	U.C.			N.S					N.S				
Ca endom 1	PRE				N.S			N.S					N.S
	POS					N.S			N.S		N.S		
	U.C.						N.S			N.S		N.S	
Control		N.S			N.S			N.S			N.S		

TABLA 4.35: RESULTADOS COMPARATIVOS DEL C3

*Pre: Antes del tratamiento

**Pos: Después del tratamiento

***U.C: Ultimo control

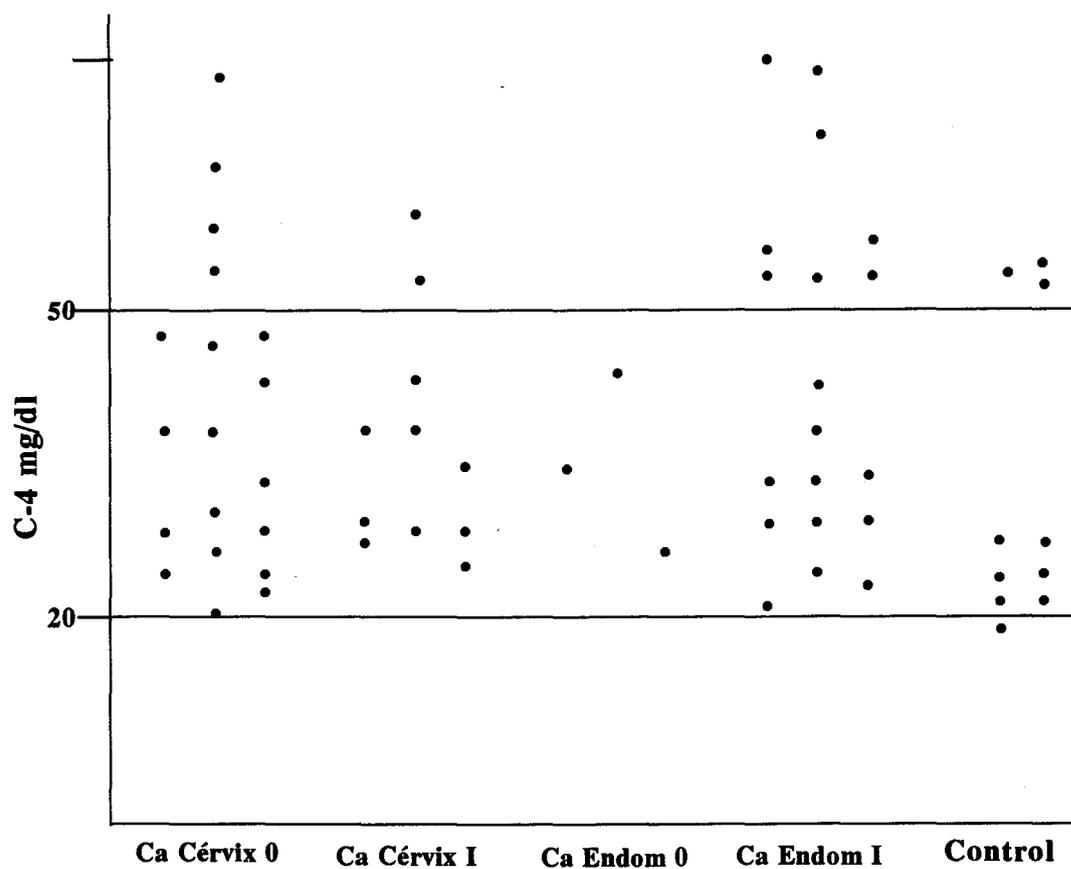


FIG.4.26: CONCENTRACION INICIAL DE C-4

RESULTADOS

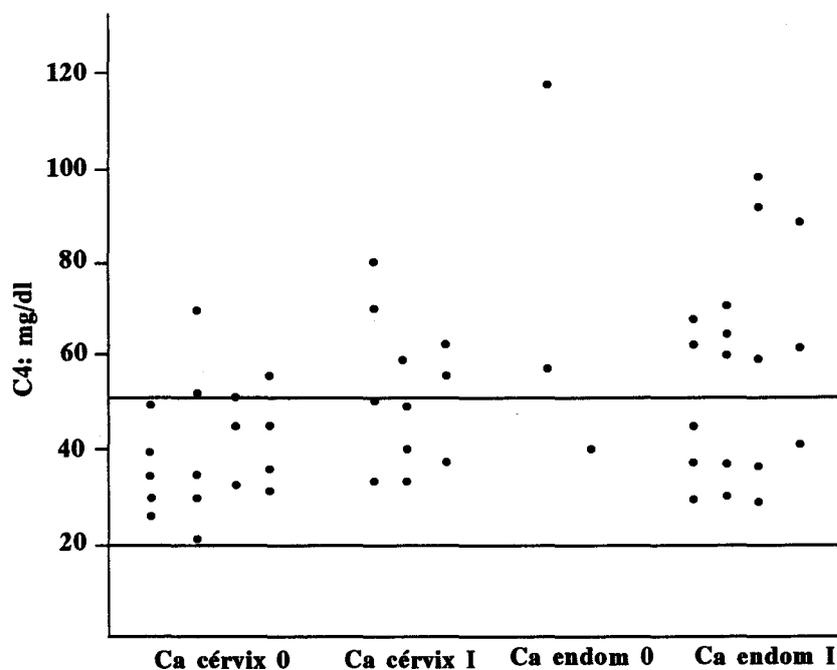


FIG 4.27: CONCENTRACION DE C4 DESPUES DEL TRATAMIENTO

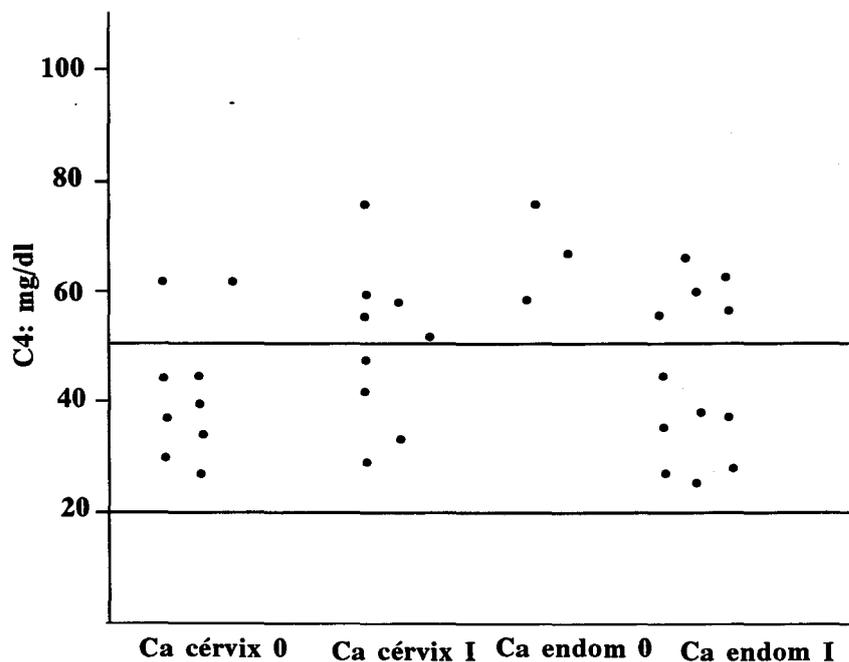


FIG 4.28: CONCENTRACION DE C4 EN EL ULTIMO CONTROL

RESULTADOS**TABLA 4.36: CONCENTRACION DE C4 EN EL CARCINOMA DE CERVIX (mg/ml)**

		MEDIA	D.S	MIN	MAX
Estadío preinvasivo:	*Pre	43,88	29,1	20,5	148
	**Pos	37,01	12,2	18	67
	***U.C	37,2	16,2	17,8	71,3
Estadío invasivo:	Pre	37,5	11,9	22,4	63,1
	Pos	46,9	15,7	28,7	77,2
	U.C	51,3	15,1	31	77

Pre: previo al tratamiento; ** Pos: posterior al tratamiento;* U.C: último control*

TABLA 4.37: CONCENTRACION DE C4 EN EL CARCINOMA DE ENDOMETRIO

		MEDIA	D.S	MIN	MAX
Estadío preinvasivo:	*Pre	36,1	8,5	27,4	44,4
	**Pos	68,1	41,2	37,5	115
	***U.C	67,1	9,8	57,1	76,8
Estadío invasivo:	Pre	46,7	22,3	20,2	97,5
	Pos	53,7	23,2	24,4	95,1
	U.C	42,8	14,3	21,7	63

Pre: previo al tratamiento; ** Pos: posterior al tratamiento;* U.C: último control*

RESULTADOS

		Ca Cérvix 0			Ca Cérvix I			Ca Endomet 0			Ca Endomet I		
		* PRE	** POS	*** U.C.	PRE	POS	U.C.	PRE	POS	U.C.	PRE	POS	U.C.
Ca Cérvix 0	PRE			N.S									
	POS	N.S											
	U.C.		N.S										
Ca Cérvix I	PRE	N.S					p<0,05						
	POS		N.S		N.S								
	U.C.			N.S		N.S							
Ca endom 0	PRE	N.S								N.S			
	POS		N.S					N.S					
	U.C.			p<0,05					N.S				
Ca endom I	PRE				N.S			N.S					N.S
	POS					N.S			N.S		N.S		
	U.C.						N.S			p<0,05		N.S	
Control		N.S			N.S			N.S			N.S		

TABLA 4.38: RESULTADOS COMPARATIVOS DEL C4

*Pre: Antes del tratamiento

**Pos: Después del tratamiento

***U.C: Último control

2.8.- Pruebas cutáneas de hipersensibilidad retardada

Al evaluar las pruebas cutaneas de hipersensibilidad retardada (PCHR) hemos considerado como reactividad positiva, la evidencia de respuesta a dos o más de los siete antígenos aplicados .

Hemos relacionado la reactividad inicial de las PCHR y el estadio de la enfermedad y hemos encontrado que no existen diferencias significativas al comparar la respuesta de los casos control con la de las pacientes con neoplasia.($p=0,16$) (TABLA 4.33).

Estudiando la correlación existente entre la respuesta de las PCHR de las pacientes con carcinoma epidermoide de cérvix y las pacientes con adenocarcinoma de endometrio, hemos rechazado la hipótesis nula, debido a la existencia de diferencias significativas ($p<0,01$) (TABLA 4.34).

Finalmente, hemos evaluado la reactividad secuencial de las PCHR y el curso clínico de la enfermedad neoplásica y hemos observado que existe una buena relación entre las variaciones de la reactividad inmunológica y la evolución de la enfermedad (TABLA 4.35)

RESULTADOS**TABLA 4.39 : Correlación inicial de la PCHR y el estadio de la enfermedad**

Pacientes	Nº	PCHR positiva	PCHR negativa
Controles	10	7 (70%)	3 (30%)
Ca preinvasivo	22	16 (72,7%)	6 (27,3%)
Ca estadio I	31	15 (48,3%)	16 (51,6%)

N.S

TABLA 4.40 : Correlación inicial de la PCHR con el tipo histológico del tumor

Tipo histológico	Nº	PCHR positiva	PCHR negativa
Epidermoide de cervix	31	24 (77,4%)	7 (22,6%)
Adenocarcinoma endometrial	22	7 (31,8%)	15 (68,2%)

p<0,001

RESULTADOS**TABLA 4.41: Reactividad secuencial de las PCHR y curso clínico de la neoplasia**

Reactividad secuencial	Nº de pacientes	Curso clínico	
		Favorable	Desfavorable
Positivo o negativo			
a positivo	41	40 (97,6%)	1 (2,4%)
Positivo a negativo ó			
persistentemente negativo	12	9 (75%)	3 (25%)

p<0,05

V. DISCUSSION

Las enfermedades neoplásicas son desde hace décadas un importante reto para el campo de la investigación, motivado por el aumento en la frecuencia de las mismas, el desconocimiento de su etiología y el mal pronóstico que tienen la mayoría de ellas.

El cáncer es una cuestión de salud mundial de primer orden. Es la segunda causa de muerte en los países desarrollados, solo por detrás de las enfermedades cardiovasculares.

Pese a los grandes esfuerzos realizados tanto por parte de oncólogos clínicos como de investigadores, el problema del cáncer permanece sin resolver. Sin embargo, las recientes técnicas de biología molecular que han permitido el descubrimiento de los oncogenes, abre una ventana hacia la etiología de las enfermedades neoplásicas y un hábito de esperanza hacia futuras estrategias de tratamiento.

Como dice Mitsudomi,¹⁸⁰ (uno de los pioneros en la investigación de los oncogenes) en 1949 se estableció la clasificación TNM en el diagnóstico de extensión del cáncer. En la década de los noventa cabe añadir a dicha clasificación la G significando el valor de los genes y sus mutaciones en el pronóstico y tratamiento del cáncer.

Otros avances fundamentales lo constituyen: la Tecnología de los Hibridomas, que a través de la producción de anticuerpos monoclonales son capaces de reconocer los antígenos asociados a los tumores en el suero de los pacientes, resultando de gran utilidad diagnóstica. Pero además, los anticuerpos monoclonales tienen otras múltiples

utilidades ya que pueden ser inyectados en el torrente sanguíneo marcados con isótopos radioactivos y localizar mínimas cantidades de masa tumoral o bien, pueden utilizarse conjugados a drogas citotóxicas para su transporte directo y específico hasta la célula tumoral¹⁷⁴ .

La administración de linfocitos T efectores específicos, clonados mediante la Ingeniería Celular y cultivados con IL2 , han demostrado ser de gran utilidad terapéutica por su efecto antitumoral.

Finalmente la identificación de los llamados Agentes Inmunomoduladores (agentes inmunoestimulantes, linfoquinas, factores tímicos, etc.) tiene un gran interés por su capacidad para modificar la respuesta biológica del huésped frente a la célula tumoral¹⁸¹ .

Sin embargo, a pesar de estos importantes avances biotecnológicos, la gran complejidad de factores implicados en las interacciones huésped-tumor, hace que el problema del cáncer siga vigente y constituya una desafiante tarea a la que tanto investigadores como clínicos deben contribuir de alguna forma .

Nosotros, como ya hemos señalado anteriormente en el apartado de Material y Método, hemos realizado un estudio clínico y un estudio inmunológico en 53 pacientes con los dos tipos de carcinomas ginecológicos más frecuentes como son el carcinoma epidermoide de cérvix y el adenocarcinoma de endometrio y nuestros resultados previamente expuestos, son los que a continuación pasamos a discutir:

ESTUDIO CLINICO.

A.-Carcinoma de cérvix

El carcinoma epidermoide de cérvix ocupa el segundo lugar en frecuencia entre los tumores malignos del aparato genital femenino. Según la OMS, la incidencia de cáncer de cuello es de alrededor de 500.000 casos por año. En algunos países la incidencia de este cáncer se ha mantenido estable durante los últimos años, pero las lesiones precursoras se encuentran en claro aumento¹⁸².

