

T.D
I/8

UNIVERSIDAD DE SEVILLA
SECRETARIA GENERAL

Queda registrada esta Tesis Doctoral
al folio 110 número 5 del libro
correspondiente.

Sevilla, _____

12 JUN 1980

El Jefe del Negociado de Tesis,

UNIVERSIDAD DE SEVILLA
FACULTAD DE MEDICINA

Alcázar

" ESTUDIO COMPARATIVO DE LA BETA-2 MICROGLOBULINA Y ACIDO
SIALICO UNIDO A LIPIDOS DEL PLASMA COMO MARCADOR TUMORAL "

UNIVERSIDAD DE SEVILLA

Depositado en

de la
de esta Universidad desde el día
hasta el día

Sevilla de
EL DIRECTOR DE

de 19



Tesis presentada por D^a
Reyes de la Iglesia Huerta
para optar al grado de Doctor
en Medicina y Cirugía.



AVDA. DR. FEDRIANI S/N
SEVILLA

UNIVERSIDAD DE SEVILLA
DEPARTAMENTO DE MEDICINA

DIRECCION

RAMON PEREZ CANO, DIRECTOR DEL DEPARTAMENTO DE MEDICINA DE
LA UNIVERSIDAD DE SEVILLA:

AUTORIZA: a D^a Reyes de la Iglesia Huertas Licenciada en Medicina y Cirugía, a presentar el trabajo titulado " ESTUDIO COMPARATIVO DE LA BETA-2 MICROGLOBULINA Y ACIDO SIALICO UNIDO A LIPIDOS DEL PLASMA COMO MARCADOR TUMORAL", para optar al Título de Doctor en Medicina y Cirugía.

Y para que conste, firmo la presente en Sevilla a ocho de Mayo de mil novecientos ochenta y nueve.

UNIVERSIDAD DE SEVILLA
Departamento de Medicina
DIRECCION
Ramon Pérez Cano

Fdo.: R. Pérez Cano

DIRECTOR DEL DEPARTAMENTO DE MEDICINA

DON MIGUEL GARRIDO PERALTA, CATEDRATICO DE PATOLOGIA Y CLINICA MEDICAS (I) DE LA FACULTAD DE MEDICINA DE LA - UNIVERSIDAD DE SEVILLA:

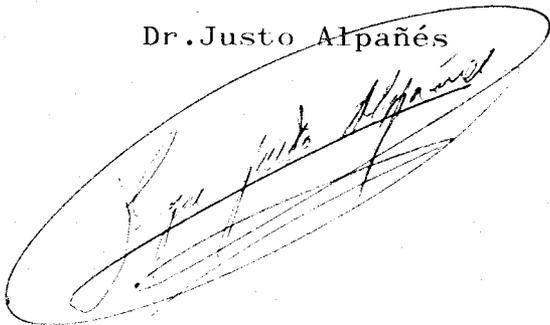
CERTIFICA:

Que D^a REYES DE LA IGLESIA HUERTA ha realizado la TESIS DOCTORAL sobre "ESTUDIO COMPARATIVO DE LA BETA-2-MICROGLOBULINA Y ACIDO SIALICO UNIDO A LIPIDOS DEL PLASMA COMO MARCADOR - TUMORAL", en esta Cátedra bajo mi dirección y la co-dirección del Dr. Justo Alpañés, considerándola APTA para su lectura.

Y para que conste firmo la presente en Sevilla, a tres de mayo de mil novecientos ochenta y / nueve.

EL CO-DIRECTOR

Dr. Justo Alpañés

A handwritten signature in dark ink, enclosed within a large, hand-drawn oval. The signature is cursive and appears to read 'Justo Alpañés'.

EL DIRECTOR

Prof. Garrido Peralta.

Catedrático
de la Dpto. de Anatomía Interna
Prof. Miguel Garrido Peralta

DEDICATORIA

A la memoria de mi padre

A mi madre

AGRADECIMIENTOS

Deseo hacer constar mi mas sincero agradecimiento a todas las personas que han colaborado en la realización de esta Tesis Doctoral:

Al Prof. M: Garrido Peralta, titular de la 1ª Cátedra de Patología y Clinicas Médicas de esta Universidad, director de la misma, por todas las facilidades y ayuda prestada, por haber puesto los medios necesarios para la realización de este trabajo en su Departamento en cuyo seno, tengo el orgullo de haberme formado profesionalmente:

Al Dr. D: Enrique Justo Alpañes, Jefe del Servicio de Medicina Interna, mi maestro, impulsor, gestor y colaborador de este trabajo, por su dedicación y constante apoyo en todo momento, sin cuya intervención y dedicación, hubiera sido imposible llevar este trabajo a su fin.

Al Prof. R: Goberna, por las facilidades ofrecidas para que en su Departamento de Bioquímica, pudiera realizarse parte del trabajo experimental de esta Tesis:

Al Dr: F: Fabiani, Jefe del Laboratorio de Lipidos, artifice de la parte experimental por su valioso asesoramiento, corrección, consejos e incondicional apoyo en la elaboración de la misma, y a la Dra: Ramirez, adscrita al mismo Laboratorio por su ayuda prestada en este terreno.

Al Dr: Marañón, del Departamento de Medicina Nuclear, por haber tenido la gentileza de realizar las determinaciones de la beta-2-microglobulina:

Al Dr: D. Antonio de la Iglesia, mi hermano y amigo, del que siempre lo recibí todo, y en este caso me ha brindado todo su apoyo en los momentos difíciles en los que esta Tesis se estaba realizando:

A mis amigos por sus palabras de ánimo y por estar siempre dispuestos a ofrecerme su ayuda en lo que fuera necesario:

A mis pacientes anónimos:

A todos, gracias:

INDICE

| | <u>Pág</u> |
|---|------------|
| INTRODUCCION | 1 |
| I. <u>Marcadores tumorales</u> | 2 |
| I-1. Desarrollo tumoral | 4 |
| I-2. Papel desempeñado por el laboratorio en los tumores | 7 |
| I-3. Clasificación y estadíos | 10 |
| I-4. Bioquímica de las células tumorales | 15 |
| I-5. Definición de marcador tumoral ideal | 18 |
| I-6. Clasificación de marcadores tumorales | 20 |
| II. <u>Acido siálico unido a los lípidos del plasma y/o suero (LSA) como marcador tumoral</u> | 26 |
| II-1. Introducción al estudio de los gangliósi- dos..... | 26 |
| II-2. Estructura química de los glicoesfingolípi- dos: Gangliósidos | 29 |
| II-3. Nomenclatura de los gangliósidos | 37 |
| II-4. Métodos para la determinación de gangliósi- dos | 41 |
| II-5. Patrón y concentración de gangliósidos ... | 43 |
| II-6. Biosíntesis de gangliósidos | 44 |
| II-7. Degradación de gangliósidos | 48 |
| II-8. Función de los gangliósidos | 52 |
| III. <u>Beta-2-microglobulina como marcador tumoral</u> | 68 |
| III-1. Introducción al estudio de la B2m | 70 |
| III-2. Estructura y características físico-quími- ca de la B2m | 71 |
| III-3. Síntesis y catabolismo de la B2m | 74 |
| III-4. Interacciones de la B2m en el organismo .. | 82 |

| | <u>Pág</u> |
|---|------------|
| IV. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA | 92 |
| V. MATERIAL Y METODOS | 97 |
| V-I. Método para la determinación de LSA | 98 |
| V-II. Método para la determinación de B2m | 103 |
| VI. RESULTADOS | 109 |
| VII. DISCUSION | 224 |
| VIII. CONCLUSIONES | 250 |
| IX. BIBLIOGRAFIA | 254 |

I. INTRODUCCION

I. MARCADORES TUMORALES.

Se han descrito un gran número de marcadores biológicos del Cáncer, que junto con otros son objeto de la mayoría de las investigaciones actuales, las cuales han permitido obtener marcadores más específicos y han producido técnicas de fácil estandarización.

Las células de los tumores malignos producen y liberan con frecuencia diversas sustancias tales como antígenos, hormonas, / enzimas, poliaminas, etc., cuya presencia en el organismo puede ponerse de manifiesto mediante test de laboratorios adecuados. Los compuestos generados por el tumor propriamente dichos o por / las reacciones del organismo ante la neoformación se denominan / "marcadores tumorales" ó "marcadores biológicos del cáncer". Aun que tal denominación data ya de algunos años, su empleo se ha generalizado a partir del XII Congreso Internacional del Cáncer, celebrado en Buenos Aires en 1.978 (1).

La mayoría de los marcadores tumorales suelen dosificarse / en suero, aunque pueden evaluarse también en tejidos su otros lí-

quidos biológicos. En general, no son específicos de cáncer, detectándose su presencia en otras situaciones no neoplásicas. La diferencia entre patología tumoral y benigna, suelen ser de carácter cuantitativo, íntimamente relacionadas al tamaño del tumor. El marcador tumoral es sintetizado por la célula neoplásica, de ahí que a mayor número de ellas, mayor sea la concentración que podemos detectar (2). Algunos marcadores tumorales, en estadios iniciales del tumor suelen ser normales o indistinguibles de los detectados en otras situaciones no neoplásicas, por lo que su utilidad diagnóstica es escasa, de ahí el interés de algunos investigadores en encontrar otros marcadores más eficaces. Sus principales aplicaciones radican en el control evolutivo de la neoplasia, una vez ha sido esta diagnosticada (3).

El marcador tumoral suele ser un reflejo de la masa y/o actividad tumoral, dependiendo del número de células productoras. De ahí puede deducirse que las modificaciones provocadas por el tratamiento antineoplásico sean reflejadas por él, con disminución en caso de mejoría (menor número de células) o incremento en casos de resistencia (aumento del número de células). Además de esta aplicación de los marcadores tumorales, existen algunos con sensibilidad y/o especificidad suficiente, como para su aplicación en el diagnóstico o detección de recidiva local o a distancia (4).

Ya que después de las enfermedades cardíacas y circulatorias, el cáncer constituye la causa más frecuente de muerte, debe destacarse la importancia de los marcadores tumorales para el diagnóstico in vitro de la enfermedad.

El objetivo del diagnóstico tumoral sería el reconocimiento precoz y en la medida de lo posible inequívoco de los tumores, incluyendo el deseo de que existiera un "test tumoral universal".

A pesar de los conocimientos ya amplios que se tienen acerca de tumores y su diagnóstico, desgraciadamente, aún no es posible el reconocimiento precoz de un proceso maligno. No obstante el empleo correcto de los marcadores tumorales en el control evolutivo contribuye decisivamente al éxito terapéutico, y con ello a aumentar las posibilidades de supervivencia de los pacientes que padecen tumores malignos.

I-1. Desarrollo tumoral.

En el inicio de todo proceso tumoral se encuentra la transformación de una célula diferenciada normal en células que escapan a los mecanismos de control en lo que respecta a diferenciación y crecimiento. Aunque se conocen las diferencias entre células malignas y normales, no pueden indicarse las causas exactas de las informaciones bioquímicas que una célula debe perder o adquirir para poder degenerar transformándose en una célula cancerosa.

Para que se produzca esta transformación posiblemente deben darse varios factores, como por ejemplo factores genéticos, noxas químicas ó físicas, o también trastornos del sistema inmunitario.

El cáncer es un proceso a largo plazo y progresa a través de cuatro fases obligadas: de inducción, de localización in situ, de invasión y de diseminación. Durante la fase de inducción, la cual puede durar hasta 30 años, las células están expuestas a uno ó más carcinógenos. Estos carcinógenos ambientales pueden incluir radiación ó diversas toxinas. Se ha estimado que aproximadamente las tres cuartas partes de los cánceres humanos pueden deberse a estos factores ambientales.

Actualmente se creen que son necesarios muchos años de exposición antes que un carcinógeno sea capaz de ejercer su efecto sobre el huésped. Las alteraciones histológicas comienzan con una severa displasia y con el tiempo se transforman en un cáncer definitivo. Es obvio que no todos los individuos expuestos al mismo carcinógeno desarrollarán un cáncer. Adicionalmente existen otros factores que pueden desempeñar un papel en determinar que individuo va a desarrollar un cáncer. Estos factores incluyen la susceptibilidad individual o tisular, la presencia de otros carcinógenos o cocarcinógenos, el sitio en el que el carcinógeno puede actuar, la duración de la exposición y, obviamente, la naturaleza, cantidad y concentración del carcinógeno en cuestión. A menudo, el tiempo transcurrido entre la fase de inducción y el cáncer clínicamente aparente puede ser de hasta 20 años.

Después de la inducción sigue la fase in situ. Esta representa el tiempo durante el cual la célula se transforma en una célula cancerosa, pero en el que aún permanece localizada en el sitio original y no invade otros tejidos del organismo.

La tercera fase es denominada fase de invasión. En esta fase las células malignas se multiplican e invaden los tejidos más profundos a través de la membrana basal, lo que determina el pasaje de estas células a la circulación sanguínea y linfática.

La cuarta fase es la fase de diseminación. Durante esta fase, que dura entre 1 y 5 años, el cáncer invasor se disemina hacia diferentes partes del cuerpo distantes del sitio de origen - (5).

Es fundamental la detección temprana del cáncer, antes de la diseminación metastásica. Idealmente, el cáncer debería ser detectado durante la fase de inducción. Esto es imposible debido a que antes de la fase in situ no es posible saber si se desarrollará realmente un cáncer en el individuo. El enfoque siguiente consiste en detectar el cáncer en la fase in situ. Esto ha podido llevarse a cabo con gran éxito en pacientes con cáncer del cuello uterino por ejemplo. En estos casos, la técnica de frotis Pap (Papanicolau) ha sido sumamente importante. Cuando es posible detectar la presencia de un cáncer in situ del cuello uterino, el pronóstico es excelente. La mayoría de los tumores malignos son detectados durante la fase de invasión. Si aún no se ha producido la diseminación, el pronóstico es razonablemente favorable. La detección de diseminación local con o sin compromiso de los nódulos linfáticos a menudo posibilita la cura del tumor. Por el contrario, si ya se ha producido una diseminación el pronóstico es ominoso.