A.1.-Factores epidemiológicos

Aunque la incidencia más alta de carcinoma in situ en la mayoría de las series publicadas se estima entre los 35 y 40 años, las estadísticas publicadas en los últimos años estiman que un 55% de los casos de carcinoma in situ se diagnostica en mujeres menores de 35 años y un 20% en menores de 25 años¹⁸³. La edad media de la pacientes con carcinoma de cérvix entre las pacientes de nuestro estudio ha sido de 41,9 años en los casos de estadio preinvasivo (algo superior a la media general) y de 45,5 años para el estadio invasivo.

Otro de los factores considerados de riesgo para este carcinoma es la edad de comienzo de las relaciones sexuales y el tabaquismo . Entre nuestras pacientes un 32% tuvieron su primer coito antes de los 20 años y un 25,8% eran fumadoras.

Está aceptado que el carcinoma de cérvix es evitable en el 90% de los casos ya que las lesiones intraepiteliales preceden a la transformación maligna aunque todavía no sabemos en que proporción. Pero estas lesiones no se acompañan de sintomatología clínica. Por eso es importante destacar que la mayoría de las pacientes de nuestro estudio (64,4%) han sido diagnosticadas en el transcurso de un control rutinario en la consulta de planificación familiar o en la consulta de Obstetricia.

Sin embargo, entre los factores epidemiológicos responsables de este tipo de neoplasia el más estudiado actualmente y el que más interés despierta, es la infección por HPV. Diversos autores¹⁸⁴ estiman que un 90% de muestras tumorales contienen genomas del HPV (incluyendo las cepas 16, 18, 31, 33, 35 o 39). Nosotros hemos encontrado una incidencia del 35,4% de collocitos sugestivos de infección por HPV en las biopsias de las pacientes del estudio.

En recientes investigaciones se ha observado que diversos oncogenes están implicados en la patogénesis del cáncer cervical. Riou y col¹⁸⁵ han descubierto una sobreexpresión del oncogén c-myc en cánceres cervicales avanzados y de rápida progresión. Ellos consideran que la sobreexpresión del c-myc multiplica por seis el riesgo

de metástasis a distancia. Aunque por ahora estos avances no son aplicables de forma rutinaria, nuevos progresos en el campo de la biología molecular pueden hacer posible la identificación de pacientes de alto riesgo ¹⁸⁶.

A.2.-Parámetros clínicos

Como ya hemos referido anteriormente un 64,4% de las pacientes eran asintomáticas y un 35,4% presentaban metrorragia y /o leucorrea. De estos datos se deriva la importancia que para la casi total erradicación de esta neoplasia, teóricamente posible, tiene el despistaje en poblaciones de riesgo.

A.3.-Exploración clínica

La exploración clínica en las pacientes con estadios pre o microinvasivos es frecuentemente normal. Solo en los casos de estadio invasivo encontramos lesiones macroscopicamente sospechosas, en el 16% se trataba de una lesión exofítica y en un 12,9% encontramos lesión endofítica.

A.4.-Pruebas complementarias

El frotis cérvico vaginal, la colposcopia y la biopsia dirigida son los tres pilares en los que se basa el diagnóstico precoz del carcinoma de cuello uterino. Sin embargo y como dice Koss ¹⁸⁷, el diagnóstico precoz del cáncer de cérvix no ha permitido erradicar la enfermedad en ninguna de las poblaciones estudiadas hasta hoy. Esto es debido a errores por parte de médicos, pacientes y laboratorio que favorecen la aparición de falsos negativos y que actualmente se encuentra entre el 5 y el 40% con una media establecida en el 15%¹⁸⁸. En nuestro estudio el frotis ha tenido una sensibilidad del 100% ya que no hemos obtenido ningún falso negativo. En la colposcopia la incidencia de falsos negativos ha sido de un 16,1%,(superior a otros autores que obtienen un 12%) y en la biopsia dirigida de un 3,3%. Por consiguiente, el método que nos ha ofrecido mayor sensibilidad ha sido la citología triple toma.

El legrado endocervical especialmente indicado en pacientes con diagnóstico citológico positivo e imagen colposcópica normal o biopsia normal o no representativa, lo hemos efectuado en un 29% de nuestras pacientes obteniendo un 22,2% de falsos negativos. La ecografía no resulta un método eficaz para el diagnóstico de esta neoplasia en estadio precoz . Nosotros hemos observado imágenes sospechosas en un 15,7% de los casos de carcinoma invasivo.

En las pruebas analíticas rutinarias iniciales y como dato de interés hay que destacar que hemos observado una linfopenia del 11,3% en el conjunto de nuestras pacientes y aunque no hemos analizado las poblaciones linfocitarias, este dato nos hace sospechar que puede existir una alteración en las mismas.

A.5.- Tratamiento.

En las pacientes con carcinoma de cérvix en estadio preinvasivo hemos realizado como tratamiento de elección una biopsia en cono en 14 de los 19 casos del estudio. Desde que disponemos de Laser de CO2 hemos empleado esta técnica sin haber apreciado complicaciones en el postoperatorio inmediato o tardío. Un 21,4% de estas conizaciones presentaron márgenes afectados en el estudio histológico siendo esta proporción inferior a la de otras series publicadas que señalan una incidencia entre el 26 y el 35% con una cifra promedio del 30%¹⁸⁸. En las pacientes con neoplasia invasiva realizamos histerectomía total con anexectomía bilateral, colpectomía parcial y biopsia ganglionar en el 75% de los casos. En el 25% restante se practicó histerectomía radical según técnica de Wertheim-Meigs. Del total de pacientes con neoplasia cervical dos pacientes recidivaron a lo largo del estudio. En un caso se trataba de un carcinoma en estadio Ib y el otro corresponde a una paciente con carcinoma preinvasivo a quien por haber terminado su etapa reproductiva se le practicó una histerectomía total con doble anexectomía y que en el estudio anatomopatológico de la pieza no presentaba afectación de los márgenes.

B.- Adenocarcinoma de endometrio

El cáncer endometrial es el tipo de neoplasia del aparato genital femenino más frecuente. Durante la primera mitad del siglo veinte la incidencia de cáncer cervical fué mayor que la de endometrio en una proporción de tres a uno. Esta proporción se invirtió en la segunda mitad del siglo y el cáncer de endometrio ahora es más común que el cervical con el mismo margen de tres a uno¹⁸⁹.

B.1.-Factores epidemiológicos

El pico de incidencia del adenocarcinoma de endometrio es a los 58-60 años, aproximadamente 10 años después que las lesiones precursoras. El 75% de estos tumores se produce en mujeres postmenopaúsicas¹⁹⁰. La edad media de nuestras pacientes fué de 64,3 años, siendo de 49,3 para los casos preinvasivos y de 66,6 para los estadios invasivos.

La obesidad, la diabetes, la hipertensión, la anovulación crónica y la menopausia tardía son considerados factores de riesgo para la neoplasia endometrial. Según Ferenczy y Parazizini¹⁹¹ el riesgo relativo de carcinoma de endometrio según su experiencia es de 10-30 % para la hiperplasia adenomatosa, del 4-30% para la terapia hormonal sustitutiva, del 3-10% para la obesidad, del 7% para la irradiación pélvica previa, del 3%

para la edad avanzada, del 2-5% para la nuliparidad, del 2-4% para la menopausia tardía y del 1-2% para el cáncer de mama. Entre nuestras pacientes el 13,6% eran nulíparas, 36,3% tuvieron la menopausia después de cumplir los 52 años, el 81,8% eran obesas, el 72,7% hipertensas y el 13,6% diabéticas. Ninguna había recibido terapia hormonal previamente ni tampoco había sido radiada.

Diversos autores encuentran una relación inversa entre esta neoplasia y el tabaquismo¹¹, el uso de anticonceptivos orales¹² y el DIU¹³. Nosotros no encontramos fumadoras en nuestro grupo de pacientes y como método anticonceptivo habían practicado el coito interrumpido o bien métodos de barrera.

B.2.-Parámetros clínicos

Todas nuestras pacientes con adenocarcinoma invasivo presentaron metrorragia postmenopáusica .En una serie publicada por Hawwa ¹⁴ sobre pacientes con metrorragia postmenopausica el 16%, 28% y 60% pertenecían a grupos de edad entre 60-69 años , 70-79 años y más de 80 años respectivamente; es decir, la edad de las pacientes que presentan metrorragia postmenopáusica está directamente relacionada con el carcinoma de endometrio.

B.3.- Exploración clínica

La exploración clínica suele ser normal y con frecuencia poco precisa por la obesidad de las pacientes. En ciertos casos puede observarse la expulsión de material necrótico desprendido a través del cuello. Nosotros observamos un aumento del tamaño uterino en el 28,5% de los casos.

B.4.-Pruebas Complementarias

La citología triple toma tiene muy poca efectividad para el diagnóstico del carcinoma de endometrio. Aunque hay autores como Ramzy¹⁵ que obtiene un 50% de positivities , nosotros solo hemos encontrado 8,3%.

Con la toma de endometrio encontramos un 50% de falsos negativos mientras que Stoal y otros observadores ¹⁶ obtienen una sensibilidad del 97,5% y opinan que es un método diagnóstico que ofrece gran seguridad. Para nosotros, el legrado fraccionado fué el método más fiable ya que no observamos ningun falso negativo, pero tiene el inconveniente que necesita anestesia general

La ecografía es un método relativamente nuevo para el diagnóstico del carcinoma de endometrio. Según Granberg et al ¹⁷ que estudiaron una amplia serie de mujeres con metrorragia postmenopaúsica, en las pacientes cuyo endometrio medía menos de 9 mm

de espesor no se comprobó malignidad en el tejido obtenido en el legrado biopsia. El espesor medio del endometrio para los casos de cáncer fué de $18,2 \pm 6,2$ mm. Estos autores opinan que si el legrado biopsia se realizara cuando el espesor endometrial es mayor de 5mm se evitarían un 70% de ellos y que la ecografía tiene un valor predictivo del 87%. Nosotros hemos obtenido un 63,6% de resultados positivos, aunque hay que destacar que en los dos primeros años del estudio no disponiamos de sonda vaginal.

Para nosotros por tanto, el legrado fraccionado fué el método más sensible para el diagnóstico del adenocarcinoma de endometrio seguido de la ecografía.

B.5.-Tratamiento

En todas las pacientes se realizó tratamiento quirúrgico. Las pacientes con invasión de más de la mitad del miometrio (59%) se les aplicó radioterapia externa mediante acelerador lineal de electrones y braquiterapia con Cs^{137} . La mayoría de los cánceres endometriales son curables, pero existen una serie de tumores con una virulencia especial que es preciso reconocer. Los factores que se consideran de mal pronóstico son: el grado del tumor, la ploidía, los receptores hormonales negativos, la invasión miometrial, el estado de los ganglios linfáticos, extensión extrauterina del tumor citología del lavado peritoneal positiva y ciertos tipos de tumor como los papilares y los de células claras.¹⁸ Dos de nuestras pacientes presentaron recidiva y ambas mostraban neoplasia de grado III.

ESTUDIO EXPERIMENTAL

1.-Expresión antigénica de las células tumorales

En el estudio inmunológico efectuado a este grupo de pacientes hemos investigado en primer lugar, la expresión antigénica del carcinoma epidermoide de cuello y del adenocarcinoma de endometrio.

La exploración inmunológica de los tumores tiene como fin primordial la detección de antígenos de las células neoplásicas. El principal problema con que nos encontramos es que a pesar de las innumerables investigaciones sobre el tema y de los avances tecnológicos logrados, todavía no se han conseguido detectar en el hombre, antígenos específicos de un tumor en general o patognomónico de un tipo determinado de neoplasia.

No obstante, existen diversos antígenos que pueden indicar la presencia de un determinado tipo de cáncer. Así, está bien documentado el hallazgo de la subunidad beta de la gonadotropina coriónica humana en los tumores trofoblásticos y en neoplasias de células germinales del testículo y del ovario, la alfa-fetoproteína en los hepatocarcinomas, o el antígeno específico prostático en los pacientes con cáncer de próstata.

Dentro de los tumores ginecológicos, son las neoplasias de ovario las que tienen una expresión antigénica más evidente. Sin embargo, el adenocarcinoma de endometrio y el carcinoma epidermoide de cérvix también manifiestan antígenos tumorales y a pesar de su inespecificidad, es bien conocido que la determinación conjunta de varios de ellos aumenta la sensibilidad para la detección del tumor.

Por ello hemos estudiado los antígenos que considerados más representativos en estos dos tipos de cáncer: el antígeno carcinoembrionario o CEA, el Ca-125 y el antígeno de células esmosas o SCC.

ANTIGENO CARCINOEMBRIONARIO.

El CEA es una proteína oncofetal; se produce en una gran cantidad de cánceres de origen epitelial que son las neoplasias más frecuentes. Principalmente son los tumores del aparato digestivo, pulmón y tiroides los que presentan un mayor porcentaje de elevación del antígeno carcinoembrionario⁷⁶.

El CEA es una molécula heterogénea, está constituida por hidratos de carbono en sus dos terceras partes y por una cadena polipeptídica en donde radican sus determinantes antigénicos y que representa un tercio de la molécula, aunque esta relación puede variar según los diferentes tipos de tumores²¹⁸.

Thompson y Zimmermann²¹⁹, han logrado identificar y describir recientemente a la familia de genes del CEA en el brazo largo del cromosoma 19; consisten en 20 genes con una gran diversidad en su actividad transcripcional

En los cánceres del aparato genital, diversos autores²²⁰ citan una elevación en el 43% de los de cérvix y cuerpo uterino, en el 50% de los de mama y en el 31% de los de ovario.

En las pacientes con carcinoma epidermoide de cérvix estudiadas por nosotros en estadio preinvasivo y en estadio I, hemos encontrado valores normales de CEA (inferiores a 5 ng /ml), tanto en las determinaciones iniciales como en las obtenidas después de efectuado el tratamiento y a lo largo de las sucesivas fases del estudio. Estos niveles han sido comparables a los observados en las determinaciones efectuadas a las pacientes sin patología maligna seleccionadas como grupo control. De los resultados obtenidos, podemos afirmar por consiguiente que la sensibilidad de este antígeno para las pacientes con carcinoma cervical en estadio precoz es nula.

Sin embargo, las concentraciones de CEA fueron más elevadas en las pacientes con estadio invasivo que en las pacientes con carcinoma in situ. También observamos cifras superiores en las pacientes con neoplasia cervical en estadio I antes de aplicarles el tratamiento que después del mismo, aunque dentro de límites normales.

Es interesante señalar que los niveles séricos del antígeno carcinoembrionario pueden alterarse por el tabaco y alcanzar cifras de hasta 10 ng /ml en personas fumadoras²²¹. Entre las pacientes con carcinoma cervical estudiadas por nosotros, un 25,8% consumían más de 10 cigarrillos al día, pero no hemos objetivado que este factor elevara el umbral de CEA en nuestros casos.

Los valores de antígeno carcinoembrionario observados por nosotros en las pacientes con carcinoma de células escamosas de cérvix no coinciden con la mayoría de los trabajos publicados^{222,223}, los cuales aceptan un porcentaje de positividad próximo al 50% para el cáncer ginecológico invasivo. Autores como DiSaia²²² y otros^{223,224}, describen un incremento entre el 43 y el 69% en las neoplasias cervicales, mientras que en diversas publicaciones los porcentajes de positividad varían entre un 15% y un 51%)

El hecho de que nosotros no hallamos obtenido resultados positivos en este grupo de enfermas, puede explicarse porque son pacientes en estadio precoz de la enfermedad, aunque autores como Van Nagell²²⁵ observan valores de CEA elevados en el 25% de las pacientes con carcinoma in situ, sin embargo, otros como Schwartz y cols²²⁶, obtienen niveles similares a los nuestros .

Tampoco hemos encontrado valores positivos en los dos casos de cáncer de cuello uterino que recidivaron, mientras que los resultados de Te Velde²⁶⁷ y otros autores señalan un índice de positividad en las recurrencias de un 16% para estadios precoces y entre un 62 y un 87% para estadios avanzados.

El tamaño limitado de la muestra (solo dos pacientes) hace que nuestros resultados no se puedan considerar significativos.

En las pacientes con adenocarcinoma de endometrio de nuestro estudio, hemos observado niveles normales en los casos de estadio preinvasivo.

Por el contrario, en cuatro de las enfermas con carcinoma endometrial en estadio I encontramos niveles superiores a los límites normales, lo que demuestra que el CEA tiene una sensibilidad del 21% para las pacientes con adenocarcinoma de endometrio en estadio precoz. Estos valores coinciden también con los de Schwartz²²⁶ y cols (23,5%) pero son inferiores a los observados por otros autores^{228,224} (30-37%)

Durante el seguimiento realizado después del tratamiento, los niveles de CEA se mantuvieron normales aunque dos pacientes presentaron recidiva de la enfermedad. Nuestros resultados demuestran por consiguiente, un valor predictivo positivo del 10% y un valor predictivo negativo del 55,5% para las pacientes con adenocarcinoma de endometrio en estadio precoz.

CA-125.

El Ca-125 es una glicoproteína expresada por las células derivadas del epitelio celómico. Es identificado mediante el anticuerpo monoclonal OC 125 que se obtiene por hibridación somática de células esplénicas de ratones inmunizados por una línea celular OVCA 433 de una paciente con cáncer ovárico seroso papilar⁸¹.

Es expulsado desde la superficie celular y sus niveles (normal: 35 U /ml) se encuentran elevados en un 1% de la población normal y en un 6% de pacientes con patología benigna (endometriosis, enfermedad inflamatoria pélvica...) llegando a más del 80% en pacientes con carcinoma epitelial de ovario²²⁹. Es por tanto, un marcador tumoral bastante selectivo, aunque no específico, para este tipo de neoplasia ya que ofrece gran utilidad tanto en el diagnóstico como en la monitorización clínica y en el valor predictivo de las recidivas.

No obstante, los datos clínicos acumulados sugieren que el Ca 125 también es clínicamente útil en otros carcinomas del aparato genital femenino además de las neoplasias ováricas^{85,230}.

Nosotros, no hemos encontrado elevación de los niveles de este antígeno entre las pacientes de nuestro estudio con carcinoma epidermoide de cérvix, ni tampoco en el grupo control, por lo que podemos afirmar junto con Berchuck, Garzetti y otros^{231, 232}

que su expresión es nula en este tipo de neoplasias. Sin embargo, en otros trabajos publicados, se describen valores incrementados en un 13 a un 30% de las pacientes^{323,234}.

En el grupo de las pacientes con adenocarcinoma de endometrio, hemos observado concentraciones elevadas de Ca-125 en un 26,3% de los casos coincidiendo con los valores publicados por diversos autores^{235,236}.

De la información recopilada en numerosos trabajos editados, se desprende que la proporción de pacientes con niveles de Ca-125 elevados está en relación con el estadio de la enfermedad llegando a un 60% en los casos de estadios avanzados²²⁶. Kukura²³⁷, estudiando una serie de pacientes con adenocarcinoma de endometrio observa que cuando el tumor penetra más de 1/3 en la pared del útero, la elevación de los valores de Ca 125 es estadísticamente significativa.

En la monitorización de este antígeno efectuada a las pacientes de nuestro estudio, comprobamos que después del tratamiento todas las pacientes mostraron niveles normales de Ca-125 excepto uno de los dos casos que recidivaron que continuó con valores elevados.

De los resultados obtenidos podemos concretar que en las pacientes con adenocarcinoma de endometrio en estadio precoz, el Ca-125 presenta una sensibilidad del 26,3 %, una especificidad nula, un valor predictivo positivo del 10% y un valor

predictivo negativo del 41,6% por lo que su utilidad para el diagnóstico y pronóstico de esta neoplasia es limitada.

ANTIGENO DEL CARCINOMA DE CELULAS ESCAMOSAS.

El antígeno del carcinoma celular escamoso(SCC) fué aislado por primera vez a partir de un carcinoma celular escamoso del cérvix uterino⁸⁶.

Por métodos inmunohistoquímicos se ha demostrado que el SCC se encuentra en el citoplasma de tejidos normales como el epitelio escamoso del cuello uterino, la vagina, la vulva, el esófago y las vías respiratorias altas ²³⁸. Entre un 1 y un 4% de los adultos sanos presentan un nivel sérico de SCC superior a 2 ng/ml. La causa más frecuente de elevación del nivel del SCC en patología no neoplásica son las dermatosis benignas, fundamentalmente en la psoriasis y el nivel está relacionado con la superficie corporal afectada²³⁹.

En carcinomas derivados de células escamosas sobre todo en los del aparato genital femenino, en los de cabeza y cuello, esófago, pulmón y piel ^{90,91}, el nivel de este antígeno se encuentra elevado en una proporción ostensible de casos.

Entre los carcinomas ginecológicos se han encontrado concentraciones elevadas del SCC en el 51-74% de los carcinomas epidermoides de cérvix y en el 40% de los de

vulva²³¹. Con menor frecuencia también se han observado valores altos en los carcinomas de vagina, endometrio y ovario²²⁰.

Debido a la amplia difusión de la técnica del SCC, se han efectuado numerosos estudios para valorar su utilidad en el diagnóstico, pronóstico y en el seguimiento en pacientes con carcinoma de células escamosas de cuello y vagina.

Aunque hay autores²²⁰ que aseguran que en el carcinoma cervical in situ nunca se alcanzan valores de SCC superiores a 5 ng/ml, nosotros hemos encontrado pacientes con neoplasia preinvasiva que presentan concentraciones de hasta 10 ng/ml y un 10,5% de ellas mostraron niveles superiores al límite normal; Brioschi et al²⁴¹ también lo observan en el 14,3% de sus casos.

En el carcinoma invasivo en estadio I, la incidencia de valores elevados de SCC entre nuestras pacientes fué del 25%, aproximaándose a algunos de los resultados publicados por otros observadores^{241,242} que varían entre un 30 a un 50%. En los estadios avanzados (III y IV) el incremento de los niveles del SCC alcanza una incidencia de hasta un 90%²⁴².

En el primer control efectuado después del tratamiento, los niveles de SCC en las pacientes de nuestro estudio se normalizaron excepto en dos casos que persistieron elevados; en uno de ellos este incremento se mantuvo a lo largo del estudio y al cabo de

unos meses observamos recurrencia de la enfermedad y en el otro el SCC descendió a menos de 2ng /ml al cabo de unos meses.

En la mayoría de las series publicadas²⁴⁵, el incremento de este marcador se produce en más de un 90% de las pacientes, entre 2 a 4 meses antes de que aparezca la recidiva de la neoplasia.

Según Marvo y cols²⁴⁴ el incremento de este antígeno se normaliza en la casi totalidad de los casos en un periodo entre uno y siete días después de la cirugía , mientras que con la radioterapia se produce una elevación transitoria en la concentración de SCC y posteriormente desciende .

En nuestro estudio, el otro caso de recurrencia que mostró niveles normales antes y después de la cirugía, se trataba de un carcinoma in situ que reapareció al año de realizado el tratamiento y que puede explicarse por el origen multifocal de la lesión.

En el grupo de pacientes con adenocarcinoma de endometrio encontramos una elevación del SCC en un 15% de los casos de neoplasia invasiva, incremento que no coincide con otros autores²⁴⁶ que tienen una incidencia de sólo un 7%. Todos los casos se normalizaron después de la terapia y se mantuvieron inferiores a 2 ng /ml incluso en las dos pacientes con recurrencia de la neoplasia.

En el grupo control de nuestro ensayo, no observamos aumento de los niveles de SCC excepto un valor de 2,4ng /ml, proporción que podemos incluirla dentro de la media general aceptada para la población sana.

Consideramos que el SCC tiene una gran utilidad para el seguimiento y la detección precoz de recurrencias en el carcinoma escamoso del cérvix, pero de nuestros resultados se deduce que la expresión sérica de estos tres antígenos (CEA, Ca125 y SCC) en el adenocarcinoma de endometrio y en el cáncer epidermoide del cuello, es limitada.

ANTIGENOS HLA.

El complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) es un conjunto de genes presente en los animales más evolucionados de la escala filogenética, cuyos productos controlan el rechazo de injertos (histocompatibilidad) y muchas otras reacciones inmunes⁶⁵.

Aunque el MHC fué identificado originalmente por su papel en el rechazo de los trasplantes, ahora se sabe que las proteínas codificadas en esta región del genoma participan en muchos aspectos del reconocimiento inmunológico, como la interacción entre los linfocitos y las células presentadoras de antígeno¹¹¹.

Estas proteínas codificadas por los genes del MHC se clasifican en tres grandes grupos: moléculas de clase I, II y III. Las moléculas de clase I y II intervienen en el reconocimiento inmunológico. Originariamente se reconocieron por anticuerpos en leucocitos razón por la cual se denominan antígenos HLA (Human Leucocyte Antigen)¹¹¹.

Los antígenos MHC de clase I se denominan antígenos de trasplante porque los linfocitos T citotóxicos que originan el rechazo de un trasplante no histocompatible van dirigidos contra ellos. Están presentes en todas las células nucleadas del organismo excepto en los linfocitos, células germinales y en el trofoblasto.

Los antígenos HLA de clase II se encuentran en la superficie de las células presentadoras de antígenos (macrófagos), linfocitos B y algunas células epiteliales (dendríticas, de Langerhans..). Tienen una importancia fundamental en la respuesta inmune celular debido a que los linfocitos T cooperadores (T_H) no reconocen al antígeno si no va asociado a moléculas HLA de clase II¹¹².

Expresión de antígenos HLA de clase I en las células tumorales

Los antígenos HLA de clase I de las células tumorales juegan un papel importante porque regulan la sensibilidad de los mecanismos inmunológicos antitumorales. Cambios cuantitativos o cualitativos en estos antígenos pueden modificar

el reconocimiento de las células tumorales por los componentes del sistema inmune. Los linfocitos T citotóxicos (T_c) necesitan moléculas HLA de clase I para reconocer al antígeno . Un déficit o ausencia de estos antígenos pueden alterar la actividad de las células T y NK.

En modelos animales se ha observado que la pérdida o disminución de estas moléculas en las células neoplásicas ejercen una influencia decisiva en el crecimiento local del tumor y en las metástasis²⁴³.

En las células tumorales humanas de una gran variedad de neoplasias, se han comprobado pérdidas totales o selectivas de moléculas HLA I²⁴⁸. Diversos mecanismos parecen ser responsables de estas alteraciones. Se ha observado una relación entre la activación de determinados protooncogenes y los antígenos MHC en las células de algunas neoplasia . Asi por ejemplo, se ha comprobado que existe una relación inversa entre los niveles de moléculas HLA I y el oncogen N-myc en el neuroblastoma y el oncogen c-myc en el melanoma²⁴⁹

Otra de las posibles mecanismos en la ausencia de expresión de antígenos HLA I de las células tumorales es la alteración en la síntesis de la β 2 microglobulina (una de las dos cadenas polipeptídicas que componen la molécula HLA I)²⁵⁰

Nosotros hemos estudiado la expresión de antígenos HLA de clase I (usando un anticuerpo monoclonal contra la β 2 microglobulina) en epitelios normales de cérvix y

endometrio y en neoplasias invasivas y preinvasivas. Los epitelios normales expresaron intensamente antígenos HLA I en el 100% de los casos. Cuatro de los 19 carcinomas cervicales invasivos, es decir, un 13% de ellos, presentaron ausencia de expresión de estas moléculas, coincidiendo con los resultados obtenidos por Torres y cols²⁵¹. Sin embargo, existen divergencias entre sus observaciones y las nuestras respecto al carcinoma in situ de cérvix ya que nosotros encontramos dos casos con ausencia de expresión y ellos no obtuvieron ninguno.

Los endometrios normales que estudiamos, también expresaron de forma homogénea antígenos HLA I en el 100% de los casos. Por el contrario en 7 adenocarcinomas de endometrio (31,8%) observamos ausencia de expresión.

No hemos encontrado en la literatura estudios referidos a esta neoplasia por lo que no podemos comparar nuestros resultados con los de otros observadores.

No hemos hallado relación entre el pronóstico de la neoplasia y la alteración de estos antígenos, quizás debido al escaso número de recurrencias observadas (dos en cada tipo de carcinoma) por tratarse estadios precoces. Sin embargo, en otros tumores humanos se ha descrito que la falta de expresión de HLA I se corresponde con un comportamiento más agresivo del tumor²⁵².

En ensayos efectuados con cultivos in vitro de células tumorales HLA I negativas tratadas con IFN y con TNF- α ha sido posible inducir o elevar los niveles de estos

antígenos²⁵³, de donde se deduce que en los tumores en que se ha observado una relación entre la baja o nula expresión de antígenos HLA I y una mayor agresividad podría ser útil el tratamiento con estos dos inmunomoduladores

Expresión de antígenos HLA de clase II en las células tumorales.

Las moléculas HLA II son inmunoreguladoras y se observan fundamentalmente en las células del sistema inmune que se encargan de la presentación de antígenos a los linfocitos T.

Su distribución es más restringida que las de la clase I como ya hemos comentado anteriormente. La mayoría de los tejidos, con excepción de áreas del tubo gástrico y del tracto respiratorio no expresan antígenos HLA de clase II²⁵⁴. Bajo algunas circunstancias, tipos celulares que originariamente son de clase II negativos pueden expresar estas moléculas²⁴⁷.

En algunas neoplasias como las colorrectales, laríngeas, gástricas y hepáticas²⁵⁵ se ha observado una expresión positiva de estos antígenos .

Nosotros hemos estudiado también la expresión de antígenos HLA II en el grupo de pacientes de nuestro estudio, en diez epitelios de cérvix y en 10 endometriosis normales. Entre las pacientes con carcinoma escamoso de cérvix un 66,6% han presentado

expresión positiva para el HLA II nuestras observaciones difiere de las de Glew y cols²⁵ quienes describen hasta un 83% de positividad en sus casos.