Varios factores desempeñan un papel en determinar la capacidad del cáncer para invadir el tejido vecino. Estos factores incluyen el aumento de movilidad de las células, el incremento de la presión intratumoral como consecuencia de la multiplicación celular activa, la elaboración por el cáncer de sustancias líticas, ausencia de puentes intercelulares hallados entre las células normales, disminución de la cohesión entre las células y -

eventual diseminación de las células tumorales hacia los nódulos linfáticos regionales. Actualmente se destinan importantes esfuerzos a la evaluación de estos factores críticos que determinan el grado de invasividad de las células tumorales. Sin embargo, cuando las metástasis son aún microscópicas (micrometástasis), la posibilidad de ser detectadas clínicamente es muy escasa. Se ha estimado que aproximadamente la mitad de los pacientes que parecen estar clínicamente libres de metástasis, en realidad poseen micrometástasis distantes no identificadas en el momento del diagnóstico y tratamiento iniciales.

El cáncer a menudo se manifiesta por una alteración de la velocidad de división celular. Aunque la mayor parte de los cánceres se asocian con una aceleración de la división celular, existen casos en los que no sucede así, por ejemplo, en el nefroma.

Un fenómeno particular del cáncer consiste en una desdiferenciación, proceso por el cual las células sufren una regresión desde lo más específico hacia lo más general. Así, no es infrecuente observar células tumorales que producen diversas proteínas que sólo están presentes en los estadios embrionarios o fetales. Por otra parte, a medida que se desdiferencian, las células, pueden perder ciertas propiedades celulares específicas, como la actividad de receptor o una actividad enzimática. Estas alteraciones pueden ser empleadas como indicadores de pronóstico.

Las alteraciones cromosómicas en el cáncer han sido estudiadas principalmente en pacientes con leucemia. En realidad, es posible confirmar diversos tipos de leucemia, en base a estas alteraciones cromosómicas.

En cuanto a la etiología del cáncer, recientemente, Sager (6) presentó un atractivo enfoque del cáncer. Lo postula como un proceso genético con estadios múltiples. Estos estadios son de tres tipos:

1. Daño inicial del ADN
2. Ruptura y reordenamiento cromosómico
3. Selección de células mutantes con posibilidades de desarrollo exitoso.

Las alteraciones iniciales del ADN celular pueden ser provocadas por radiación, sustancias químicas, virus o agentes desconocidos. Estos daños conducen a un descontrol del crecimiento y a la pérdida de la estabilidad cromosómica.

La ruptura y reorganización de los cromosomas se produce en varias fases continuas. Inicialmente comienza la división celular. Más tarde esto se manifiesta en términos de transposiciones cromosómicas aberrantes, lo que conduce a reordenamientos genómicos. A medida que las aberraciones continúan apareciendo se produce una cadena de alteraciones genéticas y fenotípicas.

La selección de células mutantes con posibilidad de crecimiento se relaciona con los siguientes elementos. Los reordenamientos genómicos generan nuevos fenotipos. La selección favorece los fenotipos de células proliferantes y bien adaptadas. Finalmente, fenotipos específicos se desarrollan con éxito en los diferentes tejidos del organismo.

Los carcinógenos se encuentran presentes en el medio ambiente en cantidades crecientes. Aunque se conocen numerosos carcinógenos, probablemente existan muchos que aún no conocemos. Los virus también son capaces de provocar ciertos tumores malignos. Algunos de estos cánceres, como el linfoma de Burkitt, pueden observarse en los seres humanos. Existe una base experimental y epidemiológica para postular la existencia de virus hepáticos y herpesvirus capaces de provocar cánceres hepáticos y cervicales, respectivamente, en los seres humanos. Sin embargo, en este punto de la investigación, los virus no son considerados muy probables como agentes causales generales de cáncer.

I-2. Papel desempeñado por el laboratorio en los tumores.

Dado que la mayoría de los pacientes no mueren por su tumor primario, sino por las repercusiones de sus metástasis lo deseable es un diagnóstico precoz e inequívoco del tumor primario, así como de su localización orgánica.

Para ello, podemos contar con las cuatro funciones principales existentes, que con las determinaciones del laboratorio pueden cumplirse. Estas funciones incluyen: detección o evolución

de la población, confirmación, clasificación por estadios y moni
toreo.

En su papel de detección, el laboratorio es utilizado para establecer si un individuo que por otra parte es normal podría / padecer un cáncer. Una prueba de laboratorio utilizada para detectar el cáncer debe arrojar un muy bajo índice de resultados / falsamente negativos; es decir, esta prueba debe aproximarse a / un 100% de sensibilidad diagnóstica. Idealmente, todos los indi
viduos con cáncer deberían arrojar resultados positivos. Si un individuo exhibiera un resultado negativo debería ser posible / afirmar que ese individuo no padece un cáncer.

Las pruebas para detección del cáncer pueden presentar dos limitaciones obvias. La primera consiste en que los procesos ma
lignos en una fase muy temprana (in situ) no siempre permite obtener un resultado positivo. Además puede haber un elevado porcentaje de resultados falsamente positivos, lo que puede conducir a una evaluación diagnóstica más profunda y a una preocupa
ción injustificada del paciente.

La evaluación de una población para detección del cáncer pa
rece ser extremadamente difícil, y existen discusiones acerca / del valor de casi cualquier programa de detección masiva. Un / elemento esencial de cualquier programa de evaluación masiva es la prueba de detección.

La calidad de la prueba de detección usualmente se expresa mediante el grado de sensibilidad y especificidad de dicho método. Las observaciones provenientes de las pruebas de detección se dividen en resultados positivos y negativos.

La división estricta de los resultados obtenidos en positivos y negativos a veces puede ser demasiado simplista. Los resultados de las pruebas de detección usualmente pueden ser in
formados desde muy negativos hasta muy positivos. Este último / enfoque permite una interpretación más compleja de los programas actuales de detección. Un ejemplo está dado por la repetición / de la prueba en pacientes cuyos resultados no son negativos pero tampoco son suficientemente alarmantes como para justificar una

acción diagnóstica inmediata. Otro ejemplo es la política de / evaluación progresiva en la que solamente los resultados positivos en la primera evaluación son sometidos a una evaluación ulterior más profunda (7).

En ocasiones, el empleo de más de una prueba de detección / puede parecer ventajoso. Sin embargo, la evaluación de la sensibilidad y la especificidad de una combinación de métodos de detección en base a los datos disponibles acerca del método individual se ve complicada por el hecho de que usualmente estos métodos no son independientes en un sentido estadístico. En general es más efectivo combinar dos métodos que son complementarios entre sí, es decir, dirigidos a evaluar diferentes rasgos, anatómicos u otros, del tumor, que combinar dos métodos destinados a / evaluar el mismo tipo de características.

Entre los métodos utilizados para la detección temprana del tumor podemos enumerar: Análisis citológico de la orina, mamografías, Papanicolau, sigmoidoscopia, exámen citológico de esputo, exámen físico, etc... Pero hoy día, existen numerosas investigaciones sobre la correcta utilización de los marcadores tumorales en la detección y control evolutivo de los pacientes portadores de neoplasias.

Estas últimas investigaciones, se basan en que si, mediante los métodos físicos de diagnóstico, como por ejemplo radiología, tomografía computerizada y ultrasonidos, pueden detectarse tumores tan solo a partir de mil millones de células, con la utilización de métodos inmunológicos in vitro puede comprobarse la existencia de un tumor ya a partir de aproximadamente un millón de / células. En este largo estadio previo invisible de crecimiento tumoral pueden no obstante desarrollarse ya metástasis (8).

. A fin de Confirmar la sospecha de la presencia de cáncer basada en síntomas o signos clínicos se emplean pruebas adicionales.

Las pruebas tendentes a confirmar la presencia de un cáncer incluyen por ejemplo; exámen de médula ósea, catecolaminas, y los distintos marcadores tumorales conocidos. Los resultados confir

matorios deben estar por encima de un cierto nivel de decisión. Para que el resultado de una determinación de laboratorio sea / confirmatorio es necesario que posea un 100% de especificidad / diagnóstica, es decir, que no pueda arrojar resultados falsamente positivos.

I-3. Clasificación y estadíos.

A partir de las observaciones clínicas y patológicas sobre el crecimiento y metástasis del cáncer humano, los anatomopatólogos han desarrollado diversos enfoques para clasificar los tumores en base al tamaño de la neoplasia y al grado de invasión de los tejidos circundantes, la cantidad de nódulos linfáticos positivos y la presencia o la ausencia de metástasis. Este método / de clasificación ha sido denominado TNM (tumor, nódulos, metástasis) propuesto por la American Joint Committee for Cancer Staging and End-Result Reporting (9).

La finalidad de dicha clasificación es el de poder ofrecer un pronóstico aproximado, es decir, anticipar una probabilidad / de recurrencia cancerosa, apropiada respuesta a la terapéutica o al curso más probable de la enfermedad. Además de la Clasificación basada en los datos patológicos macroscópicos o microscópicos serían de gran importancia poseer determinaciones bioquímicas que permitiesen una clasificación adecuada del Cáncer.

Según este sistema TNM los tumores humanos se clasificarían según las características del tumor primario (T), nódulos linfáticos afectados (N) y metástasis a distancia (M). A continuación expondremos las características de este sistema de clasificación:

. Clasificación del tumor primario (T):

El tamaño físico del tumor primario, la extensión de la invasión regional histopatológica o clínica y otras características biológicas del tumor primario afectan el pronóstico, la caracterización de un estadio primario (designado como estadio T) ha levantado controversias y compromisos en el sistema TNM. Por ejemplo, en los carcinomas escamosos de cabeza y cuello el estadio T se determina casi exclusivamente por la medida del tamaño

del tumor primario, es decir, sus dimensiones externas. En los carcinomas de estómago, colon, vejiga y melanoma maligno es la extensión de la invasión local lo que está incluido en la clasificación T. En el pulmón y esófago una fórmula muy compleja combina el tamaño y grado de la invasión y la afectación de las estructuras regionales. Para los sarcomas de tejidos blandos, el grado histológico del tumor primario (característica biológica) es el mayor determinante del pronóstico en los estadios I a III. El estadio T para los sarcomas de tejidos blandos tiene poca importancia, excepto cuando hay una intensa invasión ósea, nerviosa o de las estructuras regionales que pudieran provocar su paso al estadio IV. Aunque el sistema TNM ha definido la importancia pronóstica de las características T se puede observar variaciones significativas en el modo en que las varias características T se han conjuntado en las distintas clasificaciones TNM. El hecho de que el pronóstico del T₂NOMO (Duke's B) Carcinoma de Colon se calcula igualmente bien a cara o cruz que con la actual clasificación T demuestra la imperfección actual de la clasificación de los tumores primarios. Esto prueba que el parámetro más importante para predecir el pronóstico antes de que un tumor haya dado muestras de diseminación es la variable que hasta nuestros días ha sido peor identificada. En las neoplasias más comunes del adulto el estadio del tumor primario parece que espera aún parámetros biológicos más precisos para poder asegurar su potencial metastásico (10).

. Estadios de los ganglios linfáticos regionales (N):

Se ha observado al relacionar los resultados de los análisis de las piezas quirúrgicas con el pronóstico final de los pacientes que las diversas características de los ganglios linfáticos regionales predicirían el desarrollo de metástasis a distancia. Estas comprenden:

1. Tamaño de los ganglios afectados, para aquellos de extensión microscópica, el pronóstico es mejor tanto en el Cáncer de mama como en el melanoma maligno y otros tumores.

2. La localización y número de los ganglios en relación / con el tumor primario tiene también importancia pronóstica.
3. La extensión de la invasión ganglionar valorada mediante criterios clínicos y anatomopatológicos es asimismo importante en el pronóstico final.
4. Otros parámetros biológicos, como la velocidad de crecimiento y si la afectación ganglionar es sincrónica o metacrónica al tumor maligno, han demostrado también su / relación con el pronóstico.

. Metástasis a órganos distantes (M):

Aunque la enfermedad haya afectado a órganos distantes, / existen ciertas características de estas metástasis que tienen / importancia en la predicción pronóstica. Así, la afectación de la piel o de ganglios linfáticos significa un mejor pronóstico / que la invasión de órganos viscerales para la mayoría de neoplasias metastásicas. Es también evidente que las metástasis solitarias tienen mejor pronóstico que las múltiples. Las metástasis en la red capilar inmediata al tumor pueden researse con intento curativo mientras que las sistémicas no. A mayor velocidad de crecimiento del foco metastásico, peor pronóstico, por lo / cual la medición del tiempo de doblamiento es importante en la / clasificación de las enfermedades sistémicas metastásicas.

En la Tabla I exponemos de forma generalizada esta clasificación.