En el grupo de pacientes con adenocarcinoma de endometrio la incidencia de positividad encontrada ha sido inferior a la de los carcinomas de cérvix alcanzando un 42,1% . No tenemos referencia de otros trabajos en este tipo de carcinoma después de revisar la literatura, por lo que nuestros resultados no pueden compararse con otras observaciones. El estudio de los epitelios cervicales y el de los endometrios normales, no evidenció expresión positiva para las moléculas de HLA II.

La positividad de las células neoplásicas para el HLA II ha sido relacionada con el pronóstico de la enfermedad y varía según el tipo del tumor pudiendo ser favorable, (como en el cáncer de colon, laringe y mama) y desfavorable o no significativa (como en el melanoma)^{257,258}. De igual forma que las moléculas de clase I, la expresión de moléculas de clase II pueden ser inducibles por citoquinas en células de determinados tipos de carcinoma. En nuestro estudio, encontramos dos recidivas en cada tipo de carcinoma, de las cuales un carcinoma de cérvix y otro de endometrio habían mostrado previamente expresión positiva de HLA II pero dado el escaso número de casos es posible sacar conclusiones al respecto.

Es probable que las alteraciones en la expresión de los antígenos HLA de clase I o II puedan ejercer una influencia significativa sobre la evasión por parte de las células tumorales de la vigilancia inmune²⁵⁶.

2.-Respuesta inmune frente a las células tumorales:

La respuesta del sistema inmunológico frente a las células tumorales está fundamentalmente mediada por células siendo los linfocitos T los elementos más importantes¹²⁴.

Los linfocitos T identifican a la célula tumoral en asociación con moléculas codificadas por el HLA localizados en las células presentadoras de antígeno (macrófagos)¹²⁶.

Los macrófagos procesan al antígeno (lo degradan a fragmentos más pequeños los cuales se asocian a moléculas HLA), lo presentan a las células T y segregan una serie de sustancias o linfoquinas que interviene en la activación de los linfocitos y por tanto en la activación de la respuesta inmune¹²⁶.

Además de los linfocitos T, en la respuesta inmune frente a las células tumorales intervienen las células NK, células LAK y macrófagos que son capaces de destruir directamente a las células neoplásicas cuando son activados por las linfoquinas.

Linfoquinas: IL1- β y TNF- α

Las linfoquinas o interleuquinas son polipéptidos sintetizados y segregados en el curso de la respuesta inmunológica a determinados estímulos, por diferentes tipos celulares como los linfocitos T y B, los macrófagos y las células NK.

Su función se asemeja a la de las hormonas ya que tienen múltiples efectos intracelulares, están presentes en pequenísimas cantidades en suero o en tejidos y actúan sobre receptores de membrana específicos de forma endocrina (en sitios distantes de donde se producen), paracrina (de forma localizada o no circulante) o autocrina (sobre las células que las producen)^{134,135}.

Nosotros hemos querido observar la respuesta inmunológica del organismo frente a dos tipos de neoplasia (carcinoma epidermoide de cérvix y adenocarcinoma de endometrio) determinando las concentraciones séricas de dos interleuquinas: la IL1- β y del TNF- α en las 53 pacientes de nuestro estudio.

La interleuquina 1 (IL-1) es sintetizada y segregada básicamente por los macrófagos pero también por otros tipos de células como los queratinocitos, células epiteliales, células endoteliales, células dendríticas, de Langerhans y células de la microglía¹⁴².

Los macrófagos al procesar el antígeno segregan IL1 la cual activa a los linfocitos cooperadores (de acción positiva sobre la respuesta inmunitaria) y anula la acción inmunosupresiva de los linfocitos T supresores. Se la denomina por esto LAF o " factor Activador de los Linfocitos"¹⁴³.

La IL1 además de su acción sobre los linfocitos, ejerce efectos tumorales por otros mecanismos: aumenta la actividad citotóxica de las células mononucleares junto con otras linfoquinas (IL2 e IFN) y tiene un efecto citolítico directo sobre las células neoplásicas. Otra de las importantes acciones de la IL1 consiste en inducir la producción de otras citoquinas tales como el TNF a partir de los macrófagos y del endotelio, la IL6 de los fibroblastos y el GM-CSF de las células T²⁵⁹.

Existen dos tipos de IL1 la IL1- α y la IL1- β pero ambas con idéntica función ya que se unen a los mismos tipos de receptores.

El TNF o Factor de Necrosis Tumoral es otra linfoquina segregada por los macrófagos. Se denomina así porque induce necrosis hemorrágica en algunos tumores. Actúa sobre las células endoteliales produciendo la pérdida de sus funciones anticoagulantes y favoreciendo el depósito de fibrina lo que origina una CID. Es responsable de la mayor parte de la actividad tumoricida de los monocitos. Sin embargo, no todas las líneas tumorales son sensibles al TNF. La necrosis provocada en los tumores es probable que se debe más a la lesión de los vasos tumorales que a un efecto directo sobre las células del tumor. Ello implica que por algún motivo los vasos

de algunos tumores son más sensibles al TNF que los de los tejidos normales. Por otro lado, interviene en la proliferación de las células T induciendo receptores para la IL2; estimula la respuesta inmune antitumoral junto con otras linfoquinas y es responsable de la caquexia en los pacientes con enfermedad neoplásica avanzada al inhibir la lipoprotein-lipasa, además de otras acciones²⁶⁰.

Tanto la IL1 como el TNF son inhibidos por las prostaglandinas, corticoides y otros agentes inmunosupresores.

La producción de linfoquinas en pacientes con cáncer, ha sido extensamente estudiada tanto in vitro como in vivo²⁶¹⁻²⁶² con el fin de evaluar su posible utilidad inmunoterapéutica en un futuro.

Ohshika et al.²⁶³ estudiando la producción de IL1 y de prostaglandina E (PGE) in vitro, a partir de los resultados obtenidos deduce que la inmunodeficiencia en las pacientes con cáncer está estrechamente asociada con una reducida actividad de la IL1 y un incremento de la actividad de la PGE de los macrófagos. Friese et al²⁶⁴., en un estudio sobre la producción de citokinas en el cáncer ginecológico (cérvis y mama) observa que la concentración de TNF es semejante a la producida por el grupo control y no encuentra variación en los valores obtenidos antes y después del tratamiento.

De Jaco et al.²⁶⁵ comparan los niveles de TNF en pacientes con neoplasias cervicales, endometriales y ováricas y también observa concentraciones semejantes a las

del grupo control excepto en las pacientes con carcinoma ovárico en las que los niveles de TNF se encuentran incrementados.

Elsasser et al²⁶⁶. estudia la producción de IL1 y de TNF en cultivo de células sanguíneas de pacientes con cáncer de cérvix, ovario y endometrio y observa una gradual depresión en la producción de ambas citoquinas en todos los grupos estudiados al compararlas con sujetos normales y añade, que este descenso está en relación con el crecimiento del tumor.

Nosotros hemos obtenido unos niveles sérico tanto de IL1- β como de TNF- α dentro de los límites normales antes y después de efectuado el tratamiento sin embargo, al comparalos con el grupo control, los valores medios de IL1 han sido superiores en las pacientes con carcinoma epidermoide de cérvix y los valores medios de TNF han sido mayores en las pacientes con adenocarcinoma de endometrio, pero siempre inferiores a los 30 y 40 pg /ml considerados en nuestro laboratorio como límite de normalidad para la IL1 y TNF respectivamente.

Podemos por tanto concluir señalando que la respuesta inmune celular de estos dos tipos de carcinoma evaluada a través de la determinación sérica de estas citoquinas es poco significativa. No obstante, hay que destacar que la caracterización de mediadores solubles en la respuesta inmune antitumoral y su síntesis como proteínas recombinantes ha producido un gran impacto en la búsqueda de su papel como agentes antitumorales y también pueden contribuir al conocimiento de la patogénesis del cáncer²⁶⁷.

3.-Exploración inmunológica de las pacientes con cáncer

Se cree que el sistema inmunológico puede tener una gran importancia en el control del crecimiento tumoral. Teóricamente, las reacciones inmunes pueden jugar un papel esencial en cuanto a impedir la aparición inicial de los tumores o bien limitando su desarrollo. El concepto de inmunovigilancia, establecido por Ehrlich en 1908 y según el cual clones de células aberrantes producidos durante la época fetal y postfetal, quedarían latentes en su mayoría gracias a los mecanismos de protección del organismo, ha sido puesto durante muchos años en duda³⁷. El comienzo de la técnica de los trasplantes en los años 60 y el uso de potentes fármacos inmunosupresores, demostró un aumento de la incidencia de ciertos tipos de tumores en pacientes inmunodeprimidos. Posteriormente la aparición del síndrome de inmunodeficiencia adquirida, ha sugerido que existe una relación entre la inmunosupresión y el sarcoma de Kaposi⁴³.

El escape inmunológico se produciría por tanto cuando el equilibrio entre los factores que favorecen el desarrollo del tumor y la efectividad del sistema inmunológico se altera.

Es posible que muchos tumores puedan quedar eliminados antes de que puedan detectarse, pero también es evidente que algunos tumores se desarrollan porque el sistema inmunitario no funciona normalmente

Nosotros hemos efectuado una exploración inmunológica al conjunto de las pacientes del estudio antes de aplicarles el tratamiento para comprobar su estado inmunológico inicial y secuencialmente después del mismo para comprobar si la terapia administrada (cirugía y /o radioterapia) alteraban su función inmune.

La función inmune humoral la hemos explorado evaluando las inmunoglobulinas séricas IgG,IgA e IgM así como determinando de forma seriada las fracciones del complemento C3 y C4. La función inmune celular la hemos examinado mediante pruebas cutáneas de hipersensibilidad retardada

Inmunoglobulinas

En la evaluación de estas tres inmunoglobulinas efectuada antes de comenzar el tratamiento en las pacientes con carcinoma epidermoide de cérvix y en las pacientes con adenocarcinoma de endometrio de nuestro estudio hemos observado unas concentraciones normales para la IgG, ligeramente elevados para la IgA(22%) y moderadamente altos para la IgM (26-41%) en todos los grupos estudiados excepto en el carcinoma invasivo de cuello en que no hubo incremento de estas inmunoglobulinas o fué mínimo. Sin embargo, las pacientes con carcinoma cervical preinvasivo fueron las que mostraron una hipergammaglobulinemia a expensas de la IgM. De estos resultados podemos deducir coincidiendo con otros autores²⁶⁸ que las pacientes con carcinoma en estadio precoz no evidencian menoscabo de su función inmune humoral. Por otro lado, la hiperganmaglo

bulinemia obseada en las pacientes con carcinoma cervical in situ puede interpretarse como una respuesta humoral inespecífica frente a la infección por HPV con la que esta neoplasia se asocia²⁶⁹.

Nuestros resultados son opuestos a los observados por Balasch²⁷⁰ quien comprueba una elevación de la IgG y de la IgA y una disminución de la IgM en pacientes con carcinoma de cérvix y endometrio en todos los estadios(0-IV) sin relación con la gravedad de la enfermedad. Argawal²⁷¹ en pacientes con carcinoma de cérvix observa una elevación de la IgG y de la IgA en estadio I, de IgG e IgM en estadio II y de las tres inmunoglobulinas en estadio III.

En el estudio inmune de neoplasias ginecológicas de otros observadores los resultados obtenidos también son contradictorios. En el carcinoma cervical Huges²⁷² encuentra niveles de IgA normales mientras que Adelusi²⁷³ obtiene valores elevados, los de IgG en este tipo de neoplasia son normales en los casos de Huges, elevados en los de Adelusi y bajos en los de Alasabti²⁷⁴. Sin embargo, en el cáncer de ovario los valores de IgM aparecen elevados en varias series publicadas²⁷⁵.

En las determinaciones efectuadas después del tratamiento (quirúrgico y/o radioterápico) se observó una ligera elevación de los valores de IgG sobre los iniciales en todos los grupos del estudio, elevación que fué algo más acentuada para la IgA y para la IgM. En las pacientes con adenocarcinoma invasivo de endometrio la hiperganmaglo

bulinemia se hizo más manifiesta después de la terapia a expensas de la IgM. Estos datos demuestran que la cirugía y/ o la radioterapia no deprimieron la función inmune en nuestras enfermas. Juranic²⁷⁶ evalúa los efectos de la radioterapia sobre la producción de inmunoglobulinas en pacientes con carcinoma de cérvix en estadio avanzado y observa valores iniciales elevados para la IgA y normales para la IgG e IgM y comprueba que la radioterapia no afecta significativamente los parámetros estudiados.

Fracciones C3 y C4 del sistema complemento.

El sistema complemento juega también un importante papel en la respuesta humoral. La unión del anticuerpo a la célula tumoral conduce a la activación del complemento dando lugar al complejo de ataque de membranas, el cual produce soluciones de continuidad en la superficie de la célula tumoral y origina su lisis osmótica¹²¹.

Nosotros hemos evaluado conjuntamente con las inmunoglobulinas las concentraciones séricas de los componentes C3 y C4 en las pacientes de nuestro estudio y los resultados demuestran que los valores iniciales de C3 no se encuentran alterados excepto en los casos de carcinoma de endometrio en los que existe una discreta elevación mientras que las concentraciones de C4 se elevan en el carcinoma invasivo de cérvix y en el endometrio..

Después de efectuado el tratamiento esta elevación se incrementa en las pacientes con carcinoma invasivo de ambos grupos siendo más importante las de C4.

Existen pocos estudios publicados sobre las alteraciones de los niveles de C3 y C4 en las neoplasias humanas. Autores como Te Velde²²⁷ estudiando variables con significación pronóstica en el carcinoma de cévix invasivo ha observado que de los 92 parámetros investigados el C3 ocupaba el segundo lugar y comprobó que existía una relación entre la predicción pronóstica del tumor y los niveles de C3. Saito²⁷⁷ también encuentra niveles elevados de C3 y C4 en el carcinoma gástrico y observa que existe una relación con el estadio del tumor.

Nosotros no podemos establecer un relación valorable entre la concentración de C3 y C4 con el pronóstico del tumor por el escaso número de pacientes que recidivaron (4) pero si hemos constatado que no existen alteraciones en los valores de C3 y C4 en los carcinomas estudiados en estadio preinvasivo pero sí en los invasivos por lo que nuestras observaciones coincidirían con las de Saito en cuanto que observamos una relación entre la elevación de C3 y C4 y el estadio del tumor.

El significado de estas observaciones no está claro, según Te Velde²²⁷ es probable que represente un efecto reactivo inespecífico frente a las células neoplásicas aunque no puede ser excluido un papel específico del complemento activado tanto por la vía alternativa(C3) como por la via clásica (C4) en defensa contra las células cancerígenas.

Pruebas cutaneas de hipersensibilidad retardada

La hipersensibilidad retardada debe entenderse como un modelo "in vivo" de las reacciones inmunes mediadas por células .

En la hipersensibilidad de tipo retardado el estímulo local provocado por un antígeno induce una reacción inflamatoria retardada antígeno-específica, que se desarrolla gracias a la capacidad que tienen los linfocitos T sensibilizados para liberar productos solubles o linfoquinas que son responsables de la reacción inflamatoria final. La función de las linfoquinas es la de amplificar la respuesta de los linfocitos T, estimulando y atrayendo a monocitos, macrófagos y polimorfonucleares al sitio donde se introdujo dicho antígeno²⁷⁸.

Uno de los fines del uso de los test cutaneos de hipersensibilidad retardada es la exploración de la inmunidad celular "in vivo". La demostración de una o más respuestas cutáneas positivas a los antígenos ambientales (cándida, tricofitina, tétanos, tuberculina...) suele indicar que la inmunidad celular no está alterada²⁷⁹.

El término anergia fué introducido por Von Pirquet en 1908 para denotar la falta de reactividad inmune por ausencia de "erginas". La anergia o falta de respuesta a estos antígenos suele asociarse a una inmunidad celular disminuida, aunque debe mencionarse que algunos individuos sanos presentan anergia²⁸⁰.

Nosotros hemos explorado la inmunidad celular de las pacientes de nuestro estudio mediante la aplicación de estos test cutáneos (MULTITEST) antes y después de efectuar el tratamiento y hemos podido constatar que un 51,6% de las pacientes con carcinoma cérvix y de endometrio en estadio invasivo presentaron anergia frente a un 30% de los controles y un 20% de los estadios preinvasivos.

De los dos tipos de carcinomas estudiados, los casos de adenocarcinoma de endometrio han mostrado un porcentaje de anergia muy superior (68%) a los casos de carcinoma epidermoide de cérvix (22,6%). Finalmente hemos comparado la evolución de la enfermedad con la reactividad de estas pruebas y hemos podido observar que existe una relación directa entre ambas.

De los datos obtenidos se deriva, que la enfermedad neoplásica puede alterar la inmunidad mediada por células, que esta alteración está influenciada por el tipo histológico del tumor y que la exploración de la inmunidad celular mediante test cutaneos de hipersensibilidad retardada pueden ser útiles en la monitorización y predicción pronóstica de la enfermedad.

Comparando nuestros resultados con los de otros autores, coincidimos con ellos en todos los aspectos excepto en la relación con el tipo histológico. así Catalona and Chreti²⁸¹ en observan un empeoramiento de la inmunidad celular en el carcinoma de células escamosas con mayor frecuencia que en el adenocarcinoma, mientras que Balach y cols²⁷⁰ no encuentran relación con las características histológicas de la neoplasia.

VI. CONCLUSIONES

- 1.- **Deducimos de nuestro trabajo, que la sensibilidad del antígeno carcinoembrionario (CEA) para las pacientes con carcinoma cervical en estadio precoz es nula, a pesar de que encontramos concentraciones superiores no significativas a medida que aumenta el grado de invasión.**

- 2.- **En lo que se refiere al adenocarcinoma de endometrio en estadio invasivo, hemos encontrado una proporción de pacientes con valores de CEA elevados, ligeramente superior a la de las pacientes con carcinoma cervical.**

- 3.- **En los casos que recidivaron, en el grupo de pacientes con carcinoma cervical así como en las pacientes con carcinoma endometrial, tampoco hemos encontrado niveles de antígeno carcinoembrionario elevados, lo que demuestra su falta de utilidad en la predicción de recurrencias en estos dos tipos de neoplasia en estadio precoz.**

- 4.- **Los niveles séricos de Ca-125 presentan una escasa sensibilidad, una nula especificidad y un valor predictivo limitado tanto en el carcinoma epidermoide de cérvix como en el adenocarcinoma de endometrio.**

- 5.- **En cuanto a los niveles plasmáticos del antígeno de células escamosas (SCC), hemos observado concentraciones superiores a las normales en más del 10% de**

pacientes con neoplasia preinvasiva de cérvix, llegando incluso a niveles de 10 ng/ml y en más del 25% de los casos en estadio invasivo.

- 6.- En el adenocarcinoma de endometrio, el SCC se comportó de manera semejante, habiéndonos encontrado una elevación en el 15% de las neoplasias invasivas.**
- 7.- Podemos concluir, que la determinación de estos antígenos: CEA, Ca-125 y SCC en el carcinoma epidermoide cervical y en el adenocarcinoma de endometrio en estadio precoz, tiene una escasa utilidad clínica, con excepción de una limitada significación del SCC.**
- 8.- En el estudio de la expresión de antígenos HLA de clase I, (normalmente manifiestos en todas las células nucleadas) hemos observado una pérdida de la misma en un 19,3% de los carcinomas epidermoides de cérvix y en un 31,8% de los adenocarcinomas de endometrio, aunque no hemos encontrado relación entre esta alteración y una mayor agresividad tumoral.**
- 9.- Los antígenos HLA de clase II (cuya presencia está restringida a las células presentadoras de antígenos) se han manifestado en el 66% de los carcinomas cervicales y en el 42% de los adenocarcinomas de endometrio de nuestras pacientes. Esto indica que hemos observado una alteración ostensible en la expresión de los antígenos de histocompatibilidad en estos dos tipos de neoplasia.**

CONCLUSIONES

- 10.- El estudio de los niveles séricos de las interleuquinas IL1- β y TNF- α , como expresión de la respuesta inmune celular en las pacientes con carcinoma epidermoide de cérvix y con adenocarcinoma de endometrio, es poco significativo.

- 11.- La exploración del estado de la inmunidad humoral mediante la cuantificación de las concentraciones de inmunoglobulinas y de las fracciones C3 y C4 del complemento, revela que las pacientes con carcinoma en estadio precoz no evidencian menoscabo de su función inmune humoral. Así, hemos observado niveles iniciales normales de IgG y elevados de IgA e IgM y valores altos de las tres inmunoglobulinas después de efectuado el tratamiento.

- 12.- Los valores iniciales de la fracción C3 del complemento, se encuentra dentro de los límites normales en los carcinomas epidermoides de cérvix, mientras que en los adenocarcinomas invasivos de endometrio, se aprecia una discreta elevación. En cuanto a los niveles iniciales de la fracción C4, observamos un ascenso en los dos tipos de neoplasia siendo superior en los carcinomas invasivos de endometrio. Se demuestra pues, que existe una relación entre los niveles de C3 y C4 y la gravedad del adenocarcinoma endometrial

- 13.- La exploración de la inmunidad celular realizada mediante test cutaneos de hipersensibilidad retardada han demostrado:

CONCLUSIONES

- a) **Que las pacientes con carcinoma en estadio invasivo presentan una mayor anergia que las pacientes con carcinoma en estadio no invasivo.**
- b) **Que la anergia se relaciona con el tipo histológico del tumor siendo más evidente en las pacientes con adenocarcinoma de endometrio que en las pacientes con carcinoma epidermoide de cérvix.**
- c) **Que existe una relación directa entre la reactividad de estas pruebas cutaneas y el pronóstico de la enfermedad.**

VII. BIBLIOGRAFIA

BIBLIOGRAFIA

- 1.- **GRABAR P.:** The Historical Background of Immunology. En Stites : Stobo D.P.; Wells J.D..Basic & Clinical Immunology. A Lange medical book. Sixth Edition 1987; 3-14.
- 2.- **TRUFFA-BACHI P,LECLERC C.:** Las defensas del cuerpo humano. Mundo Científico.Vol.6 1988;786: 797-805.
- 3.- **GALLART T.,VIVES J.:** En Farreras Rozman. Medicina Interna.Inmuología 11^a Edición. Vol 2. 1988: 2411-2479.
- 4.- **COHN M.:** Le Système Immunitaire. Bulletin de l' Institut Pasteur. 1982; 80: 343-352.
- 5.- **CUNNINGHAM-RUNDLES C et al.:** Ann Intern Med .1984; 101:435-483.
- 6.- **ROIT L,BROSTOFF J.,MALED.:** Inmunología. Editorial Salvat 2^a edición,1991: 3.1-3.10
- 7.- **GREEMBERG P.D.:** Tumor Immunology. en Stites D.P.,Stobo J.D.,Wells J.V. Basic & Clinical Immunology. A Lange medical Book. Sixth Edition 1987: 187-96

BIBLIOGRAFIA

- 8.- **FERNANDEZ CRUZ E.:** Importancia del Sistema Inmune en la defensa frente al cáncer. En *Inmunología. Nuevos avances*. Ediciones Einsa. 1986: 19-47.
- 9.- **NEIMAN P.:** Oncogenes y neoplasia. En *Harrison. Principios de Medicina Interna* 12ª edición. Vol I.1991: 74-82.
- 10.- **BISHOP J.M.:** Molecular themes in oncogenesis. *Cell* 1991; 64:235-248
- 11.- **WEINBERG R.A.; WIGLER M.; COOPER M.:** The action of oncogenes in the cytoplasm and nucleus. *Science* . 1985; 230: 770-783.
- 12.- **REDDY E.P.,REYNOLDS R.K.,SANTOS E.,BARBACID M.:** A point mutation is responsible for the acquisition of transforming properties by the T24 human bladder carcinoma oncogene. *Nature*.1982; 300: 149-161.
- 13.- **FRIEND S.M. et al:** Oncogenes and tumor suppressing genes. *N.England J.Med.* 1988; 318: 618-627.
- 14.- **KNUDSON A.G.:** Hereditary cancer, oncogenes and anti-oncogenes. *Cancer Res* 1985; 45: 1437-1445.
- 15.- **WEIMBER R.A.:** Finding the anti-oncogene. *Sci Am* 1988; 259: 44-52.

BIBLIOGRAFIA

- 16.- **WILLIAMS L.T.:** Factores de crecimiento. En Harrison , Principios de Medicina Interna 12ª edición. Vol 1. 1991: 69-74.
- 17.- **CARPENTER G.:** Receptors for epidermal growth factor and other polypeptide mitogens. Ann Rev Biochem 1987; 56: 881-888.
- 18.- **STEWART W.P.,SCARFIE J.H.:** Clinical trials with hemopoietic Growth Factors. Research 1989; 1: 1-16.
- 19.- **WILLIAMS T.L.:** Signal transduction by the platelet-derived growth factor receptor. Science.1989; 243: 1564-1571.
- 20.- **WEIMBERG R.A.:** Tumor supresor genes. Science. 1991; 25: 1138-1146.
- 21.- **CROCE C.M.,NOWEL P.C.:** Molecular basis of human B cells neoplasias. Blood. 1985; 65: 1-11.
- 22.- **DALLA-FAVERA R.,BREGNI M.,ERIKSON J.et al:** Human c-myc oncogene is located on the region of chromosome 8 that is translocated in Burkitt lymphoma cells. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1982. 79: 7824-7832.

- 23.- **LOCKER A.P.,DOWLE C.S.,ELLIS LO. et al:** C-myc oncogene expression and prognosis in operable breast cancer. *Br J. Cancer.*1989, 60: 669-675.
- 24.- **BOURHIS J.,LE MG, BARRIOS M.et al:** Prognostic value on c-myc protooncogene over expression in early invasive carcinoma of the cervix. *J.Clin Oncol* 1990 : 1789-1793.
- 25.- **NOGUCHI M., HINOHASI S., HARA F. et al:** Heterogeneous amplification of myc family oncogenes in small cell lung carcinoma. *Cancer* 1990; 66: 2053-2061.
- 26.- **BOURHIS J., DE VATHAIRE F., WILSON G.D. et al:** Combined analysis of DNA ploidy index and N-myc genomic content in neuroblastomas. *Cancer Res,* 1991; 51: 33-40.
- 27.- **SCHAB M.,VARMUS H.E.,BISHOP J.M. et al:** Chromosome localitation in normal human cells and neuroblastomas of a gene related to c-myc. *Nature* 1984; 308 : 288-296.
- 28.- **SEEGER R.C., BRODEUR G.M., SATHER H et al:** Association of multiples copies of the N-myc oncogene with rapid progression of neuroblastomas. *N.Engl.J Med* 1985; 313: 1111-1118.

BIBLIOGRAFIA

- 29.- **BARBACID M.**: Ras genes. *Ann Rev.Biochem* 1987; 56: 779-827.
- 30.- **SLEBOS R.J.C., KIBBELAAR R.E., DELASIO et al**: K-ras oncogene activation as a prognostic marker in adenocarcinoma of the lung.*N.Engl.Med.*1990; 323: 561-568.
- 31.- **ALMOGUERA C., SHIBATA D., FORRESTER K. et al**: Most human carcinomas exocrine pancreas contain mutant c-K-ras genes. *Cell* 1988; 53: 549-557.
- 32.- **LEE W.H., BOOKSTEIN R., HONG F.et al**: Human retinoblastomas susceptibility genes cloning, identification and sequence. *Science* 1987; 235: 1394-1402.
- 33.- **CANCE W.G.,BRENNAN M.F.,DODAS H.E.,et al**: Altered expression of the retinoblastoma gene products in human sarcomas. *N.Engl.J.Med.* 1990; 323: 1457-1463.
- 34.- **LEVINE A.J.,HOMMAND J.,FINLAY C.A.**: The p-53 tumour supressor gene. *Nature.* 1991; 35: 453-456.
- 35.- **VOGELSTEIN B.,KINZLER K.W.**: p-53 function and disfunction. *Cell* 1992;70: 523-526

BIBLIOGRAFIA

- 36.- **NIGRO J.M.,BAKER S.J.,PREISINGER A.C.et al:** Mutations in the p-53 gene occur in diverse human tumor types. *Nature* 1989; 342: 705-711.
37. - **CHIBA J., TAKAHASHI T.,NAU M.N. et al:** Mutations in the p-53 gene are frequent in primary resectd non-small cell lung cancer.*Oncogene*. 1990; 5: 1603- 1609.
- 38.- **DAVIDOFF A.M., IGLEHART J.D.,MARKS J.R.:**Inmune response to p-53/hsp 70 complexes in breast cancers. *Proct.Natl Acad Sci USA* . 1992; 89: 3439-3442.
39. - **FRAUMENI J.:** Epidemiology of cancer. En *Origins of Human Cancer. A Comprehensive Review*. 1991; 15-27.
- 40.- **BOS J.L.:** Ras oncogenes in human cancer: a review. *Cancer Res* 1989; 49: 4682-4690.
- 41.- **RODENHUIS S., SLEBOS R.J.C.:** Clinical significance of ras oncogene activation in human lung cancer. *Cancer Res*. 1992; 52: 2665-2669.
42. - **DOLL R.:** The causes of cancer. Londres , Oxford University. Press 1981; 231-346. Press. 1981; 231-346.