El sistema de estadios TNM ha reunido características clínicas y morfológicas de los tumores primarios, sus ganglios regionales y metástasis a distancia, ofreciendo una importante contribución a la normalización de las clasificaciones morfológicas de las neoplasias. Sin embargo para la mayoría de las neoplasias / este sistema es insuficiente para afinar en el pronóstico del paciente individual. Por ello para hacer una valoración en cuanto al pronóstico de un paciente en concreto, se utiliza en la prác-

| | | |
|---|---|----------------|
| T | = | TUMOR PRIMARIO |
|---|---|----------------|

| | | |
|----|---|---|
| Tx | = | Tumor no evaluable |
| To | = | Sin evidencia de tumor primitivo |
| T1 | = | Tumor in situ ó pequeño, ausencia de adherencia en la vecindad. |
| T2 | = | Tumor de mediano tamaño, pocas adherencias en la vecindad |
| T3 | = | Tumor de gran tamaño, grandes adherencias en la vecindad |
| T4 | = | Tumor de tamaño muy grande, extensas adherencias a la vecindad. |

| | | |
|---|---|---------------------|
| N | = | GANGLIOS LINFATICOS |
|---|---|---------------------|

| | | |
|----|---|--|
| Nx | = | Ganglios no evaluables |
| No | = | Sin evidencia clínica de afectación ganglionar |
| N1 | = | Ganglios regionales afectados, no adheridos, limitados a las inmediaciones |
| N2 | = | Ganglios regionales afectados, adherencias |
| N3 | = | Diseminación ganglionar difusas, adherencias |

| | | |
|---|---|------------------------|
| M | = | METASTASIS A DISTANCIA |
|---|---|------------------------|

| | | |
|----|---|--------------------------------------|
| Mx | = | Metástasis no evaluables |
| Mo | = | Sin evidencia clínica de metástasis |
| M1 | = | Demostración de metástasis orgánicas |

TABLA 1. CLASIFICACION DE TUMORES SEGUN EL SISTEMA TNM

tica clínica el sistema de estadios.

Es importante conocer los estadios para una mejor clasificación del cáncer. Los estadios sirven para definir la verdadera extensión del cáncer. Una clasificación es una forma multidimensional y multitemporal para incluir todas las posibilidades de presentarse un cáncer y la extensión a un órgano local. Los estadios no implican un pronóstico regular y progresivo. Aunque algunos cánceres siguen su curso típico, avanzan de un tumor primario a enfermedad nodal secundaria y finalmente a metástasis lejanas, pueden existir muchas variaciones. Las metástasis, de hecho, pueden ser el primer signo del cáncer siendo la lesión primaria menor, hasta de tamaño microscópico. Los estadios son arbitrarios y su eficacia es determinada mediante una terminología estandar para seleccionar el tratamiento y conocer el estadio final. A continuación expondremos los diferentes estadios. (11)

- Estadio I (T_2, N_1, Mo).- El exámen clínico revela una masa limitada al órgano de origen. La lesión es operable y resecable con solo involucración local y no hay diseminación a nódulos linfáticos ni diseminación vascular. Este estadio ofrece la mejor probabilidad de supervivencia (70-90%).

- Estadio II (T_2, N_1, Mo).- El exámen clínico muestra la evidencia de diseminación local en los tejidos circundantes y la primera afectación de nódulos linfáticos. La lesión es operable y resecable, pero debido a la mayor extensión local hay dudas acerca de la eliminación total. La muestra indica evidencia de microinvasión en cápsula y linfático. Este estadio ofrece una buena probabilidad de supervivencia (alrededor del $50\% \pm 5\%$).

- Estadio III (T_3, N_2, Mo).- La examinación clínica revela un tumor primario extenso con fijación a estructuras profundas, invasión ósea y a nódulos linfáticos de igual naturaleza. La lesión es operable y no resecable.

Este estadio ofrece alguna probabilidad de supervivencia ($20\% \pm 50\%$).

- Estadio IV (T_4 , N_3 , Mx).- La evidencia de metástasis a distancia fuera del emplazamiento local u órgano. La lesión primaria es inoperable. Hay poca o no hay probabilidad de supervivencia en muchas situaciones (< 5%).

Con respecto a estos grupos de estadios hay dos posturas. La UICC, con algunas excepciones, no apoya estos grupos de estadiaje pero da importancia a una definición cuidadosa de las características T, N y M. La AJC apoya los grupos de estadiaje en los 4 estadios ya que contribuye a regularizar los resultados finales manifestados, los cuales si provienen de un cuidadoso protocolo realizado, producen excelentes resultados relacionados / con el pronóstico. Los criterios exactos para agruparlos varían con cada situación. Un sistema válido se basa sobre el conocimiento de la diseminación y la evolución clínica de un cáncer específico y diferirán de cada situación anatómica, dependiendo de la equivalencia de T y N en relación al pronóstico.

La cuarta función de las pruebas de laboratorio consiste en el monitoreo de la evolución de la enfermedad o de la respuesta terapéutica. Por ejemplo, recientemente, Winkel y cols. (12), / han desarrollado diversas estrategias con el objeto de seguir la evolución de pacientes con cáncer de mama. El principal problema consistía en poder anticipar la recurrencia o la no recurrencia de la enfermedad en base a los valores secuenciales. Se han empleado otros enfoques para monitorear pacientes con cáncer de colon en base a la determinación del antígeno carcinoembrionario (13). También se han utilizado otros marcadores tumorales para la monitorización de enfermos neoplásicos.

I-4. Bioquímica de las Células tumorales.

Para comprender los hechos que experimentan las células tumorales así como la diversidad bioquímica de los marcadores neoplásicos, deben señalarse posibles diferencias entre células malignas y benignas.

Las células tumorales pueden producir y lanzar hacia la circulación sustancias características según su fenotipo maligno.

La presencia de estas sustancias, denominadas de manera simplificada "marcadores tumorales", puede demostrarse mediante métodos inmunológicos (8).

En la figura 1, se muestra esquemáticamente y de manera simplificada las modificaciones que experimentan una de estas células tumorales. Estas diferencias entre células tumorales y células normales son muy variadas y pueden presentarse en el núcleo celular, en el citoplasma, así como también la superficie de la célula.

El núcleo celular presenta modificaciones de las proteínas asociadas con el ácido desoxirribonucléico, una modificación del D-RUA, así como también un patrón enzimático diferenciado.

En el interior de las células tumorales se sintetizan por ejemplo antígenos oncofetales, cuya síntesis sólo era funcionalmente importante durante el período de la embriogénesis. De ahí que su secreción hacia la circulación indica la existencia de grandes diferencias respecto al comportamiento celular normal.

También en la superficie celular se comprueban con frecuencia alteraciones que diferencian a una célula maligna de una célula normalmente diferenciada. Así por ejemplo pueden sintetizarse nuevos antígenos, mientras que por otra parte se pierden otros antígenos de superficie.

Pueden producirse modificaciones de la estructura glucoprotéica de la membrana celular. Debido a la modificación de las glucoproteínas o a la pérdida de estas sustancias se producen forzosamente modificaciones en el transporte hacia el interior y el exterior de la célula y con ello una modificación de la permeabilidad celular. En comparación con una asociación normal, la comunicación intercelular de las células tumorales se encuentra disminuida. De ello resulta una modificación de la adhesión y de la inhibición de contacto.

Existe un amplio espectro de posibles combinaciones de la expresión genética en las células humanas. Este espectro va desde las células normales hasta las células cancerosas más atípi-

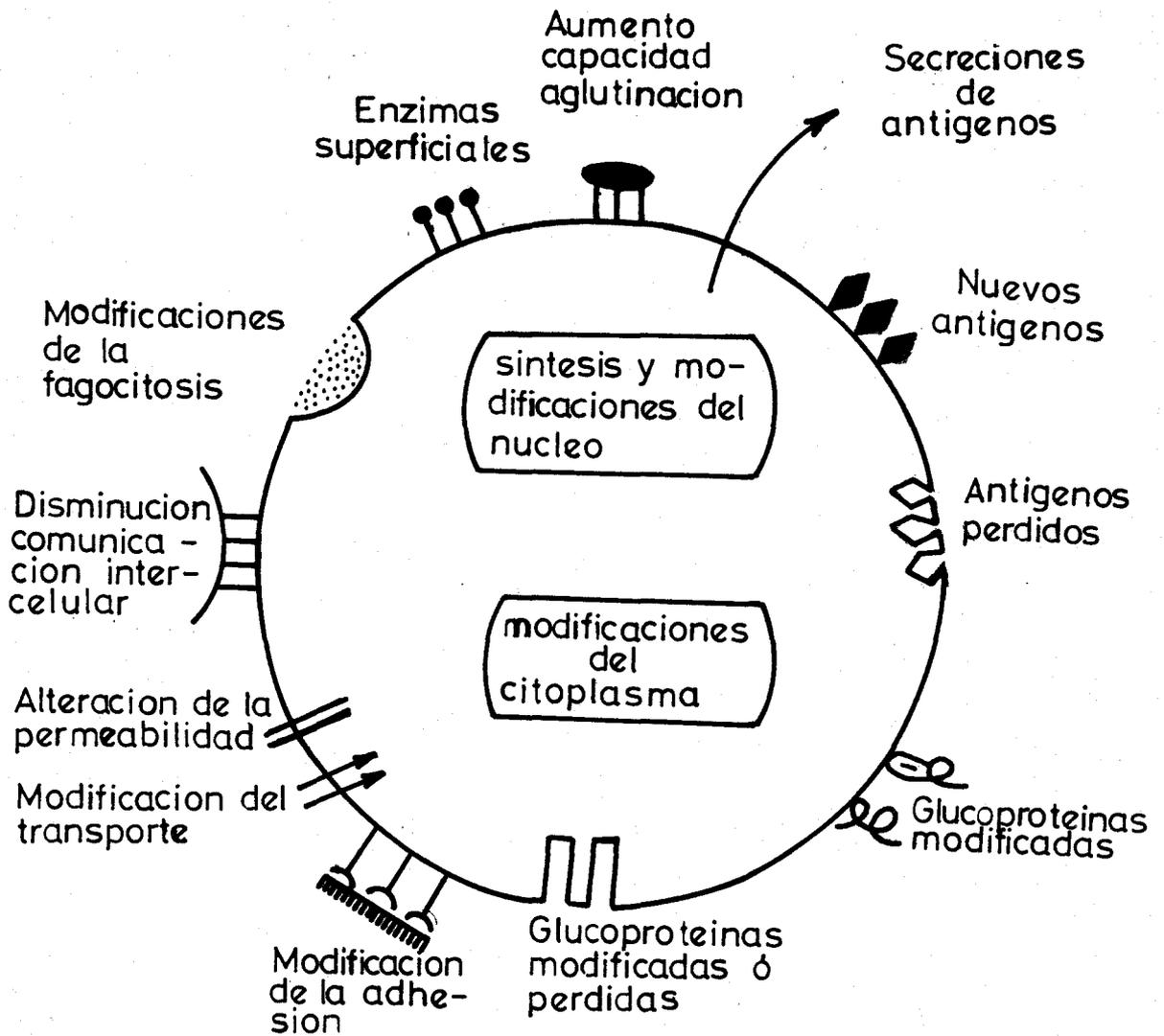


FIGURA 1 POSIBLES MODIFICACIONES DE UNA CELULA TUMORAL

cas. La variación fenotípica no solamente se produce desde las células cancerosas hacia las células normales o de un tipo de / cáncer a otro tipo de cáncer, sino también dentro de tipos particulares de cáncer. Por ejemplo, en pacientes con cáncer de / mama es posible observar una heterogeneidad de los genes expresados por diversas células; es decir, no todas las células expresan los mismos genes.

La variabilidad de la expresión genética conduce a una diversidad biológica y bioquímica de las células cancerosas; en / consecuencia, los diversos marcadores tumorales no son necesariamente producidos por todas las células tumorales del mismo / tipo de cáncer o incluso de un cáncer único en un período determinado. Este fenómeno es muy importante desde un punto de vista clínico cuando se trata de decidir qué proteína seguir en el monitoreo de pacientes con cáncer conocido (5).

I-5. Definición de marcador tumoral ideal.

El marcador tumoral ideal es positivo en todos los casos / de cáncer y negativo en ausencia de cáncer. Es difícil saber / si un marcador tumoral es tan adecuado como lo sostienen sus seguidores iniciales. La mayoría de los marcadores tumorales / atraviesan por las tres fases siguientes. Primero, el marcador tumoral es considerado perfecto. Sus descubridores postulan una sensibilidad y una especificidad del 100%. La segunda fase se caracteriza por la desconfianza. Se estudian poblaciones adicionales y se observa que el marcador falla en muchos casos de pacientes que no padecen cáncer (es decir, falsamente positivos) y de pacientes que si padecen cáncer (falsamente negativos). / Los investigadores que estudian ese marcador aseguran muchas veces que carece de utilidad. La tercera fase consiste en una transacción. Se acepta entonces que el marcador tumoral no es en realidad tan bueno como se postuló originalmente pero que / aún posee sus méritos en algunos casos selectos o en ciertas / circunstancias.

Un ejemplo de este fenómeno es el antígeno carcinoembrionario (CEA). Inicialmente se consideró el marcador tumoral ideal. Posteriormente, los críticos afirmaron que el CEA no poseía un valor importante dado que era positivo en pacientes fumadores /

que no padecían cáncer y era negativo en pacientes con diversos tipos de cánceres. Además, los detractores sostuvieron que no podía ser utilizado en la evaluación de poblaciones masivas. Actualmente se ha llegado a la conclusión de que el CEA no puede ser empleado como un marcador tumoral general. Sin embargo, el CEA desempeña un papel importante en el monitoreo del paciente que se sabe padece un cáncer productor de CEA. Un ejemplo de dicho cáncer es el carcinoma de colon.

Coombes y Neville (14) han propuesto que el marcador tumoral ideal debe cumplir los siguientes requisitos:

1. Su determinación debe ser sencilla y de bajo costo.
2. El método debe ser específico para el tumor estudiado y comúnmente asociado con dicho tumor.
3. Debe existir una relación estequiométrica entre el nivel plasmático del marcador y el número de células tumorales.
4. Debe mostrar un nivel plasmático, urinario o ambos niveles anormales en presencia de micrometástasis, es decir, un estadio en el cual no existen métodos clínicos actualmente disponibles que permitan diagnosticar la presencia del tumor.
5. Presentar niveles plasmáticos y/o urinarios, que sean estables y no estén sujetos a fluctuaciones importantes.
6. Si el marcador se encuentra presente en el plasma normal, debe existir en concentraciones muy inferiores a las detectadas en asociación con cualquier estadio de cáncer.