BIBLIOGRAFIA

- 43.- **DAWSON M., MOORE M.:** Inmunidad frente a los tumores. En Roit I.; Brostof J., Male D..Inmunología.Editorial Salvat 2ªedición 1991: 18.1-18.18.
- 44.- **RICKI N:** Introduction en viruses and Human Cancer. Seminars in Cancer Biology.1992; 3: 249-255.
- 45.- **ZUR HANSEN H.:** Papillomavirus in anogenital cancers as a model to understand, the role of viruses in human cancer.Cancer Res 1989; 49: 4677-4683.
- 46.- **LORINEZ A.T., TEMPLE G.F., KURMAN R.J.:** Oncogenic associationof specific human papillomavirus types with cervical neoplasia. J Nat Cancer Inst. 1987; 79: 671-676.
- 47.- **SHAH K.V.:** Genital warts, papillomavirus and genital malignancies Am.Rev:Med. 1988: 39: 371-377.
- 48.- **WRIGHT T.C., RICHART R.M.:** Role of human papillomavirus in the pathogenesis of tract warts and genital cancer.Gynecol Oncol 1990; 37: 151-157
- 49.- **JIANG W.S.,KAHN J.,GUILLEM S.:** Rapid detectio of ras oncogenes in human tumors. Oncogene. 1989; 4: 923-929.

BIBLIOGRAFIA

- 50.- **LITTLER E.,BAYLIS S.A.,ZENG Y. et al.:** Diagnosis of nasopharyngeal carcinoma by means of recombinant Epstein-Bar virus proteins. *Lancet*.1991; 337: 685-691.
- 51.- **TELENTI A.,MARSHALL W.F.,SMITH T.F.:** Detection of Epstein-Bar virus by Polimerasa Chain Reaction. *J. Clin. Microbiol* 1990; 28: 2187-2193.
- 52.- **BISCEGLIE A.M.:** Hepatocelular carcinoma molecular biology of its growth and relationship to hepatitis B virus infection. *Med Clin Nort.Am.* 1989; 73: 985-993.
- 53.- **BUENDIA M.A.:** Mamalian hepatitis B viruses and primary liver cancer.Seminars in Cancer Biology. 1992; 3: 309-320.
- 54.- **FAGAN E.A.,DAVISON F.D.,TROWBRIDGE R.:** Detection of hepatitis B virus DNA sequences in liver in HBs Ag seronegative patients with liver disease with a n d without anti-HCV antibodies. *Q.J.Med.*1991; 78: 123-127.
- 55.- **WEIS R.:** Retroviruses and human cancer. Viruses and human cancer. Seminars in Cancer Biology 1992; 3: 312-328.
- 56.- **BIGGAR R.:** Cancer in acquired immunodeficiency syndrome: An epidemiological assessment. *Semin Oncol.*1990; 17: 251-256.

- 57.- **EHRlich P.:** On immunity with special reference to cell life. Proc.R Soc Lond (Biol) 1906; 66: 424-430.
- 58.- **BURNET F.M.:** The concept of immunological surveillance. Proc Exp Tumor Res. Res.1970; 13: 1-27.
- 59.- **KLEIN G.:** Tumor Immunology: A general appraisal. En Scientific Foundations of Oncology (Tsymington,R L Carter,Eds) William Heinemann Medical Book Ltd, Londres, 1976.
- 60.- **BURNET F.M.:** Immunological surveillance. Pergamon. Nueva York, 1970.
- 61.- **GATTI R.A.,GOOD R.A.:**Ocurrence of a malignancy in immunodeficiency diseases a literature review. Cancer. 1971; 28: 89-98.
- 62.- **HANTO D.,FRIZZERA G.:** Epstein-Barr virus, immunodeficiency, and B cell lymphoproliferation. Transplantation. 1985; 35: 461-472.
- 63.- **DI SAIA.:** Inmunología del tumor y otros mecanismos de defensa del huésped en Oncología Ginecológica. Editorial Panamericana. 1ª Edición en español 1991: 405-443.

BIBLIOGRAFIA

- 64.- **HERBERMAN R.B.:** Tumor Immunology. Jama November 25, 1992; 268: 2935-2939.
- 65.- **PLAYFAIR J.H.L.** Immunology at a Glance. 2ª edición. Oxford Blackwell Scientific Publications. 1984: 7-10.
- 66.- **BALAGUERO L.:** Oncología Ginecológica. Inmunología y Cáncer 1ª edición. 1982: 70-83.
- 67.- **BERCHUCK A.:** Empleo de los marcadores tumorales en el diagnóstico y tratamiento de mujeres con carcinoma del aparato reproductor. Clin. Obs. y Ginec. 1992; 1: 43-49.
- 68.- **BLACK P.H.:** Shedding from the cell surface of normal and cancer cells. Adv Cancer Res 1980; 32:75-81.
- 69.- **HAND P.H.:** Definition of antigenic heterogeneity and modulation among human mamary carcinoma cell population s using monoclonal antibodies to tumor associated antigens. Cancer Res. 1983; 43: 728-735.
- 70.- **KHOLER G., MILSTEIN C.:** Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. Nature 1975;256:495

- 71.- **LLOYD K.O.:** Human tumor antigens: detection and charecterization with monoclonal antibodies. In Herberman R.B. (ed). Basic and clinical tumor immuology. Boston Martinus Nighoff Publishers, 1984: 159-214.
- 72.- **RUBIN S.C., LEWIS J.L.** Monoclonal antibodies. Clinical Obstetrics and Gynecology. Vol 3.1986: 881-894.
- 73.- **GOLD P.** Antigenic reversion in human cancer. Ann Rev Med.1971;22: 85-92
- 74.- **GOLD P., FREEMAN S.** Demonstration of tumor-specific antigens in human colonic carcinomata by immunologic tolerance and absorption techniques. J.Exp Med 1977; 121: 439-44.
- 75.- **MACKAY E.V.; KHOO S.K. and DAUNTER B.:** Tumor markers. en cáncer en Gynecologic Oncology. Editet Malcom Coppleson. First edi. 1981:270-281
- 76.- **GOLD P., FREEMAN S.:** Test of carcinoembryonic antigen. Role in diagnosis and management of cancer. Jama 1975; 234:190-195.
- 77.- **ABELEV G.L.** Alphafetoprotein in ontogenesis and its association with malignant tumors. Adv Cancer Res. 1970; 14: 295-301.

BIBLIOGRAFIA

- 78.- **DI SAIA P.J.**-Overview of tumor immunology in gynecologic oncology. *Cancer* 1976; 38: 566-572.
- 79.- **RITZ J., GRIFFIN J.D.:** Cell surface antigens in acute leukemias. Mihich E (ed) : *Biological responses in cancer: Progress and Potential Applications* N.Y. 1982; I: 122-128.
- 80.- **BUICK R.N., PUKANO R., KNAPP R.C.:** Classification of tumor associated antigens on the basis of distribution populations undergoing differentiation. *Proc. Am As Res.* 1984; 25: 40-46
- 81.- **BAST J.R., FEENEY M., LAZARUS H.:** Reactivity of a monoclonal antibody with human ovarian carcinoma. *J. Clin. Invest.* 1981; 68: 1331-1336.
- 82.- **KABAWAT S.E., BAST R.C., BHAN A.K. et al.:** Tissue distribution of a coelomic epithelium related antigen recognized by the monoclonal antibody OC-125. *Int. J. Gynecol Pathol.* 1981; 2: 275-279.
- 83.- **BARBIERI R.L., BAST R.C., SCHAETZL E. et al.:** Elevated serum concentrations of Ca 125 in patients with advanced endometriosis. *Fertil Steril.* 1986; 45: 630-635.

BIBLIOGRAFIA

- 84.- **HALILA H.,STENMAN U.,SEPPALA M.:** Ovarian cancer antigen Ca-125 levels in pelvic inflammatory disease and pregnancy.Cancer 1986; 57:1327-1332.
- 85.- **NILOF J.M.,KLUG T.L.,SCHAELEZ E.:**Elevation of serum Ca 125 in carcinomas of the fallopian tube, endometrium and endocervix.Am.J.Obstet Gynecol.1984;148:1057-1063.
- 86.- **KATO H.,TARIGOE T.:**Radioimmunoassay for tumor-antigen of human cervical squamous cell carcinoma. Cancer 1977; 40: 1621-1626.
- 87.- **KATO H.,MORIOKA H.,ARAMAKI S.,TARIGOE T.:** Radioimmunoassay for tumor antigen of human cervical squamous cell carcinoma.Cell Mol Biol.1979;25: 51-55.
- 88.- **IKEDA L.:** Two-site radioimmunometric (sandwich) assay of SCC antigen using monoclonal antibodies.Princeton:Excerpta Medica. 1987; 215-26..
- 89.- **CROMBACH G., SCHARL A ,VIERBUCHEN M.:** Detection of squamous cell carcinoma antigen in normal squamous epithelia and in squamous cell carcinoma of the uterine cervix. Cancer.1989; 63: 1337-42.

BIBLIOGRAFIA

- 90.- **MINO N.,HAMAMOTO K.:** Availability of tumor antigen 4 as a marker of squamous cell carcinoma of the lung and other organs. *Cancer*. 1988; 62: 730-734.
- 91.- **YAMANAKA H.,HIMI T.,HARABUCHI Y. et al:** Soluble immuno-complexes and squamous cell carcinoma related antigens in patients with head and neck cancer. *Cancer* 1988; 62: 1932-1938.
- 92.- **MARAU T.,SHIBATA K.,KIMURA A.:**Tumor associated antigen TA-4, in the monitoring of the effects of therapy for squamous cell carcinoma of the uterine cervix. *Cancer*.1985; 56:302-8.
- 93.- **GROSS L.:** Intradermal immunization of C3H mice against a sarcoma that originated in an animal of the same line. *Cancer Res*. 1943; 3: 326-33.
- 94.- **PREHN R.T., MAIN J.M.-**Immunity to methylcholantrene induced sarcomas. *J.N.C.I.* 1957: 18:769-778.
- 95.- **OLD L.J.,BOYSE E:** Antigenic properties of chemically induced tumors. *Ann N.Y.Acad. Sci.* 1962; 101:80-106.

BIBLIOGRAFIA

- 96.- **KLEIN G., SJOGREN H.O., KLEIN E.:** Demostration of resistance against methylcholantrene induced sarcomas in the primary autochthonous host. *Cancer Res* 1960; 20:1561-1572.
- 97.- **HABEL K.:** Resistance of polyoma virus immune animals to transplanted polyoma tumors. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1961; 106: 722-728.
- 98.- **HERBERMAN R.B., OLDHAM R.K.:** Cell mediated cytotoxicity against human tumor. Lesson learned and future prospects. *J. Biol. Res. Mod* 1983; 2: 111-120.
- 99.- **MOLLER G. et al:** Ontogeny of human lymphocyte function. *Immunol. Rev* 1981; 57: 1-7.
- 100.- **REINHERZ E.L. and SCHOLSSMAN S.E.:** The differentiation and function of human T lymphocytes cell 1980. 19:821-827.
- 101.- **LYDYARD P., GROSSI C.:** Células involucradas en la respuesta inmunitaria. En Roit I., Brostoff J., Male D. *Inmunología*. Editorial Salvat 2ª edición. 1991:2.2- 2.18.

BIBLIOGRAFIA

- 103.- **KOREN H.S.:** Macrophage. Mediated antibody dependent celular cytotoxicity .
N.Y.Marcel Pekker.1983.
- 104.- **OWEN M.:**El Sistema Mayor de Histocompatibilidad. En Roit I.,Brostof J.; Male D.
Inmunologia. Editorial Salvat 2ª edición 1991:4.1-4.12
- 105.- **GERMAIN R.N.,MALISSEN B.:BODMER W.F.:**Analysis of the expression and
function of class-II major histocompatibility complex-encoded molecules by DNA-
mediated gene transfer. Ann. Rev of Immunol. 1986, 4: 281-315.
- 106.- **BJORKMAN P.J.,SAPER M.A.,SAMAROUI B., et al:** Structure of the human class
I histocompatibility antigen. 1987; 329: 506-512.
- 107.- **LONG E. :**Isolation of distinct cDNA clones encoding HLA-DR beta chains by use
of expression assay. Proct Natl Acad Sci USA. 1982. 79: 7465-7469.
- 108.- **KABAWAT S.E.,BAST R.C.Jr.,WELCH W.R.et al:** Expression of histocompatibility
antigens and nature of inflammatory infiltrate in ovarian neoplas. Int. J. Cancer
1983: 323-328.
- 109.- **GODMAN J.W.:**Immunoglobulins : Structura & function.In basic Clinical
Immunology. Stites. Longe Medical Publications. 1987: 27-31.

BIBLIOGRAFIA

- 110.- **TURNER M.:** Moléculas que reconocen al antígeno. En Roit I., Brostoff J., Male D. **Inmunología. Editorial Salvat 2ª Edición. 1991: 5.1-5.11.**
- 111.- **MCCARLEY D.L., SHAH V.O. and WEINER P.S.:** Purified human monocyte subsets as effector cells in anti-body-dependent cellular cytotoxicity (ADCC). **Immunol 1983 131:1780-1785.**
- 112.- **OHANIAN S.H., SCHLAGER S.J.:** Humoral immune killing of nuclear cells: Mechanism Mechanisms of complement dependent attack and target defense **CRC crit.Rev.Immunol.1981.1:165-209.**
- 113.- **ROTE N.S.:** The immune response. Immunology in obstetrics and gynecology. **Normalk, CT: Appleton-Century-Crofts.1985:27-32.**
- 114.- **JACOTOT B.:** Manual de Inmunopatología. Toray-Masson S.A. Barcelona 1ª edición. 1960: 35-43.
- 115.- **HELLSTROM L.:** Cell-mediated reactivity to human tumor-type associated antigens: Does it exist? **J.Biol.Response Mod 1983:2:310-314.**

BIBLIOGRAFIA

- 116.- **DREBIN J.A.:** Regulation of the response to antigens on the malignant cell surface. Springer Semin Immunopathol 1982;5:175-180 .
- 117.- **FAUCI A.S.:** Activation and regulation of human immune responses. Implications in normal and disease states. Ann.Int. Med 1983; 99. 61-65.
- 118.- **HENNEY C.S.:** Cell-mediated cytotoxicity.Fundamental Immunology, New York. 1984 pp: 669-684.
- 119.- **HERBERMAN R.B.:** Natural Killer cells and other natural effectors cells. N.Y.: Academic Press Inc.1982.: 124-131.
- 120.- **UCHIDA A.:** Lysis of fresh human tumor cells by autologous large granular lymphocytes from peripheral blood and pleural effusions. Int J. Cancer.1983;32: 37-44.
- 121.- **HERBERMAN R.B.:**Regulation of natural killer cell activity. Biological Responses in Cancer.Progress Toward Potential Applications.N.Y. 1984. 121-144.
- 122.- **WHITSIDE T.L.:**The role of natural killer cells in human disease. Clin. Immunol Immunopathol.1989; 53:1-23.

BIBLIOGRAFIA

- 123.- **EVANS R.:** Macrophagos in neoplasms: News insights and implications in tumor immunology. *Cancer Metastasis Rev* 1982; 1: 227-231.
- 124.- **DENOTTER W.:** Macrophagos and antitumor reactions. *Cancer Immunol. Immunother.* 1983. 16: 67-71.
- 125.- **FELDMAN M., MALE D.:** Cooperación celular en la respuesta de anticuerpos. En Roit I., Brostoff J., Male D. *Inmunología*. Editorial Salvat 2ª edición. 1991; 8.1-8.11.
- 126.- **ROOK G.:** Respuestas inmunitarias mediadas por células. En Roit I., Brostoff J., Male D. *Inmunología*. Editorial Salvat. 2ª edición. 1991. 9.1-9.12.
- 127.- **OPENHEIM J.J., RUSCETTI F.W., FALTYNEK C.R.:** Interleukins & Interferon. En Stites D.P., Stobo J.D., Wells J.V. *Basic & Clinical Immunology*. Editorial Lange 6ª edición 1987. 82-95.
- 128.- **DUMONDE D.C.:** Lymphokines: Mono-antibody mediators of cellular immunity generated by lymphocyte activation. *Nature* 1969; 224: 38-43.
- 129.- **DINARELLO C., MIER J.:** Currents concepts: Lymphokines. *N.England J. Med* 1987; 317: 940-945.

BIBLIOGRAFIA

- 130.- **HAMBLIN A.S.:** Lymphokines.Serie In Focus.Editorial IRL Press (Oxford). 1988
- 131.- **OPPENHEIM J.J.:** Antigen-non-specific-lymphokines: An overview. *Methods Immunol.* 1985; 357: 116-123.
- 132.- **PLATANIAS L.C.; VOGELZANG N.J.:** Interleukin-1: biology, pathophysiology and clinical prospects. *The Amer. J. Medicine* .1990; 89: 621-628.
- 133.- **GULICK T.; CHUNG M.K.; PIEPER S.J. et al:** Interleukin-1 and tumor necrosis factor necrosis factor inhibit cardiac myocyte beta-adrenergic responsiveness. *Proct Natl Acad Sci USA.*1989;86: 6753-6758.
- 134.- **TEWARI A.; BUHLES W.C; STARNES H.F:** Preliminary report: effects of interleukin-1 beta on platelet counts. *Lancet.* 1990:712-717.
- 135.- **CARTER D.B. DEIBEL M. R. ; DUNN C.J. et al:** Purification, cloning, expression and biological characterization of an interleukin-1 receptor antagonist protein. *Nature* 1990; 344: 633-638.
- 136.- **OHLSSON K.; BJORK P.; BERGEN M. et al:** Interleukin-1 receptor antagonist reduces mortality from endotoxin shock. *Nature* . 1990; 348: 550-556.

BIBLIOGRAFIA

- 137.- **BEUTLER B.; CERAMI A.:** The history, properties and biological effects of cachectin. *Biochem.* 1988;27: 7575-7582.
- 138.- **O' MALEI W.; ACHINSTEIN B.; SHEAR M.:** Action of bacterial polysaccharide on tumors.II. Damage of sarcoma 37 by serum of mice treated with *Serratia Marcescens* polysaccharide, and induced tolerance. *JNCI.* 1962; 29: 1169-1175.
- 139.- **CARSWELL E.; OLD L.; KASSEL R. et al.:** And endotoxin -induced serum factor that causes necrosis of tumors. *Proct Natl Acad Sci USA.* 1975; 72:3666-3670.
- 140.- **TRACEY K.; VLASSARA H.; CERAMI A. :** Cachectin. Tumor necrosis factor. *Lancet* 1989: 1122-1125.
- 141.- **BEUTLER B.; CERAMI A.:** Cachectin (tumor necrosis factor): a macrophage hormone governing cellular metabolism and inflammatory response. *Endocr.Rev* 1988; 9: 57-66.
- 142.- **ZIEGLER E.:** Tumor necrosis factor in humans. *N.Engl J. Med.* 1988; 318: 1533-1535.
- 143.- **BEUTLER B.; CERAMI A.:** Cachectin: more than a tumor necrosis factor. *N.J. Engl. Med* 1987; 316: 379-385

- 144.- **BEUTLER B.; CERAMI A.:** Cachectin and tumor necrosis factor as two sides of the same biological coin. *Nature* 1986; 320: 584-588.
- 145.- **COOPER N.R.:** The Complement System. En Stites D.P., Stobo J.D., Wells J.V.: *Basic and Clinical Immunology*. Editorial Lange. 6ª edición 1987; 114-127.
- 146.- **WALPORT M.:** El Complemento. En Roitt I., Brostoff J., Male D. Editorial Salvat 2ª edición 1991. 13.1-13.16.
- 147.- **FRANK M.:** The Complement System in Immunological Diseases. Edited by Samter M., Talnaga D., 4ª edición. 1988. 203-232.
- 148.- **COOPER N.R.:** The classical complement pathway, activation and regulation of the first complement component. *Advances in Immunology*. 1985; 37: 151-216.
- 149.- **MERUELO D.; BACH R.:** Genetic of resistance to virus induced leukemias. *Adv. Cancer Res.* 1983. 40: 107-188.
- 150.- **HAND PH.; NUTI M.; COLCHER D. et al:** Definition of antigenic heterogeneity and modulation among human mammary carcinoma cell populations using monoclonal antibodies to tumor-associated antigens. *Cancer Res.* 1983; 43: 728-735.

- 151.- **NOWELL P.C.:** The clonal evolution of tumor cell populations. *Science*. 1976; 194: 23-27.
- 152.- **SPREMULLI E.M.; SCOTT C.; CAMPBELL D.E.:** Characterization of two metastatic subpopulations originating from a single human colon carcinoma. *Cancer*. 1983; 43: 3828-3832.
- 153.- **OLD L.J.; STOCKERT E.; BOYSE E.A. et al:** Antigenic modulation loss of TL antigen from cells exposed to TL antibody. Study the phenomenon in vitro. *J. Exp Med* 1968; 127: 523-539.
- 154.- **HELLSTROM I.; HELLSTROM K.:** Lymphocyte mediated cytotoxicity and blocking serum activity to tumor antigens. *Adv Immunol*. 1974; 18: 209-213.
- 155.- **SCHATTEN S.; GRANSTEIN R.D.; DREBIN J.A. et al:** suppressor T cells and the immune response to tumors. *J. Immunol*. 1983; 130: 1930-1936.
- 156.- **HAYES C.A.; KLYCZEK K.K.; KRUM D.P. et al:** Chromosome 4-Jt controls murine T cell surface I-J expression. *Science*. 1984; 223: 559-563.
- 157.- **BAST R.C. Jr:** Effects of cancers and their treatment on host immunity. *Cancer Medicine*. 1982: 1134-1173.

- 158.- **PLESCIA O.J.; SMITH A.H.; GRINWICH K.:** Subversion of immune system by tumor cells and role of prostaglandins. Proc. Natl. Acad. Sci.(USA). 1975; 72: 1848-1852.
- 159.- **MATHE G.:** Active Immunotherapy. Adv Cancer Res 1971; 14:1-12.
- 160.- **HADDEN J.W., SPREAFICO F.:** News Perspectives in Immunotherapy. Springer Seminars Immunopathol. Heidelberg. 1985; 315-326.
- 161.- **MITCHELL M.S., HAREL W., KAN MITCHELL et al:** Active specific immunotherapy of melanoma with allogeneic cell lysates. Acad Sci. 1993; 690: 153-166.
- 162.- **THANHAUSER A., BOHLE A., FLAD H.D. et al:** Induction of BCG activated killer cells from human peripheral blood mononuclear cells against human bladder carcinoma cell lines in vitro. Cancer Immunol Immunother 1993; 37: 105-111.
- 163.- **WEATHERALL D.J.:** Gene therapy in perspective. Nature 1991; 349: 275-281.
- 164.- **KOEPPEN H., SINGH S., SCHREIBER H.:** Genetically engineered vaccines. Comparison of active versus passive immunotherapy against solid tumors. Ann-N-Y Acad Sci. 1993; 690: 244-255 .

- 165.- **COHEN J.S.:** Oligodeoxynucleotides: Antisense Inhibitors of Gene Expression. CRC. Press Inc.Boca Raton. Florida.1989; 103-109.
- 166.- **HERNANDEZ BRONCHUD M.:** Manual Molecular del Cáncer. Edit MCR 1992; 93-120 .
- 167.- **EBINA T.; MURATA K.:** Diferences in antitumor effect of varios BRMs by intratumoral administration: induction of immunosupresive acidic protein. Gan To Kagaku Ryoho.1993. Aug; 20(11): 1453-6.
- 168.- **CHIRIGOS M.A.,SCHLICK E.,TALMADGE J.,et al :**Nuevos acercamientos a la Terapéutica del Cáncer. Estado actual de los MRB.1986; 49-86.
- 169.- **MANTOVANI A.; SESSA C.; PERI G. et al:** Intraperitoneal administration of *Corynebacterium parvum* in patients with ascitic ovariam tumors resistant to chemotherapy. Effects on citotoxicity tumor associated macrophages and NK cells. Int. J. Cancer. 1981; 27: 437-446.
- 170.- **HALPER B.:** *Corynebacterium parvum*: Applications in experimental and clinical oncology. Plenum Press.N.Y.1975: 143-149.

- 171.- **TEPPER J.E.; BERNARD S.A.:** Adjuvant therapy of rectal cancer. *Oncology* Huntingt. 1992 Nov; 6 (11): 83-90.
- 172.- **ZATZ MM.; LOW TLK.; GOLDSTEIN A.J.:** Role of thymosin and other thymic hormones in T cell differentiation. Plenum Press. 1982; 219-248.
- 173.- **STOTTER H., LOTZE M.T.:** Human lymphokine activated killer cell activity. Role of IL2, IL4 and IL7. *Arch Surg* 1991; 126: 1525-1530.
- 174.- **GOLDE D.W.; MUGGIA F.:** Interferon therapy. Progress and perspectives. *Cancer*. 1987; 59: 593-597.
- 175.- **KRADIN R.L.; KURNICK J.T.; LAZARUS T.S. et al:** tumour infiltrating lymphocytes and IL2 in treatment in advanced cancer. *The Lancet*. 1989; 1: 577-582.
- 176.- **BEGENT R.H.J.:** Targeted monoclonal antibodies for cancer therapy. En *Genes and Cancer*. Carney D y Sikora K. (eds). John Wiley & Sons. N.Y. 1990 178-185.
- 177.- **HIRD V.; EPENETOS A.A.:** Immunotherapy with monoclonal antibodies. En *Genes and Cancer*. Carney D y Sikora K. (eds). John Wiley & Sons. N.Y. 1990. 203-210.

- 178.- **ROSEMBERG S.A.; LOTZE M.T.; MUUL L.M. et al.:** Observations on the systemi systemic administration of autologous lymphokine activated killer cells and recombinant interleukin 2 to patients with metastatic cancer. N.Engl. J. Med. 1985; 313: 1485-1493.
- 179.- **EBERT T SCHMITZ DRAGER B.J. ACKERMANN R.:** The role of cytokines in the therapy of renal cell carcinoma. Recents Results Cancer Res. 1993; 126: 113-118.
- 180.- **MITSUDOMI T., STEIMBERG S.M., NAU M.M. et al:** p53 gene mutations in non non small cell lung cancer lines and their correlation with the presence of ras mutations and clinical features. Oncogene 1992; 7: 171-180.
- 181.- **HERNANDEZ BRONCHUD M.:** "La Industria del DNA: Principios Básicos y Potencial Futuro" Editorial MCR, Barcelona , 1992.
- 182.- **MONSONEGO J.:** Diagnóstico precoz del cáncer de cuello y sus precursores: Realidades y controversias. Práctica Ginecología y Obstetricia 1993. (1): 1-2
- 183.- **CELORIO J. A.:** Neoplasia cervical intraepitelial en Celorio J.A.; Calero F.; Armas A. Fundamentos de Oncología Ginecológica. Ediciones Díaz de Santos S.A. 1987: 295-323.

- 184.- **STONE K. M.:** Aspectos epidemiológicos de la infección genital por papilomavirus humano. *Clín Obst Ginecol.* 1989; Vol 1: 111-115
- 185.- **RIOU G.F.; BOURHIS J.; LE M.G.:** The c-myc proto-oncogene in invasive carcinomas of the uterine cervix : clinical relevance of over-expression in early stages of cancer. *Anticancer Res.* 1990; 10: 1225-31.
- 186.- **AVERETTE H.E.; STEREN A. and NGUYEN N.:** Screening in Gynecologic cancers. *Cancer Suppl.* 1993. vol 72 (3): 1043-1049.
- 187.- **KOOS I.G.:** Cytologic and histologic manifestations of human papillomavirus infection of the female genital tract and their clinical significance. *Cancer* 1987; 60: 1942-1948.
- 188.- **JONES H.:** Tratamiento de la neoplasia cervicouterina. *Clín Obst Ginecol.* 1990; 9 Vol 4: 799-807.
- 189.- **BORIN C.C.; SQUIRES T.S; TONG T:** Cancer statistics: 1992. *CA Cancer J.Clin.* 1992; 42: 19-38.
- 190.- **WHITE L.N.:** An overview of screening and early detection of gynecologic malignancies. *Cancer . Supplement August 1, 1993. Volume 72. N° 3 :1400-1405.*

- 191.- **PARAZZINI F.; LA VECCHIA C.; BOCCIOLONE L et al:** Review the epidemiology of endometrial cancer. *Gynecol Oncol* 1991; 41: 1-16.
- 192.- **AUSTIN H.; DREWS C.; PARTRIDGE E.:** A case control study of endometrial cancer in relation to cigarette smoking serum, estrogen levels, and alcohol use. *Am. J. Obstet Gynecol.* 1993 Nov 169 (5) : 1086-91.
- 193.- **JICK S. S.; WALKER A.M.; JICK H.:** Oral contraceptives and endometrial cancer. *Obstet Gynecol* 1993 Dec: 82 (6): 931-5.
- 194.- **CASTELSAGUE X.; THOMPSON W.D.; DUBROW R.:** Intraute contraceptio and the risk of endometrial cancer. *Int J Cancer.* 1993 Jul 30; 54 (6): 911-6.
- 195.- **HAWWA Z. M.; NAHHAS W.A. COPENHAVEN E.H.:** Postmenopausal bleedin. *Lahey Clinic Found Bull* 1970; 19: 61-69.
- 196.- **RAMZY I.; MODY D.R. :** Gynecologic cytology: practical considerations and limitations. *Clin Lab Med* 1991; 11: 271-92..
- 197.- **STOVALL T.G.; PHOTOPULOS G.L.; POSTON W.M.et al:** Pipelle endometrial sampling in patients with known endometrial carcinoma. *Obstet Gynecol.* 1991; 77: 954-956.