Es necesario profundizar las investigaciones antes de poder hallar el marcador tumoral ideal. Sin embargo, es importante tener en cuenta que la evaluación de un marcador tumoral ideal debe relacionarse con el contexto clínico. Con el objeto de lograr este objetivo se ha sugerido que todos los marcadores tumorales deberían cubrir los siguientes requisitos importantes (15,16):

1. Debe permitir pronosticar un riesgo mayor o menor de recurrencia tumoral eventual.

2. Deben modificarse a medida que el estado del tumor / varía con el correr del tiempo.
3. Deben proceder y anticipar las recurrencias tumorales antes de que sean clínicamente detectables.

Para que un marcador tumoral posea un valor destacable debe proporcionar información adicional a la que pueden obtenerse con la historia clínica o con el exámen físico del paciente, y esta información debe ser proporcionada con un tiempo suficiente como para que sea posible establecer medidas terapéuticas apropiadas. Este tiempo de avance significa el tiempo transcurrido entre la positividad de una prueba y el momento en que la enfermedad es / clínicamente evidente.

I-6. Clasificación de marcadores tumorales.

A continuación enumeraremos las diferentes determinaciones bioquímicas que han sido utilizadas ya sea como marcadores tumorales primarios o como pruebas secundarias para determinar la invasión o diseminación cancerosa. En la Tabla II se enumeran algunos de ellos, su utilidad y aplicación clínica. En este apartado no vamos a abarcar todas las pruebas que han sido sugeridas como marcadores tumorales, sino que se discutirá en especial los ensayos que se utilizan comúnmente o que parecen poseer un valor potencial; de forma generalizada, ya que nuestro propósito es estudiar en detalle dos marcadores tumorales: el ácido sialico unido a lípidos del plasma (LSA) y la Beta-2 microglobulina (B2m) / sobre las que en otro lugar de la introducción entraremos en un estudio más profundo.

Los marcadores tumorales hasta ahora identificados pueden / clasificarse según su naturaleza y procedencia en:

1. MARCADORES INMUNOLOGICOS.

- a) Antígeno carcinoembrionario (CEA)
- b) Alfafetoproteína (AFP) y Gonadotrofina
- c) Antígeno polipéptido tisular (APT)
- d) Antígeno Tennessee (Tenagen)

| Elementos Bioquímicos | Ejemplos | Empleo |
|---|---|---------------------------------------|
| Producción aumentada de compuestos bioquímicos endógenos. | Hormonas, Enzimas, poliaminas etc. | Confirmación, diagnóstico, monitoreo. |
| Síntesis de Compuestos bioquímicos de genes / previamente latentes. | Proteínas Oncogénicas, antígenos celulares de superficie, enzimas. | Monitoreo, Pronóstico |
| Receptores. | Receptores para el estrógeno (cáncer de mama), / receptores para andrógenos (cáncer de próstata). | Pronóstico, tratamiento. |
| Modificación de la función celular u orgánica usuales. | Gamma-Glutamil-transferasa o (GGT) o 5'-nucleotidasa. | Diagnóstico. |

TABLA II. ELEMENTOS BIOQUÍMICOS UTILIZADOS COMO MARCADORES / TUMORALES.

- e) Sulfoglucoproteína fetal (SGF)
- f) Antígeno oncofetal pancreático (AOP)
- g) Marcadores asociados con el cáncer de mama
- h) Otros

2. ENZIMAS.

- a) Fosfatasa ácida (ACP)
- b) Fosfatasa alcalina (ALP)
- c) Creatin-quinasa (CK)
- d) Gammaglutamil transferasa (GGT)
- e) Glucosil transferasa
- f) Lactato deshidrogenasa (LDH)
- g) Lisozima (muramidasa)
- h) 5-nucleotidasa
- i) Enzimas pancreáticas
- j) Fosfohexosa isomerasa (PHI)
- k) Desoxinucleotidil transferasa terminal (DTT)

3. PROTEINAS SERICAS.

- a) Ferritina
- b) Caseína
- c) Glucoproteínas
- d) Beta-2-microglobulina (B2m)

4. HORMONAS ECTOPICAS.

- a) A.C.T.H.
- b) A.D.H.
- c) Insulina
- d) Calcitonina
- e) Otras

5. OTROS MARCADORES MAS RECIENTES.

- a) Productor de degradación del colágeno
- b) Poliaminas
- c) Nucleosidos
- d) Marcadores celulares
- e) Factores relacionados con la Hemostasis
- f) Acido sialico unido a los lípidos (LSA)

Según R-Ziegenbein (17) para una caracterización más detallada de los marcadores tumorales puede utilizarse además, la siguiente clasificación que exponemos en la figura 2.

Como ya hemos mencionado todavía no se ha encontrado un marcador tumoral ideal. Los marcadores tumorales actuales no tienen alta sensibilidad ni son tumor específicos, ni siquiera de / enfermedad cancerosa, pudiendo encontrarse en enfermedades no tumorales (18).

Además, desgraciadamente, la especificidad de todos los marcadores tumorales, descritos hasta ahora es bastante deficiente, ya que las propiedades metabólicas e inmunológicas de las células tumorales se parece a las de las células normales. Hay un / gran número de individuos que tienen pruebas anormales por causa de un marcador tumoral producido por condiciones no malignas. Asimismo la sensibilidad de estas pruebas a la presencia de malignidad es a menudo inexistente. El pequeño volumen de un tumor presente en el momento del diagnóstico y la producción inconsistente de marcadores por el mismo tipo de tumor en individuos diferentes ocasiona una gran proporción de pruebas negativas. La frecuencia de pruebas positivas y negativas falsas es la causa / del uso muy limitado de los marcadores tumorales. No obstante / en una población de pacientes con cáncer han impactado favorablemente en el control de pacientes con varios tipos de tumores.

Generalmente, la monitorización de la terapia y del diagnóstico de la progresión del tumor se realizan por el seguimiento / de la concentración de los marcadores. Cuando la determinación de marcadores se realiza junto con otras pruebas diagnósticas el diagnóstico de sensibilidad y especificidad se aumenta; dependiendo de una particular combinación de las pruebas.

La determinación de marcadores tumorales con limitada especificidad debería realizarse en grupos de pacientes con alta prevalencia de la enfermedad p.e. en el seguimiento postoperatorio de pacientes con alto riesgo de recurrencia del tumor; los marcadores tumorales con alta especificidad son útiles también en el diagnóstico diferencial (19).

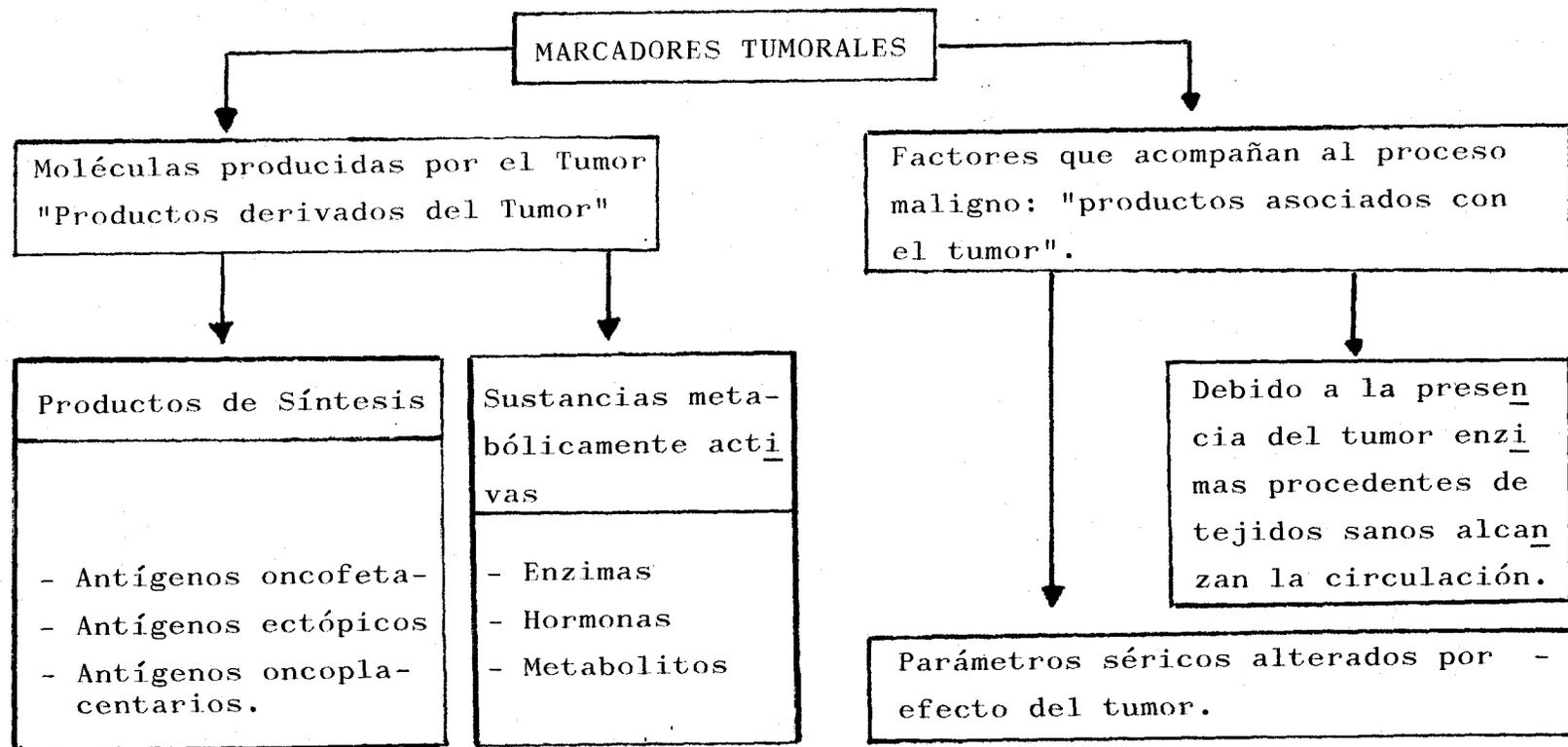


Fig. 2. Clasificación de los marcadores tumorales según R-Siegenbein.

Pero mientras nuevos marcadores tumorales para el cáncer se están recogiendo frecuentemente pocos han demostrado sensibilidad y sensibilidad suficiente para el uso clínico rutinario. Una excepción a esto parece cumplirlo las pruebas de determinación / de ácido siálico unido a lípidos (LSA) la cual en recientes estudios ha demostrado alta especificidad (93%) y sensibilidad (77--97%) si se compara entre grupos de sujetos portadores de cáncer y enfermedades benignas (20).

Como hemos visto el uso de parámetros bioquímicos o de radioinmunoensayo ha producido un gran número de marcadores tumorales; y éstos en circunstancias apropiadas puede guiar al diagnóstico, pronóstico y la iniciación y cambio en la terapia.

Nosotros siguiendo esta línea de investigación, hemos comparado la utilidad del ácido siálico unido a lípidos del plasma / y/o suero (LSA), uno de los marcadores desarrollado más recientemente, con la Beta-2-microglobulina, marcador tumoral más conocido. A continuación expondremos ampliamente el estudio detallado de estos dos marcadores.

II. ACIDO SIALICO UNIDO A LIPIDOS DEL PLASMA Y/O SUERO (LSA) / COMO MARCADOR TUMORAL.

Como hemos mencionado anteriormente, dentro de nuestra línea de investigación, se trata de averiguar, el papel que como / posible marcador tumoral, presenta el ácido siálico unido a lípidos del plasma y/o suero, el cual es un resto glucídico de la molécula de gangliosido, esfingolípido componente de la membrana / celular.

II-1. Introducción al estudio de los gangliósidos.

Los lípidos son sustancias orgánicas que se agrupan por presentar las siguientes propiedades comunes:

- a) Insolubilidad en agua
- b) Solubilidad en los llamados disolventes de las grasas como éter, benzeno, cloroformo, etc.
- c) En general son esterres o amidas de ácidos grasos superiores con distintos alcoholes o aminoalcoholes. / Son componentes importantes de la dieta, y tienen un notable poder calorífico. En los mamíferos forman / la sustancia de reserva al acumularse en el panículo adiposo. Algunos lípidos complejos forman parte de las complicadas estructuras del tejido nervioso. Los lípidos forman parte también de las membranas celulares; los lípidos de membrana más abundantes son los fosfolípidos, cuyo papel primordial, es el de ser / elemento estructural de las membranas. Otros lípidos importantes componentes de membrana, son los esfingolípidos (21).

Los lípidos se pueden clasificar en:

1. Lípidos simples que poseen ácido grasos y un alcohol
2. Lípidos complejos, los cuales además de un alcohol y ácidos grasos contienen otros grupos químicos como / p.e. el ácido fosfórico o moléculas glucídicas.

Dentro de los lípidos complejos, nos vamos a limitar a estudiar el grupo de los esfingolípidos, los cuales se caracterizan por poseer una base de larga cadena parafínica de 18 carbonos / con un doble enlace, dos grupos hidróxilos y un grupo amínico, / la esfingosina. Las múltiples combinaciones posibles entre los diferentes tipos de ácidos grasos y de esfingosina son a menudo características para un determinado esfingolípidos. El grupo hidroxilo, servirá para el enlace con otros compuestos.

Los esfingolípidos se dividen en tres clases:

- a) Ceramidas, resultan de la unión de la esfingosina / con un ácido graso mediante un enlace tipo amídico; son pues, esfingoides N-acilados.
- b) Esfingomielinas, en este grupo, se une un componente de fosfocolina al esfinguido N-acilado, resultando / la ceramida -1-fosfo-colina. Son insolubles en éter y se diferencian de los demás esfingolípidos por con tener fósforo. Se encuentran en su mayor parte en / los tejidos orgánicos y especialmente en el tejido / nervioso.
- c) Los Glicoesfingolípidos que son lípidos compuestos / por un esfinguido y, por lo menos, un monosacárido. Se encuentran en muchos otros tejidos además del cerebro.

Los glicoesfingolípidos, pueden dividirse en dos grandes / grupos: Neutros y ácidos. El grupo de los neutros, lo constituyen los cerebrosidios que se caracterizan por tener una molécula de galactosa, unida por un enlace glucosídico al hidroxilo terminal, en la esfingosina de la ceramida. Los cerebrosidios se distinguen entre sí por el ácido graso que existe en sus moléculas. El grupo de los ácidos está constituido por los sulfoglicoesfingolípidos y los gangliosidos, se caracterizan por poseer en sus / cadenas de carbohidratos un azúcar ácido, el ácido siálico, familia de compuestos derivados del ácido neuramínico (22).

En esta pequeña introducción, nos parece obligatorio, hacer alusión a las últimas investigaciones (23) que sobre el grupo de

glicoesfingolípidos, se han llevado a cabo por prestigiosos investigadores, que estudian los orígenes del cáncer y por constituir la base sobre la que asienta parte de nuestro trabajo de investigación.

Así, se sabe desde hace algún tiempo que las células animales y algunas vegetales poseen glicoesfingolípidos, pero apenas se había prestado atención a esas moléculas, cuya función biológica estaba lejos de conocerse. En los últimos años, numerosos estudios, han establecido que los antígenos de los grupos sanguíneos y otros muchos que se modifican o expresan de manera anómala durante el desarrollo de los tumores malignos, son glicoesfingolípidos, lo que ha suscitado el interés de muchos inmúnólogos y, a su vez, ha generado gran cantidad de información sobre la función que desempeñan, en la vida de las células, en el cáncer y en otras enfermedades.

Por encontrarse dispuestos sobre la membrana celular, los glicoesfingolípidos participan activamente en la regulación de las interacciones que suelen establecer las células normales con su medio ambiente. Además, la expresión de los glicoesfingolípidos sobre la superficie celular cambia a medida que la célula se divide y diferencia; resultan, pues, esenciales para que el organismo crezca y se desarrolle acordeamente. Según se sabe la regulación del crecimiento la realizan al menos de dos maneras:

- . Detectando la densidad de células similares en su vecindad, estimulan o inhiben la división celular.
- . Por su interacción con proteínas receptoras, de la superficie celular, bloquean la respuesta celular, a los factores de crecimiento que se encuentran en el medio que rodea las células.

Dada la omnipresencia e importancia de las funciones reguladoras de los glicoesfingolípidos, no sorprende su implicación en numerosas enfermedades graves y parece que constituyen el lugar de infección de varios tipos de virus y bacterias.

Su papel en el cáncer, se relaciona con la reciente comprobación de la naturaleza glicoesfingolípídica de los antígenos de

grupos sanguíneos, no obstante, hay que tener en cuenta, que no es del todo correcto hablar de antígenos de grupos sanguíneos, / ya que tales antígenos no solo se encuentran en la sangre, sino también en muchos tejidos. Además alcanzan altas concentraciones en la superficie de todos los tipos de células epiteliales, que forman el revestimiento mucoso de numerosos órganos. Más del / 90% de todos los cánceres humanos, derivan de células epiteliales.

Todo esto ha permitido establecer un nexo de unión, entre / la poderosa metodología inmunológica y un conjunto importante y diverso de conocimientos bioquímicos. Consecuencia de esas interacciones es la verificación de que los cambios de antígenos, de grupos sanguíneos observados cuando se origina un cáncer puede - generalizarse a otro tipo de moléculas. Los bioquímicos han / identificado otros glicoesfingolípidos no relacionados con los / antígenos de grupos sanguíneos, cuya composición y metabolismo / se alteran espectacularmente, cuando una célula normal se transforma en cancerosa por distintos agentes víricos y químicos. Los análisis inmunoquímicos de los glicoesfingolípidos tumorales, demuestran que muchos antígenos asociados a procesos cancerosos, son formas de antígenos de grupos sanguíneos, modificados químicamente.

II-2. Estructura química de la glicoesfingolípidos: Gangliósidos.

Esos importantes descubrimientos experimentales, han avivado el interés por conocer la estructura fundamental de los glicoesfingolípidos y su papel en la vida de la célula. El primero / de estos lo halló, en 1874, Johann Ludwing W. Thudichum (24), en el cerebro. Thudichum lo denominó cerebrosidos. Investigadores posteriores encontraron que el cerebro y los tejidos nerviosos / son ricos en glicoesfingolípidos (25).

Desde hace tiempo, se conoce, la estructura molecular de los glicoesfingolípidos. La morfología de la molécula recuerda una L: uno de los brazos la forma una cadena carbohidrato, esto es / de residuos de azúcar. El otro es un lípido denominado cerámica. La cadena de carbohidrato es hidrófila, e interactúa con el me-

dio acuoso que rodea a la célula. El segundo componente, es hidrófobo y tiende por tanto a repeler las moléculas de agua de la vecindad. Ambas cadenas presentan gran variabilidad.

Se conocen hasta 130 variedades de glicoesfingolípidos, de ellas unos 40 corresponden a la estructura denominada globo y 60 a la denominada lacto, según la secuencia de azúcares que componen la cadena de carbohidrato y la naturaleza de los enlaces que unan los azúcares (figuras 3,4,5). El resto de los glicoesfingolípidos permanece sin clasificar. Es limitado el número de combinaciones que se pueden dar entre los componentes de un glicoesfingolípido, pues ciertas estructuras de carbohidratos, se unen preferentemente a determinadas cerámidas, según se encuentren en unas células y tejidos u otros.

A menudo, la misma secuencia de azúcares, que hay en la estructura lacto (pero no en las ganglio o globo) aparece unida a proteínas. Dado que la especificidad antigénica suele depender de la secuencia del azúcar, y no del substrato de cerámida o proteína al que vaya unido, los anticuerpos de los antígenos que constituyen los grupos sanguíneos pueden reconocer también ciertas glicoproteínas. El reconocimiento de las cadenas de azúcares, presentes en la glicoproteínas, explica, la presencia de antígenos de los grupos sanguíneos en los revestimientos mucosos, así como en las secreciones.

Los gangliosidos o sialoglicoesfingolípidos, grupo importante de los glicoesfingolípidos, fueron descubiertos por Ernst Klenk (26) en 1.936, el cual pensó inicialmente que se trataba de un único gangliosido y lo denominó "Gangliosid", por haberlo extraído de células ganglionares (células nerviosas grandes) y contener moléculas glucídicas (osas). Actualmente se conocen al menos parcialmente la estructura de unos 40 gangliósidos.

Los gangliósidos se caracterizan por contener ácido N-acetilneuromínico (NANA), también denominado ácido siálico, ácidos grasos, esfingosina y tres moléculas de hexosa (glucosa y galactosa). La hexosamina es un constituyente común, de todos los gangliósidos naturales, el contenido de ácido N-acetil neuromínico (NANA) varía entre 1 y 5 moléculas por moléculas de ganglió

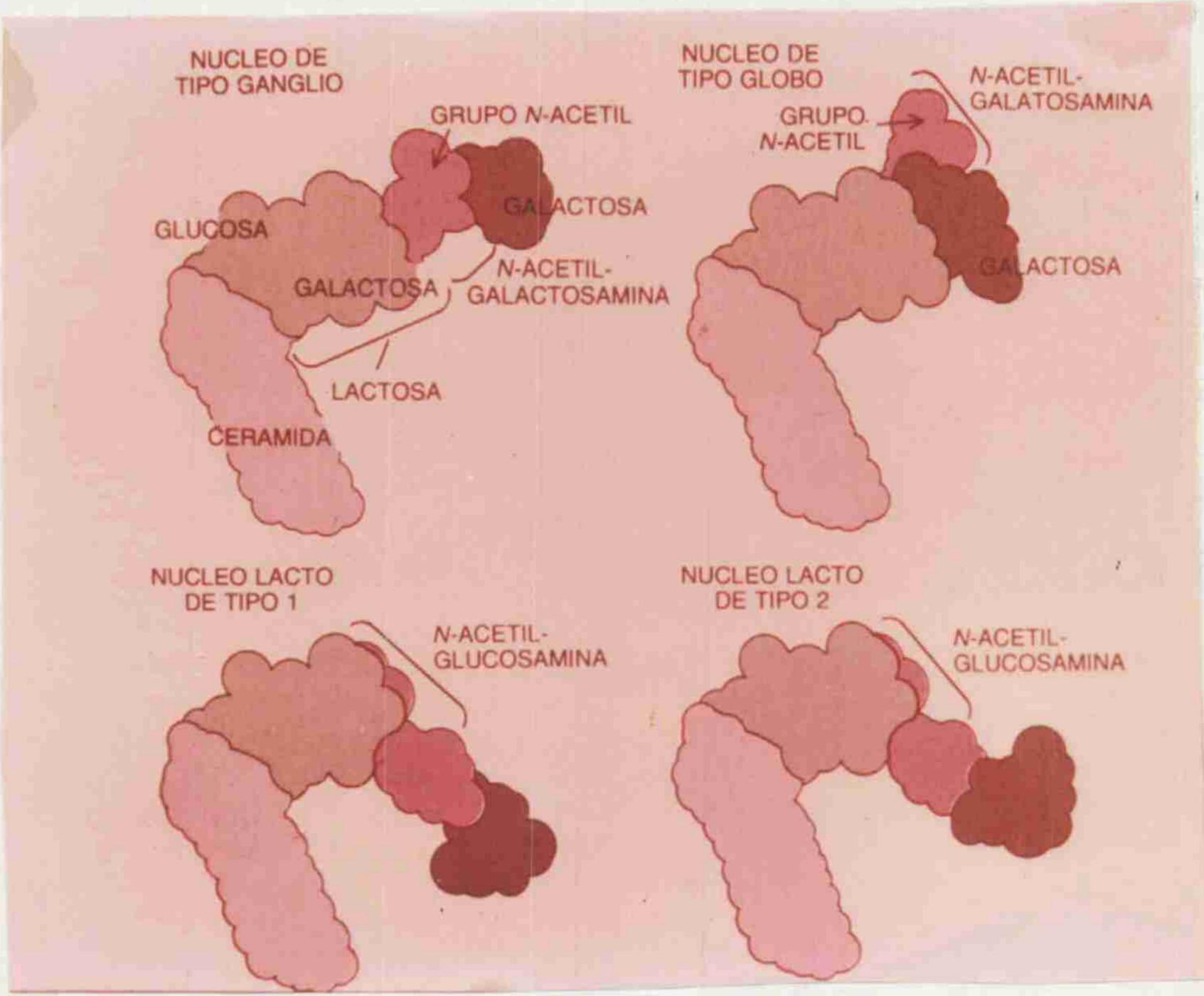


Fig. 3. Modelos moleculares correspondientes a las cuatro estructuras nucleares básicas de los glicosfingolípidos.