- 198.- **GRANBERG S.; WIKLAND M.; KARLSSON B. et al:** Endometrial thicknessas mesasured by endovaginal ultrasonography for identifying endometrial abnormality. Am J. Obstet Gynecol. 1991; 164: 47-52.
- 199.- **GUSBERG S.B.:** Virulence factors in endometrial cancer. Cancer. 1993.; 71: 1464-1466.
- 200.- **MORELL A.R. :** El antígeno carcinoembrionario.Consideraciones actuales.Med. Clin 1987;88:541-545.
- 201.- **THOMPSON J.A.; GRUNERT F.; ZIMMERMANN W.;** Carcinoembryonic antigen gene family: molecular biology and clinical perspectives. J.Clin Lab Anal 1991: 5 (5) : 344-66.
- 202.- **MORENO NOGUEIRA J.A.; REY ROMERO C.:**Utilidad clínica de los marcadores tumorales séricos . Controversias en Oncología 1993; (2) 31-71.
- 203.- **STEVENS D. P.; MAC KAY LR.:** Increased carcinoembryonic antigen in heavy cigarette smockers. Lancet 1973; 2: 1238-1239.
- 204.- **DISAIA P.J. ; HAVERBACK B.-J.; DYCE B.J.:** Carcinoembryonic antigen in patients with gynecologyc malignancies. Am J Obstet Gynecol 1975; 121, 159-163

- 205.- **VERLOOY H.; DEVOS P.; JANSSENS J. et al** : Clinical significance of squamous cell carcinoma antigen in cancer of the human uterine cervix. Comparison with CEA and Ca-125. *Gynecol Obstet Invest* 1991; 32(1): 55-8.
- 206.- **WAGNER R. K.; ATZINGER A.; BREIT A.**: The monitoring of gynecological radiotherapy using serial tumor marker determinations. *Strahlenther Onkol* 1990 Jul; 166 (7): 446-52.
- 207.- **VAN NAGELL J.R. ; MEEKER W.R; PARKER J.C. et al** : Carcinoembryonic antigen in intraepithelial neoplasia of the uterine cervix. *Am J Obstet Gynecol* 1976; 126. 105-109.
- 208.- **SCHARTZ P.E.; CHAMBERS S.K.; CHAMBERS J.T et al**: Circulating tumor markers in the monitoring of gynecologic malignancies. *Cancer* 1987 60: 353-361.
- 209.- **TE VELDE E.R.; PERSIJN J. P.; BALLIEUX R.E. et al**: Carcinoembryonic antigen serum levels in patients with squamous cell carcinoma of the uterine cervix: clinical significance. *Cancer* 1982; 49: 1866-1873
- 210.- **BALASCH J. ; VILELLA R. CASAMITJANA R. et al** :Estudio inmunitario en el cáncer ginecológico: Detección de marcadores tumorales. *Acta Ginecológica* 1979 Vol XXIV 41-52.

- 211.- **BAST R.C.; KLUG T.L.; JOHN E.S. et al:** A radioimmunoassay using a monoclonal antibody to monitor the course of epithelial ovarian cancer. *N. Engl J Med.* 1983; 309:883-887.
- 212.- **MEIR W.; STEIBER P.; FATEH-MOGHADAM A. et al :** Ca 125 in gynecological malignancies. *Br J Cancer Clin Oncol* 1988;158: 399-402.
- 213.- **BERCHUCK A.; BOENTE M.P.; BAST R.C.:** The use of tumor markers in the management of patients with gynecologic carcinomas. *Clin Obstet Gynecol.* 1992 Mar; 35 (1): 45-54.
- 214.- **GARZETTI G.C.; DILAURO R.M.; CIAVATTINI A. et al:** Tumor marker in the early diagnosis of recurrence in gynecologic neoplasms. *Ann Obstet Gynecol Med Perinat.* 1991 Sept-Oct; 112 (5): 320-3.
- 215.- **TOMAS C.; RISTELI J.; RISTELI L. et al:** Use of various epithelial tumor marker in the assessment of cervical carcinoma. *Obstet Gynecol.* 1991 Apr; 77(4): 566-72.
- 216.- **YEDEMA K.A.; KENEMANS P.; WOBES T. et al:** Carcinoma associated mucin serum markers CA M26 and CA M29: efficacy in detecting and monitoring patients with cancer of the breast, colon, ovary, endometrium and cervix.. *Int J Cancer.* 1991 Jan 21; 47 (2): 170-9.

- 217.- **INABA N.; TAKAMIZAWA Y.; OTA J.:** Diagnosis: tumor marker.Gan No Rinsho. 1990 Aug; 36 (10): 1123-7-
- 218.- **TOMAS C.; PENTTINEN J.; RISTELI J.et al:** Serum concentrations of Ca-125 and amino terminal propeptide of tipe III procollagen in patients with endometrial cancer.Cancer .1990 .Dec. Vol 66 2399-2406.
- 219.- **KUKURA V.; ZANINOVIC L.; HRDINA B.:**Concentrations of Ca-125 tumor marker in endometrial carcinoma.Gynecol Oncol 1990 Jun: 37 (3): 388-9.
- 220.- **KATO H.:** Antígeno SCC en el carcinoma escamoso.Lab 2000. 1988; 18:47-56
- 221.- **DUCK J.M.; VADER P. C. ; KLASKE A.Het al:** Elevated levels of squamos cell carcinoma antigenin patients with a benign disease of skin Cancer 1989; 64: 1652-1655.
- 222.- **VAN DER SIJDE R.; DEBRUIJIN H.W.; KRANS M. et al :** Significance of serum SCC antigen as a tumor marker in patients withsquamous cell carcinoma of the vulva. Gynecol Oncol 1989; 35: 227-231.
- 223.- **BRIOSCHI P. A.; BISCHOF P.; DELAFOSSE C.** Squamous cell carcinoma antigen (SCC) values related to clinical outcome of preinvasive and invasive cervical carcinoma. Int J Cancer 1991 Feb 1: 47 (3): 376-9.

- 224.- **MAIMAN M.; FEUER G.; FRUCHTER R.G.; et al:** Value of squamous cell carcinoma antigen levels in invasive cervical carcinoma. *Gynecol Oncol* 1989 34: 312-316.
- 225.- **LAM C.P.; YUAN C.C.; JENG F.S et al:** Evaluation of squamous cell carcinoma antigen, carcinoembryonic antigen, tissue polypeptide antigen in the detection of cervical cancer. *Chung Hua I Hsue Tsa Chih.* 1992. Jul 50: 7-13
- 226.- **MARVO T.; SHIVATA K.; KIMURA K. et al;** Tumor associated antigen TA-4 in the monitoring of the effects of therapy for squamous cell carcinoma of the uterine cervix. *Cancer* 1985 ; 56: 302-308.
- 227.- **NGAN H.Y.; CHENG G.T.; YEUNG W.S.et al:** The prognostic value of TPA and SCC in squamous cell carcinoma of the cervix. *Gynecol Oncol* 1994. Jan: 52(1)63-8.
- 228.- **MATORRAS R.; RODRIGUEZ ESCUDERO F.J.; DIEZ J. et al :** Monitoring endometrial adenocarcinoma with a four tumor marker combinatio: Ca-125, SCC, Ca 19.9 and CA 15.3. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 1992 Aug; 71: 458-64.
- 229.- **RUIZ-CABELLO F.; KLEIN E.; GARRIDO F.:** MHC antigens on human tumors. *Immunol. Let.* 1991 ; 29: 181-190.

- 230.- **LOPEZ NEVOT M. A.; ESTEBAN F.; FERRON A . et al** : HLA class I gene expression selective losses of HLA antigens on colorectal gastric and laryngeal carcinomas. demonstration of expression on human primary tumours and autologous metastases: *cancer*.1989 ; 43: 436-442.
- 231.- **BERNARDS R.; DESSAIN S.K.; WIMBERG R.A.**: N-myc amplification causes down modulation of MHC class I antigen expression in neuroblastoma.*Cell* 1986; 47: 667.
- 232.- **MOMBURG F. and KOCH S.**: Selective loss of beta 2 microglobulin mRNA in human colon carcinoma *J.ExpMed* 1989; 169: 309 .
- 233.- **TORRES L.M.; CABRERA T.; CONCHA A. et al**: HLA class I expression and HPV 16 sequences in premalignant and malignant lesions of cervix.*Tissue antigen* 1993; 41: 65-71.
- 234.- **DOYLE A.S.; MARTIN V.J.; FUNA K. et al**; Markedly decreased expression of the class I histocompatibility antigen, protein and mRNA in human small-cell lung cancer. *J Exp Med.* 1985; 161: 1135-51.

- 235.- **VANKY F.; ROBERTS t.; KLEIN e. et al** : Autotumor recognition following in vitro induction of MHC antigen expression on solid human tumors: stimulation of lymphocytes and generation of citotoxicity against the original MHC-antigen-negative tumor cells. *Cancer Immu. Immunother* 1989; 28:17-21.
- 236.- **DAAR A.S.; FUGLE S.V.; FABRE J.W. et al**: The deatailed distribution of MHC class II antigens in normal human organs .*Transplantation*. 1984; 38: 229-234.
- 237.- **PATERSON A.C.; SCIOT R.; KEWS M.C et al**: HLA expression in human hepatocelular carcinoma. *Br J Cancer* 1988; 57: 369-373.
- 238.- **GLEW S.; DUGGAN M.; CABRERA T. et al** : HLA class II antigen expression i n human papillomavirus associated cervical cancer .*Cancer Research* 1992; 52 : 4009-16.
- 239.- **ESTEBAN F.; RUIZ CABELLO F.; CONCHAS A. et al**: HLA-DR expression is associated with excellent prognosis in squamous cell carcinoma of the larinx. *Clin Exp Metastasis* .1990; 8: 319-328.
- 240.- **RUITER D.J.; BROCKER E.B.; FERRONE S.**: Expression and susceptbility to modulation by interfeons of HLA class I and II antigen on melanoma cells:

immunohistochemical analisis and clinical revelance. J Immunogenet.1986, 13:
229-234.

241.- **FELDMANN M.; MALE D.:** Cooperación celular en la respuesta a anticuerpos.
En Roitt I, Brostoff J., Male D. Edit.Salvat 2ª edición 1991: 8.1-8.11.

242.- **ROOK G.;** Respuesta inmunitaria mediada por células. En Roitt I, Brostoff J.,
Male D. Editorial Salvat 2ª edición 1991:9.1-9.12.

243.- **NAKAZAKI H.:** Preoperative and postoperative cytokines in patients with
cancer.Cancer. 1992. August.70: 709-713.

244.- **RAVIKUMAR T.; STEELE G.; RODRICK M. et al:** Effects of tumor growth on
interleukins and circulating immune complexes. Mechanisms of immune
unresponsiveness. Cancer 1984.Mar 15 ; 53 (6): 1373-8.

245.- **OHSHIKA Y.; UMESAKI N. and SUGAWA T:** Immunodulating capacity of the
monocyte-macrophage system in patients with uterine cervical cancer. Nippon
Sanka Fujinka Gakkai Zasshi 1988. May; 40 (5): 601-608.

246.- **FRIESE K.; WESCH D.; GALLATI N. et al:** Cytokine production by gynecologic
cancers. Geburtshilfe-Frauenheilkd. 1991 Mar; 51 (3): 178-81.

- 247.- **DE JACO P.; ASSELAIN B.; ORLANDI C. et al:** Evaluation of circulating Tumor Necrosis Factor- α in patients with gynecological malignancies. *Int. J. Cancer.* 1991; 48: 375-378.
- 248.- **ELSASSER B. U.; VON KLEIST S.; SAUTHER W. et al;** Impaired cytokine production in whole blood cell cultures of patients with gynaecological carcinomas in different clinical stages. *Br. J. Cancer.* 1993 Jul; 68 (1): 32-36.
- 249.- **MALIK S.T.; EPENETOS A. A.:** The immune system and gynecological cancer. *Baillieres Clin. Obstet. Gynaecol.* 1992 Set; 6(3): 641-656.
- 250.- **AIZAWA M.; SOTHAM C.M.:** Serum antibodies following homo-transplantation of human cancer cells. *Ann N.Y. Acad. Sci.* 1960; 293:87-92.
- 251.- **BALACH J.; VILELLA R.; VANRELL J.A. y GONZALEZ -MERLO J:** Estudio inmunitario en el cáncer. Determinación de inmunoglobulinas cuantitativas. *Acta Ginecológica.* 1979. Vol XXXIV . p.p.: 139- 147.
- 252.- **BALACH J.; VIVES J.; GONZALEZ MERLO J.:** Sequential evaluation of general immunocompetence in Gynecologic Cancer. *Gynecol Oncology.* 1983; 15: 396-402.
- 253.- **ARGAWAL J.; GUPTA S.C.; SINGH P. A. et al:** A study of humoral factors in carcinoma cervix. *Indian J. Pathol Microbiol.* 1992 Jan ; 35 (1): 5-10.

- 254.- **HUGHES N.R.:** Serum concentration concentrations of γ G, γ A and γ M immunoglobulins in patients with carcinoma,melanoma and sarcoma. *J.Natl.Cancer Inst.* 1971; 46: 1015-1021.
- 255.- **ADELUSI B. and SALIMONU L. S.:** Serum immunoglobulin concentrations in sera of patients with carcinoma of the cervix.*Gynecol Oncol.* 1981; 75-79.
- 256.- **ALASABTI E.A.K.:** The immunostatus of untreated cervical carcinoma.*Gynecol Oncol.* 1980;9:6-11.
- 257.- **WOLF J.P.; OLIVEIRA C. F.:** Cancer of the ovary. The level of immunoglobulins in patients with primary ovarian tumors. *J. Gyne. Obstet. Biol. Reprod.* 1975; 4; 75-79.
- 258.- **JURANIC Z.; VUCKOVIC DEKIC L. and DURBABA M.:** Humoral immunity in patients with carcinoma of the uterine cervix effects of radiation therapy. *Neoplasm.* 1993; 40 (5): 297-300.
- 259.- **SAITO T.; KUWAHARA A.; KINOSHITA T. et al:** Increases in immunoglobulin and complement in patients with esophageal or gastric cancer. *Surg. Today.* 1992; 22 (6): 537-42.

- 260.- **ROCKLIN R.E.:** Inmunidad celular. En Stein J.H.y cols (eds). Medicina Interna (1ª edición).Salvat editores S.A. Barcelona 1983.
- 261.- **GLUCROFT J.:** Skin tests for delayed hipersensitivity and immunological responses. Infusion. 1981. 5(6): 141-143.
- 262.- **BEHAMOU C.L.:** Exploration de l'immunité à médiation cellulaire. Nouv Presse Méd .1981; (21): 10-14.
- 263.- **CATALONA W. J. and CHRETIEN P.B.:** Abnormalities of cuantitatives dinitrochlorobenzene sensitization in cancer patients : Correlation with tumour stage and hitology. Cancer 1973 31:353-357.

UNIVERSIDAD DE SEVILLA

Reunido el Tribunal integrado por los abajo firmantes
en el día de la fecha, para juzgar la Tesis Doctoral de

D. Pilar Villanueva Ortega
titulada Expresión antigénica tumoral y respuesta
de inmunología en pacientes con carcinoma
de cervice y endometrio en estadios iniciales
acordó otorgarle la calificación de apto con honores

Sevilla, a 1 de diciembre de 1994

El Vocal,

El Vocal,

El Vocal,

El Presidente

El Secretario,

El Doctorado,