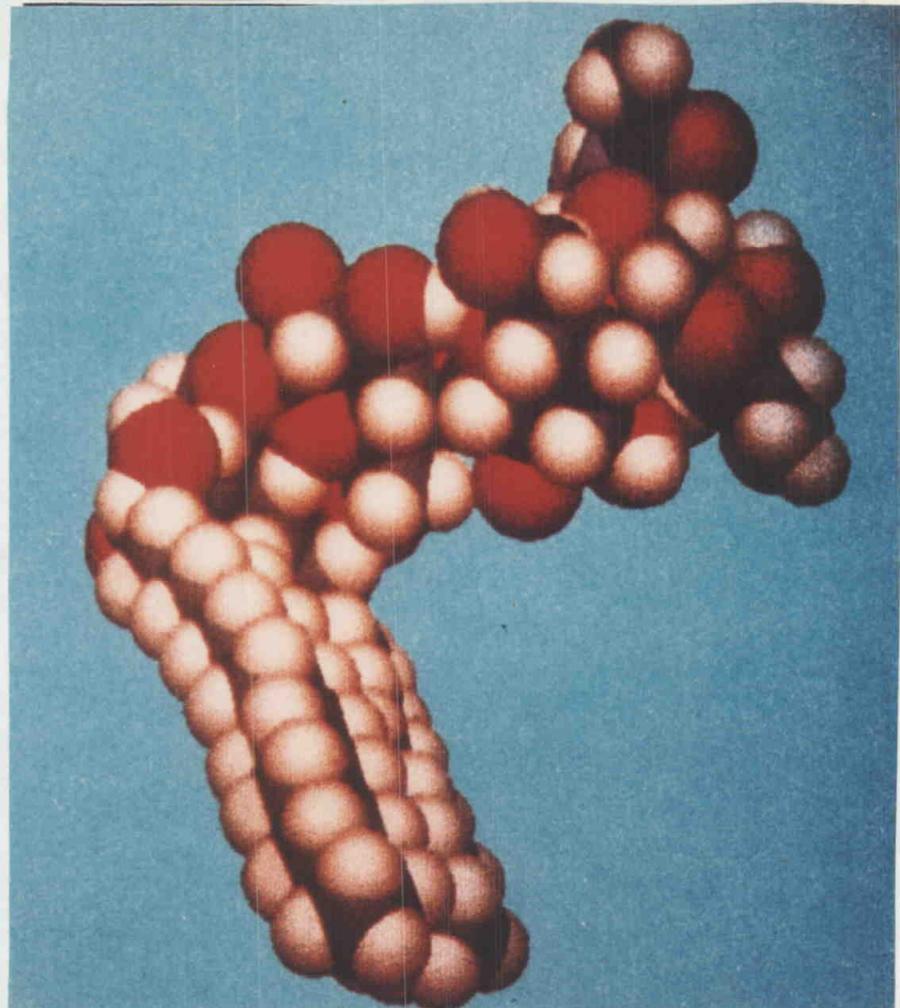
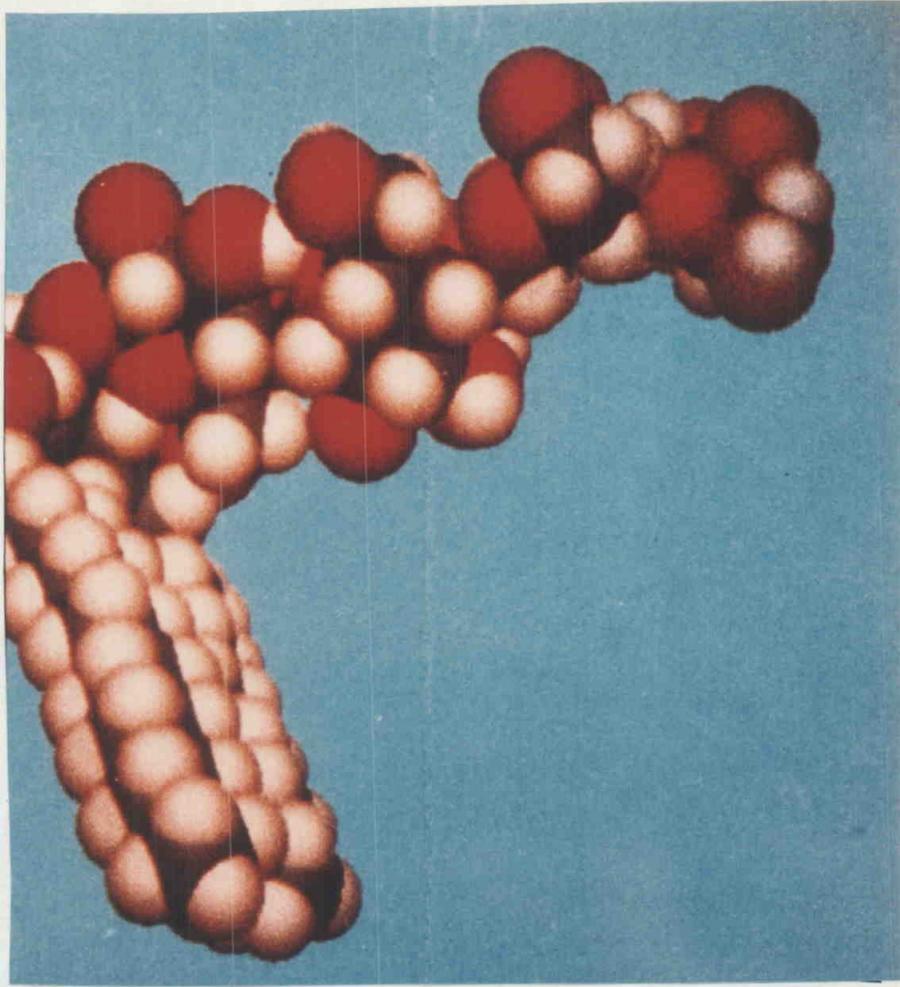


Fig. 1. 311. Síntesis de la proteína papilio (amphibio) a

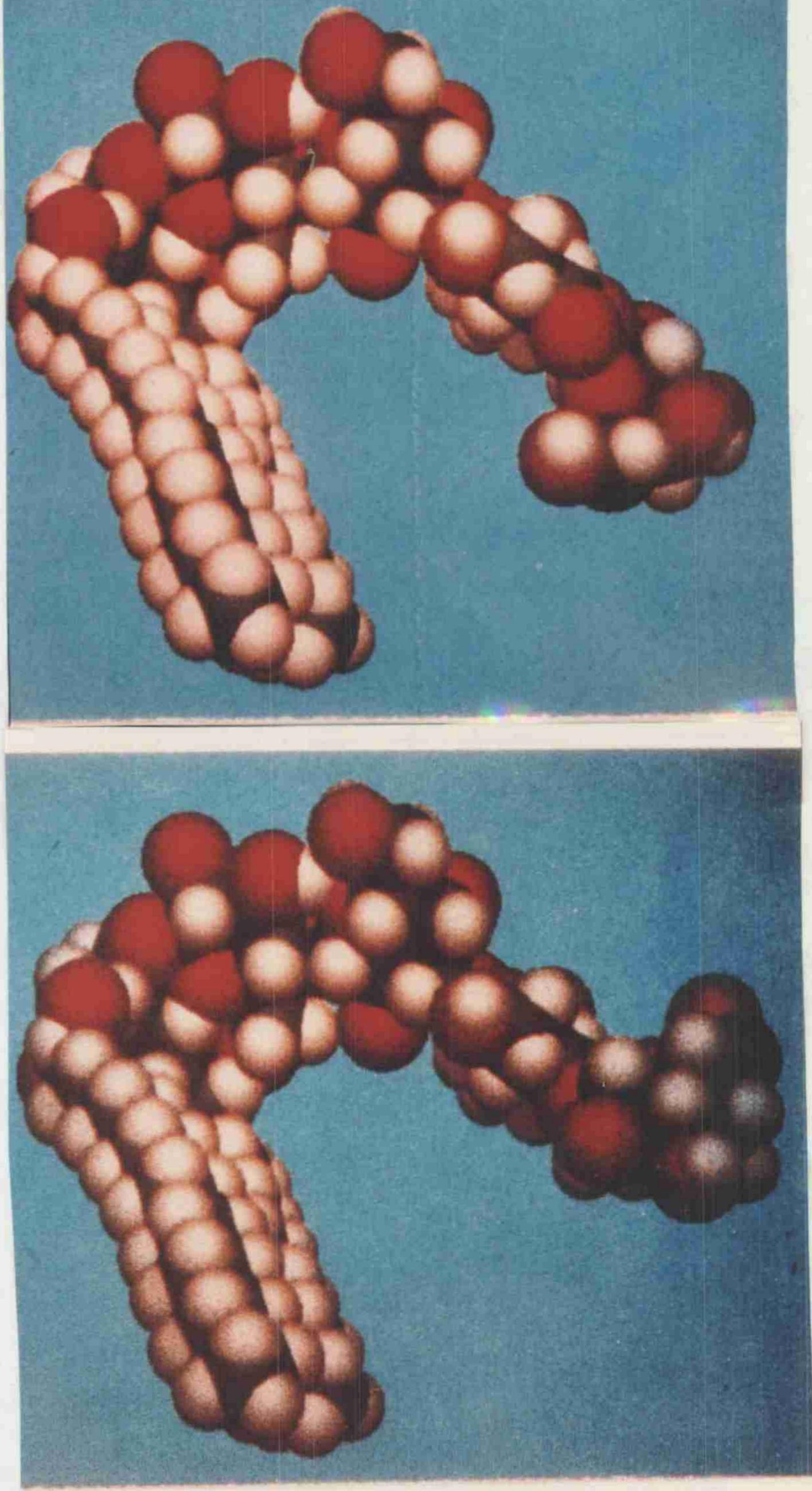


Fig. 5. Glicosfingolípidos de la serie lacto. Según la posición que adopte el último enlace, las moléculas de esta serie se subdesifican en moléculas de tipo I (arriba) y de tipo II (abajo).

sidos (27).

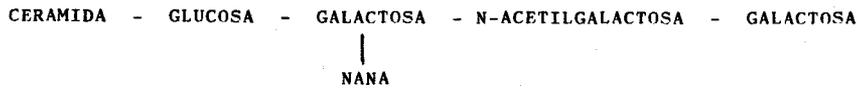
El ácido N-acetilneuramínico es importante por que debido a su grupo carboxílico es responsable de la mayor parte de la carga negativa a pH 7 de la superficie externa de la membrana celular.

Los gangliósidos más sencillos son los formados por cerámi-da-glucosa-Acido N-acetilneuramínico (Cer-Glu-NeuAc) ó por cerámi-da-galactosa-Acido N-acetilneuramínico (Cer-Gal-NeuAc). Para el ácido siálico es α ; mientras que la N-acetilhexosamina y la glucosa es β ; para la galactosa, suele ser también β , pero se conocen algunos gangliósidos con configuración α . Aún tomando en consideración solamente la porción oligosacarídica, la complejidad de algunos gangliósidos es considerable. En lo que se refiere a la naturaleza de los ácidos grasos que integran los distintos gangliósidos predominan los de C_{14} a C_{18} en ciertos materiales, y los de C_{20} a C_{26} en otros.

La estructura de los gangliósidos es bastante compleja, debido a su gran número. En la figura 6, exponemos de manera simplificada la estructura de un gangliósido en general y la de un gangliósido desarrollado.

Así como Klenk (26) solo encontró gangliósidos en el cerebro, posteriormente se ha hallado también en las membranas celulares de todos los tejidos. Se ha calculado que aproximadamente un 6% de los lípidos de la sustancia gris cerebral corresponde a gangliósidos; esto es diez veces más que la sustancia blanca. Se ha medido asimismo, su concentración en la médula y corteza adrenales, bazo, placenta, hígado, riñones, pulmón, intestino, plasma sanguíneo, eritrocitos y líquido cefalorraquídeo. No se han encontrado en el reino vegetal.

Acerca de la distribución subcelular de los gangliósidos, señalamos, que se hallan en la capa externa de todas las membranas plasmáticas, con la porción glucídica, hidrófila orientada al exterior. Elevadas concentraciones de gangliósidos se albergan en las fracciones microsómicas y sinaptosómicas; en menor proporción en el aparato de Golgi.



Estructura de un gangliósido de forma simplificada

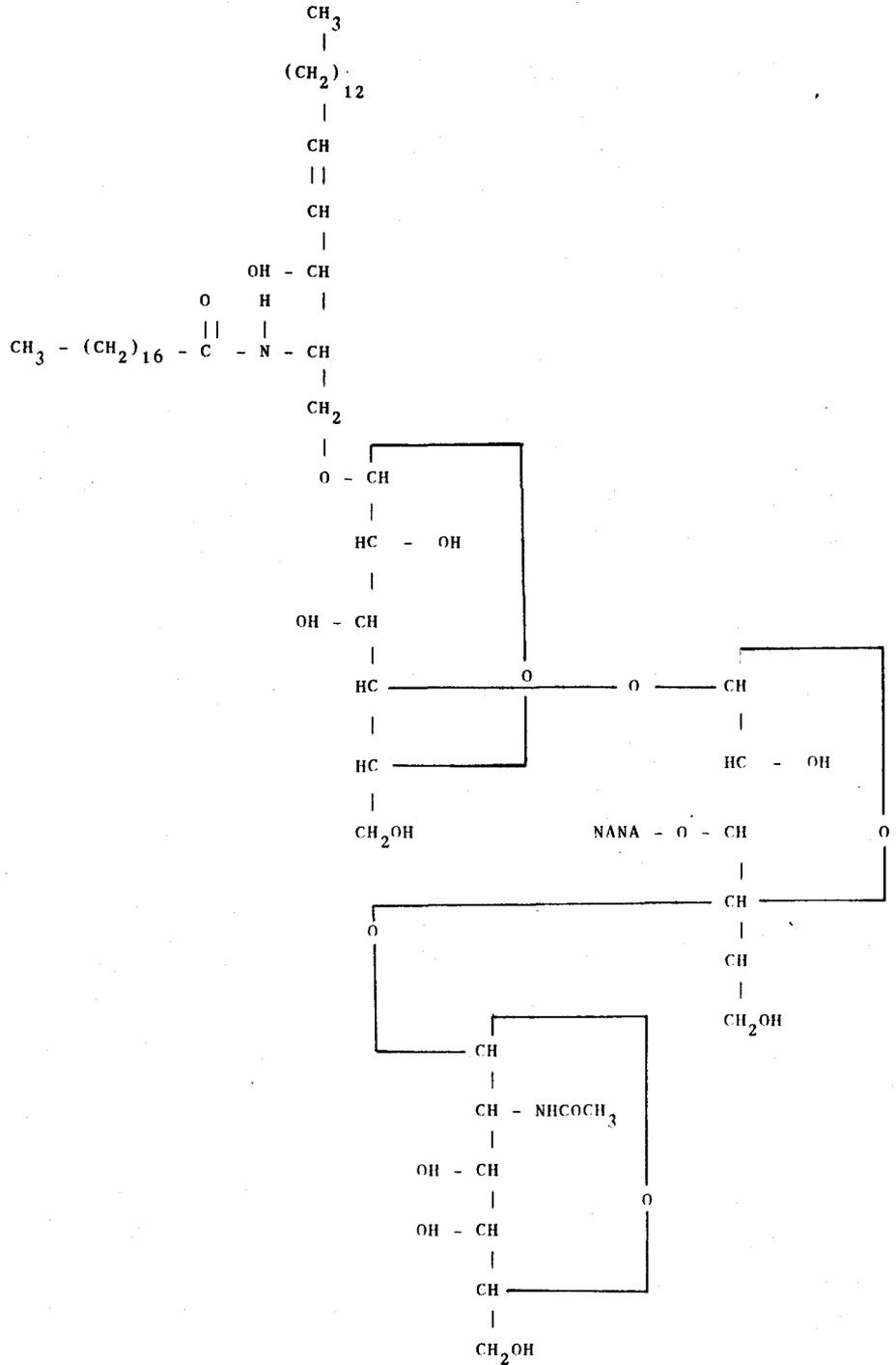


Fig. 6. Estructura desarrollada del Gangliósido CM₂

Ciertas membranas de las neuronas, son particularmente ricas en gangliósidos, que contienen más de un tipo de ácido siálico, en sus cadenas de carbohidratos. Sus patrones de distribución, difieren de unas células a otras, y de unas especies a otras.

La inclusión de las moléculas de glicoesfingolípidos, en las membranas celulares, resulta favorecida desde el punto de vista energético. La membrana celular viene a ser, según un modelo simple, una bicapa, formada principalmente por fosfolípidos y colesterol. La molécula de fosfolípido, como el glicoesfingolípido, posee una cabeza hidrófila y dos colas hidrófobas compuestas por hidrocarburos. En un recipiente lleno de agua, las moléculas de fosfolípidos y colesterol forman espontáneamente una vesícula esférica cuyo espesor equivale a dos capas de moléculas. Los grupos hidrófilos, de la capa interna se disponen mirando hacia el agua del interior de la vesícula y, los de la capa externa hacia el agua situada fuera de la vesícula. Las colas hidrófobas de las dos capas de moléculas que forman la superficie de la vesícula no quedan, por tanto, en contacto con el agua.

Las membranas celulares presentan ese mismo tipo de organización general que las moléculas de fosfolípidos. La matriz de fosfolípidos y colesterol puede, no obstante, contener otras muchas sustancias, fundamentalmente moléculas de proteína y glicoesfingolípidos. En general, la membrana plasmática que reviste la superficie celular, es mucho más rica en glicoesfingolípidos, que las membranas de los orgánulos intracelulares. Además los glicoesfingolípidos de las membranas plasmáticas, parecen localizarse exclusivamente en la parte externa de la bicapa. Las dos colas de hidrocarburos de la cerámida, se anclan en el interior hidrófobo de la membrana y le confieren rigidez estructural. La cadena de carbohidrato, se sitúa en el exterior de la superficie celular, casi en perpendicular a las colas de hidrocarburos, tal disposición expone las moléculas, a las sustancias extracelulares, a menos que las oculten proteínas u otros glicoesfingolípidos alojados en las inmediaciones.

II-3. Nomenclatura de los gangliósidos.

Esta nomenclatura es muy confusa, ya que el descubrimiento de nuevos gangliósidos se emplearán distintas denominaciones y, así, cada autor que ha estudiado el problema tiene la suya propia, lo cual ha ocasionado la natural confusión cuando se comparan resultados; entre estos autores podemos enumerar a Klenk, Korey, Gonatas; Khun, Wiegand y Svennerholm (21). Pero de todas ellas la que ha tenido más aceptación es la de Svennerholm (28), modificada más tarde por el mismo (29), es la que se ha impuesto por su triple ventaja: es sencilla, omnemotécnica y racional. Emplea la letra G como designador común de todos los gangliósidos, seguida de M, D, T ó Q, según sean uno (mono), dos (di), tres / (tri) ó cuatro (tetra), respectivamente los restos de ácido siálico; así, se denominan monosialogangliósidos, disialogangliósidos, etc., los compuestos correspondientes. Añade como subíndice el número 1 cuando la cadena de osas-osamina es larga, o sea, de cuatro restos, el número 2 cuando esta cadena carece de galactosa; el 3 cuando falta la galactosa y la N-acetilgalactosamina. Finalmente se ponen a veces las letras a ó b para distinguir entre sí aquellos gangliósidos que solo difieren por las posiciones de los ácidos siálicos (Tabla III y IV).

Con el paso del tiempo, esta nomenclatura resultaba insuficiente, al irse estableciendo las estructuras de otros gangliósidos. La cuarentena de gangliósidos hasta ahora conocidos difieren entre sí por varios motivos:

- a) El tipo de ácido siálico (siendo frecuentemente el N-acetilneuramínico, pero pudiendo ser el N-glicolilneuramínico u otros.
- b) El número de restos o residuos de ácidos siálicos, / desde uno hasta siete.
- c) Las posiciones de dichos residuos de ácidos siálicos, en la molécula de gangliósidos, cuando éstos son dos ó más de dos.
- d) El tipo de acetilhexosamina (generalmente N-acetilgalactosamina, aunque en ciertos casos N-acetilglucosamina).
- e) La longitud de la cadena oligosacarídica restante.

Mono - sialo - gangliósido

| | | |
|-----------------------------------|-------|--|
| G ₆ (GM ₃) | | R - Glu - Gal NANA |
| G ₅ (GM ₂) | | R - Glu - Gal - Nac gal NANA |
| G ₄ (GM ₁) | | R - Glu - Gal - Nac gal - Gal NANA |

Di - sialo - gangliósidos

| | | |
|------------------------------------|-------|---|
| G ₃ (GD _{1a}) | | R - Glu - Gal - Nac gal - Gal - NANA NANA |
| G ₂ (GD _{1b}) | | R - Glu - Gal - Nac gal - Gal NANA-NANA |

Tri - sialo - gangliósidos

| | | |
|------------------------------------|-------|--|
| G ₁ (GT _{1b}) | | R - Glu - Gal - Nac gal - NANA NANA-NANA |
|------------------------------------|-------|--|

R = Ceramida; Nac gal = N-acetil galactosamina; Glu = Glucosa; Gal = Galactosa; NANA = N-acetil-neuramínico.

TABLA III. CLASIFICACION DE LOS GANGLIOSIDOS. NOMENCLARURA SEGUN KOREY, GONATAS Y SVENNERHOLM.

| ESTRUCTURA | SUNNERHOLM |
|---|------------------|
| Ceramida - glc - gal - NANA | GM ₃ |
| Ceramida - glc - gal - gal Nac NANA | GM ₂ |
| Ceramida - glc - gal - gal Nac - gal NANA | GM ₁ |
| Ceramida - glc - gal - gal Nac - gal - NANA NANA | GD _{1a} |
| Ceramida - glc - gal - gal Nac - gal NANA- NANA | GD _{1b} |
| Ceramida - glc - gal - gal Nac - gal - NANA NANA-NANA | GT ₁ |

Abreviaturas: NANA = ácido N-acetilneuramínico; glc = glucosa
gal = galactosa; gal Nac = N-acetilgalactosamina.

TABLA IV. NOMENCLATURA DE SUNNERHOLM.

SVENNERHOLM

| | |
|------------------|---|
| GM ₄ | I ³ a Neu Ac - Gal Cer |
| GM ₄ | I ³ a Neu Ac - Glc Cer |
| GM ₃ | II ³ a Neu Ac - Lac Cer |
| GM ₃ | II ³ a Neu Ac Gc - Lac Cer |
| GD ₃ | II ³ a (Neu Ac) ₂ - Lac Cer |
| GD ₃ | II ³ a (Neu Gc) ₂ - Lac Cer |
| GD ₃ | II ³ a (Neu Ac, Neu GC) - Lac Cer |
| GM ₂ | II ³ a Neu Ac - Gg Osa ₃ Cer |
| GD ₂ | II ³ a (Neu Ac) ₂ - Gg - Osa ₃ Cer |
| GM ₁ | II ³ a Neu Ac - Gg Osa ₄ Cer |
| LM ₁ | IV ³ a Neu Ac - nLc Osa ₄ Cer |
| - | IV ³ a Neu Gc - nLc Osa ₄ Cer |
| GD _{1a} | II ³ a Neu Ac IV ³ a Neu Ac - Gg Osa ₄ Cer |
| GD _{1b} | II ³ a (Neu Ac) ₂ - Gg Osa ₄ Cer |
| LD ₁ | IV ³ a (Neu Ac) ₂ - nLc Osa ₄ Cer |
| GT _{1a} | IV ³ (Neu Ac) ₂ Neu Ac - Gg Osa ₄ Cer |
| GT _{1b} | IV ³ Neu Ac, II ³ (Neu Ac) ₂ - Gg Osa ₄ Cer |
| GT _{1c} | II ³ (Neu Ac) ₃ - Gg Osa ₄ Cer |
| GQ _{1b} | IV ³ (Neu Ac) ₂ , II ³ (Neu Ac) ₂ - Gg Osa ₄ Cer |
| GQ _{1c} | IV ³ Neu Ac, II ³ (Neu Ac) ₂ - Gg Osa ₄ Cer |
| GP _{1b} | IV ³ (Neu Ac) ₃ II ³ (Neu Ac) ₂ - Gg Osa ₄ Cer |
| GP _{1c} | VI ³ a Neu Ac - nLc Osa ₆ Cer |

TABLA V. NOMENCLATURAS ACTUALES DE ALGUNOS GANGLIOSIDOS.

La IUPAC-IUB (30) (International Union of Pure and Applied Chemistry, International Union of Biochemistry) en 1.976, introdujo una terminología más detallada y precisa, pero menos fácil de retener. Habida cuenta, de que los glicosfingolípidos neutros, precursores estructurales de los gangliósidos pueden ser / adscritos a varias series o familias se ha establecido que los gangliósidos que posean glucosa queden adscritos a las familias "lacto", "neolacto" y ganglio, el gangliósido que posea galactosa en vez de glucosa se inscribe en la serie "gala". Se acepta, asimismo, la simplificación de los nombres de la cadena oligosacáridica.

La posición del resto glucídico, respecto al extremo de la cerámida se señala con números romanos: I remite al constituyente inmediato; II, III ó IV designará dicha posición para los siguientes. Por último, la posición del enlace correspondiente a cada resto respecto a la que se une del otro residuo se marca / con un número arábigo, a modo de exponente del número romano antes mencionado. De forma esquemática, se representa mediante pequeñas figuras geométricas (p.e. con cuadrados para la galactosa, triángulos para los ácidos siálicos....) la naturaleza de / los constituyentes glucídicos (Tabla V).

II-4. Métodos para la determinación de gangliósidos.

Los métodos clásicos utilizados por Klenk (31) para la separación y caracterización de glicosfingolípidos y por tanto de / gangliósidos son los propios, de la química orgánica; Folch-Pi / (32) extraía los lípidos de un tejido mediante mezclas de cloroformo metanol, en una proporción de 2 a 1, y luego disolvía los gangliósidos en agua. Esos métodos clásicos se han complementado con las técnicas de cromatografía. Por su sencillez y rapidez, la cromatografía en capa fina, mono o bidimensional, usando diferentes líquidos de desarrollo, es de gran utilidad. No obstante, la identificación de un gangliósido solamente por esta / técnica se considera insuficiente, sobre todo para tejidos extra neurales, dada la escasa concentración de gangliósidos en ellos y la posible coincidencia en el desplazamiento de varios gangliósidos. Asimismo, la separación de distintos gangliósidos, dada su mayor o menor polaridad, se ha logrado mediante cromatografía

con derivados de cambio iónico débiles.

Para la caracterización de un gangliósido se acude a técnicas que por su especificidad y sensibilidad permiten identificar la naturaleza o la determinación cuantitativa de los constituyentes: ácidos grasos, esfingoides y restos glucídicos; además de establecer, generalmente, la posición del enlace y la forma anómérica. Las hidrólisis secuenciales mediante reactivos adecuados y, especialmente, las llevadas a cabo con la participación de hidrolasas específicas han resultado útiles. Las técnicas de permetilación, reducción con tetrahidruro de boro y sodio se emplean también con este fin. Desde hace algún tiempo, se aprovecha el desarrollo de otras técnicas: cromatografía de masas y resonancia magnética nuclear (33).

En cuanto a ensayos cuantitativos los métodos espectrofotométricos para determinar los constituyentes glucídicos, y de modo especial la concentración en ácidos siálicos por ser un componente característico de los gangliósidos, resultan imprescindibles. Más, a pesar de existir varios métodos para valorar este compuesto, la determinación exacta del mismo no es tarea fácil, dada las interferencias ocasionadas por otros glúcidos, pérdidas durante las hidrólisis y otros obstáculos. Recientemente se han introducido las técnicas destinadas a la preparación de anticuerpos monoclonales (34) frente a monosialigangliósidos, entre otros motivos por el interés que presentan algunos fucogangliósidos como antígenos hallados en cáncer gastrointestinal.

Mediante la utilización de cromatografía de intercambio iónico con diethylaminoetil Sephadex (33) ó esfuosil-diethylaminoetil dextrato y con el uso de gel de sílice homogéneo poroso, los glicoesfingolípidos se han separado con gran eficacia (35). Mediante los procedimientos combinados de la cromatografía de intercambio iónico y la cromatografía en capa fina con gel de sílice se detectaron y definieron los nuevos gangliósidos. La cromatografía líquida de alta resolución se ha utilizado en la separación y cuantificación de los glicoesfingolípidos. Los glicoesfingolípidos se han analizado como derivados de perbenzoylatos, N-benzoylatos y O-acetilados, y O-benzoylatos. La última derivación con benzoilanhidrida y 4-metilamino-piridina, esto permite

que se pueda reconstruir el glicosfingolípido original mediante hidrólisis. Tres procedimientos se han introducido en la caracterización de glicosfingolípidos:

1. Análisis de metilación perfeccionado.
2. Espectrometría de masa directa sobre los compuestos permetilados o permetilado reducidos.
3. Degradación enzimática por exo y endo β -glycosidasas (36).

II-5. Patrón y concentración de gangliósidos.

Se conoce por "patrón de gangliósidos", el conjunto de los porcentajes de gangliósidos determinados cualitativa y cuantitativamente en un material. Puede referirse a los que se hallan en mayor proporción. Estos gangliósidos mayoritarios, para órganos neurales de mamíferos, son el GM_1 , GD_{1a} , GD_{1b} y GT_{1b} que pueden alcanzar del 65 al 85 por ciento del contenido total del cerebro de mamíferos. O puede referirse dicho patrón conjuntamente a los porcentajes de gangliósidos mayoritarios y minoritarios.

El patrón de gangliósidos depende de varios factores. En primer lugar de la especie animal y la edad del individuo. También depende del órgano o tejido analizado. Incluso para un mismo órgano o tejido se han encontrado diferencias, según la fracción subcelular analizada. Por último, el patrón queda condicionado a circunstancias diversas, patológicas o no. El patrón para un material dado es el reflejo de los mecanismos de biosíntesis y de degradación de gangliósidos allí confluyentes.

El patrón de gangliósidos, de las especies de mamíferos presente, para los cuatro gangliósidos mayoritarios, y en condiciones normales, valores similares, lo que podría explicarse, como motivado, por el desempeño de unas mismas funciones. Por el contrario, el patrón gangliósidos de peces, anfibios y reptiles es más heterogéneo, debido quizás a que el mismo refleja no solo aspectos filogenéticos de organización del sistema nervioso, sino también su participación en funciones de adaptación a distintas temperaturas. La existencia de gangliósidos, con numerosos restos de ácidos siálicos, estudiados en peces, y de gangliósidos /

de estructura inhabitual son ejemplos que confirman esta diversidad. El patrón de gangliósidos puede modificarse independientemente de la concentración de los mismos; ésto suele expresarse, en microgramos o en nanomoles, de ácido siálico por gramo de peso de tejido (22).

II-6. Biosíntesis de gangliósidos.

El metabolismo de los glicoesfingolípidos no está totalmente aclarado. Los productos básicos para la síntesis son: esfingosina, glucosa, galactosa y N-acetilgalactosa en forma de derivado VDP y el ácido siálico, en forma de CMP-N acetilneuromínico.

Desde el descubrimiento de los gangliósidos, se han llevado a cabo numerosas investigaciones para el descubrimiento de las / rutas metabólicas de la biosíntesis de gangliósidos y, así, cabe destacar a Brady y cols. (37), los cuales en 1.958 dieron un / gran paso adelante, sobre el conocimiento de estas rutas metabólicas, con su trabajo sobre la transferencia de un resto de galactosa, desde el derivado nucleotídico: uridin-difosfato-galactosa (UDP-gal), a un aceptor; este proceso tenía lugar en la / fracción microsómica de rata joven. Esto suponía la confirmación de la existencia de unos mecanismos comunes con los de la / biosíntesis de oligosacáridos.

Desde comienzos de la década de 1.970, varios equipos han / tratado de esclarecer el mecanismo o mecanismos referentes a la biosíntesis de tales compuestos. El grupo norteamericano de S. Roseman (38) que había establecido ya la biosíntesis del ácido / N-acetil-neuramínico al igual que lo había hecho L. Warren (39) logró inicialmente importantes resultados. En Argentina R. Caputo y cols. (40) han establecido las rutas de biosíntesis de los gangliósidos hoy admitidas y la localización subcelular de tales procesos. En Italia G. Tettamanti y cols. (41) han dedicado su / atención también a este tema. Complementarios de estos trabajos son otros sobre aislamiento y caracterización de diversos gan--gliósidos, con los que han destacado R.W. Ledeen y R.K. Yu (33).

Este conocimiento incompleto es debido a la enorme diversi-

dad y complejidad estructural de los mismos, la dificultad y limitación de las técnicas, la existencia de varias vías hipotéticamente válidas para explicar la biosíntesis de un mismo gangliósido, y por último, al error en que cayeron inicialmente diferentes equipos de investigación al considerar que los gangliósidos se biosintetizarían donde se localizan.

Los gangliósidos son sintetizados a partir de las cerámidas (acilesfingosina) por la adición secuencial de los azúcares activados, como son: La UDP-glucosa, UDP-galactosa, UDP-N acetil galactosamina, CMP-ácido siálico y excepcionalmente guanosindifosfato-L-fucosa (GDP-fucosa); estas reacciones las catalizan unas 15 ó 20 glicosiltransferasas, enzimas integradas en lo que Rosseman (42) ha denominado "complejo de la multiglicosiltransferasa". (38).

La porción glucídica de los sialoglicoesfingolípidos se forma en el aparato de Golgi. Algunos sostienen la posibilidad de que ocurra también en el retículo endoplásmico y en la membrana citoplasmática.

En este proceso de síntesis, la doble especificidad de cada enzima respecto al monosacárido-nucleótido y al aceptor garantiza una gran constancia en la composición de los gangliósidos de un material dado; no obstante, pueden biosintetizarse gangliósidos más ó menos complejos. Una confirmación indirecta de la intervención de mecanismos de especificidad de especie, o sea, características de cada especie, en la biosíntesis de gangliósidos ha sido apreciada por algunos autores como J.A. Cabezas (32) al obtener el patrón de gangliósidos de distintas partes del encéfalo de caballo, asno y mulo, que resultó ser generalmente intermedio para el híbrido mular respecto a los de caballo y asno.

El uso de aceptores exógenos o de aceptores endógenos en los ensayos experimentales ha conducido a algunas diferencias parciales del esquema aquí esbozado: gangliósido GM1, como precursor del GD1a ó conjuntamente del GD1a y GD1b. Por otro lado, la biosíntesis del gangliósido GT1c no parece poderse explicar a partir del GD1b (ni menos a partir del GD1a), por lo que Yu y Ando (43) han sugerido la existencia de dos rutas confirmadas y /

otra tercera como muy probable.

También Rahman e Hilgib (44) han aceptado y ampliado recientemente el esquema de Yu y Ando en relación con sus estudios filogenéticos. Comprendería tres vías: a, b y c, de las que la a, sería utilizada por los mamíferos más evolucionados; b y a, por reptiles y aves; las b y c, por anfibios y peces carbilaginosos y la c, por teleósteos (Figura 7).

Fishman y cols. han realizado trabajos que indican que la glicosilación secuencial de un gangliósido para originar otro más complejo se realiza con la participación de un pequeño acervo de intermediarios. Los resultados de estos trabajos guardan analogía con otros realizados por otros autores, según los cuales existirían dos pequeños acervos en el cerebro, siendo efectuada la biosíntesis de cada gangliósido por un sistema multienzimático, con la intervención de un acervo limitado de intermediarios de transición que garantizarían la separación, de los formados, de los de igual estructura preexistentes; los primeros pasarían a otras porciones de la membrana, de las que no podrían volver para convertirse en sustratos ulteriores biosíntesis. En este sentido los resultados de Fishman ponen de manifiesto que la transferencia de gangliósidos desde el sitio de su biosíntesis hasta la superficie celular requeriría unos 20 minutos, siendo transportados a un ritmo constante hasta la membrana plasmática. En el caso de las células nerviosas, los gangliósidos sintetizados del aparato de Golgi son transportadas a lo largo del axon hasta las terminaciones nerviosas. (32)

La síntesis de glicoesfingolípidos está sujeta a dos tipos de control. El primero es común a la síntesis de muchas otras enzimas, la transcripción de la secuencia de bases del ADN y su traducción en las correspondientes enzimas pueden acelerarse o reprimirse activando o inhibiendo secuencias especiales de ADN; o bien, puede alterarse con gran rapidez la actividad de los glicosiltransferasas en las membranas por medio de pequeñas modificaciones químicas de moléculas de enzimas ya existentes. Tales modificaciones influyen tanto en la distribución de las enzimas por las membranas como en las interacciones que establezcan con los sustratos allí presentes. Es más, la expresión de los gli-

coesfingolípidos en la superficie de las membranas celulares no solo depende de su tasa de síntesis, sino también de su organización y de la que adopten otras moléculas de membrana. Su accesibilidad a los anticuerpos u otras sustancias externas pueden verse afectadas por la proximidad que guarden con otras moléculas.

La existencia de más de un mecanismo de control de la expresión de los glicosfingolípidos determina que su concentración / sobre la superficie celular resulte mucho más sensible a los cambios del medio ambiente, por ejemplo, la concentración de una / proteína. Los rápidos cambios de la expresión de los glicosfingolípidos podrían derivar de una regulación coordinada de los genes que determinan las enzimas implicadas en su síntesis, de la competencia entre varias enzimas por su sustrato o de un cambio de orientación y exposición de los antígenos glicosfingolípidos que se hallen ya sobre la superficie celular. Recientemente se ha comprobado que durante el desarrollo embrionario ciertos glicosfingolípidos se exhiben en algunos tipos celulares durante / muy breve tiempo. Sugieren estos hallazgos que los glicosfingolípidos guardan una estrecha relación con los mecanismos de crecimiento celular. A las células, que han de enfrentarse ante los continuos cambios que se dan durante el desarrollo, les debe resultar más eficaz alterar glicosfingolípidos que proteínas.

La biosíntesis de gangliósidos en circunstancias patológicas muestra que una deficiencia en la UDP-N-acetilgalactosaminil: GM₃-transferasa ocasiona un acúmulo anormal de gangliósidos GM₃, fenómeno similar al de la simplificación de gangliósidos / que sucede en las membranas de células eucarióticas después de / la transformación de éstas por virus oncogénicos, tratamientos / con agentes carcinógenos etc,. La explicación lógica de estos hechos radica en el papel crucial de esta enzima en la ruta de biosíntesis que conduce a otros gangliósidos más complejos. Según Dawson y cols, la biosíntesis de gangliósidos puede ser inhibida por Beta-endórficas, encefalinas y opiáceas.

II-7. Degradación de gangliósidos.

Debido a que se conocía y entendía mejor la naturaleza de /

las hidrolasas, que las de las glicosiltransferasa, se conoce mejor y desde hace más tiempo, los procesos de degradación de gangliósidos, que la biosíntesis. No obstante, nuevos aspectos surgidos últimamente como el de la intervención de factores proteicos, han contribuido a afianzar la idea, de que todavía restan / importantes áreas por esclarecer. El acúmulo anormal de ciertos esfingolípidos, pudo relacionarse, ya, en los primeros años de / estas investigaciones con deficiencias en algunas enzimas o isoenzimas implicadas en su catabolismo, al tiempo, que se incrementa la actividad de otras glicosidasas o de alguna isoenzima.

La eliminación del resto terminal, de ácido siálico, es la primera etapa, de la degradación de los polisialogangliósidos, / como ya estableciera Gatt (45) en 1.963. Los esfingolípidos resultantes, van secuencialmente degradándose, merced a la actividad catalítica de las restantes glicohidrolasas.

En el sistema nervioso, los gangliósidos con más de un resto de ácido siálico, son degradados hasta GM_1 en las terminaciones nerviosas, siendo ésta transportada a lo largo del axón, hasta los lisosomas, donde resultan degradados.

La degradación de los gangliósidos hasta otros metabolitos más sencillos, la comprenderemos mejor, si analizamos algunas investigaciones recientes sobre ella. Así, algunos autores han / aislado y caracterizado diversos tipos de neuraminidasa o sialidasa de cerebro, que presentan distinta localización subcelular y poseen propiedades muy diferentes. Esto significa que ciertos compuestos pueden ser, sustratos de unas neuraminidasas y no de otras. La degradación artificial de gangliósidos, como el GD_{1a} mediante la neuraminidasa de *Vibrio Cholerae*, empieza por la liberación del componente ácido siálico externo, originándose así, el gangliósido GM_1 . Este producto resultante es insensible a la actividad de dicha enzima. Solamente después de liberarse la N-acetil- B - D - galactosamina, por la hexosaminidasa correspondiente, puede actuar la neuraminidasa de *V.cholerae*, e hidrolizar el derivado del GM_1 . No obstante, la neuraminidasa procedente de *Clostridium perfringens*, es capaz de actuar directamente sobre el GM_1 e hidrolizarla.

La localización principal de la enzima, que participan en / los procesos degradativos es lisosómica. Todavía quedan por averiguar, algunos aspectos, relacionados con los lisosomas y enzi-
mas lisosómicas, debido a que a veces su complejidad de acción / es muy elevada.

Para favorecer la hidrolisis de gangliósidos, de forma arti-
ficial se utilizan detergentes, in vivo se produce esta degrada-
ción participando factores de activación de naturaleza protéica,
con tamaño molecular próximo a 20.000 y localización lisosómica,
para favorecer la actividad de la neuraminidasa, B-N-acetilhexo-
saminidasa, B-D-galactosidasa y otras enzimas relacionadas.

Algunos investigadores, se cuestionaron, si las mismas gli-
cosidasas, que degradan a las glicoproteínas, pueden hidrolizar
a los gangliósidos. La respuesta a esta cuestión, es que se co-
nocen glicosidasas, capaces de actuar sobre ambos grupos de gli-
coconjugadas, mientras que otras son exclusivas de cada uno de /
ellos; y, aún para cada grupo, pueden presentarse, en ellas limi-
taciones y diferencias muy marcadas. Como era previsible, estas
glicosidasas, muestran una amplia variedad de posibilidades de /
actuación.

En 1.964, Burton y cols. (46), observaron que los gangliósi-
dos eran de los compuestos más rápidamente metabolizados en el /
cerebro; calculó su vida media, de unos 24 días cuando se sinte-
tizaban utilizando glucosamina, y de unos 10 días si el precur-
sor era la galactosa. Si se inyectan gangliósidos marcados, de-
saparecen de la circulación más ó menos rápidamente, según la na-
turaleza; el GD_{1a} tiene una vida media de unas cuatro horas y el
 GM_1 , de 21 horas.

En los últimos lustros, se han venido concediendo a las pro-
teínas y a los ácidos nucleicos, un papel decisivo, en la expre-
sión funcional de los seres vivos y se ha considerado a los glú-
cidos, como un material, con misiones eminentemente energéticas
o de sostén, desde la década de los 70 se ha ido abriendo camino,
la idea de que ciertos glúcidos, a lo menos también tienen fun-
ciones, de significado biológico, no inferior al de los otros /
grupos mencionados, si están integrados en glicoconjugados (Figu-
ra 8).

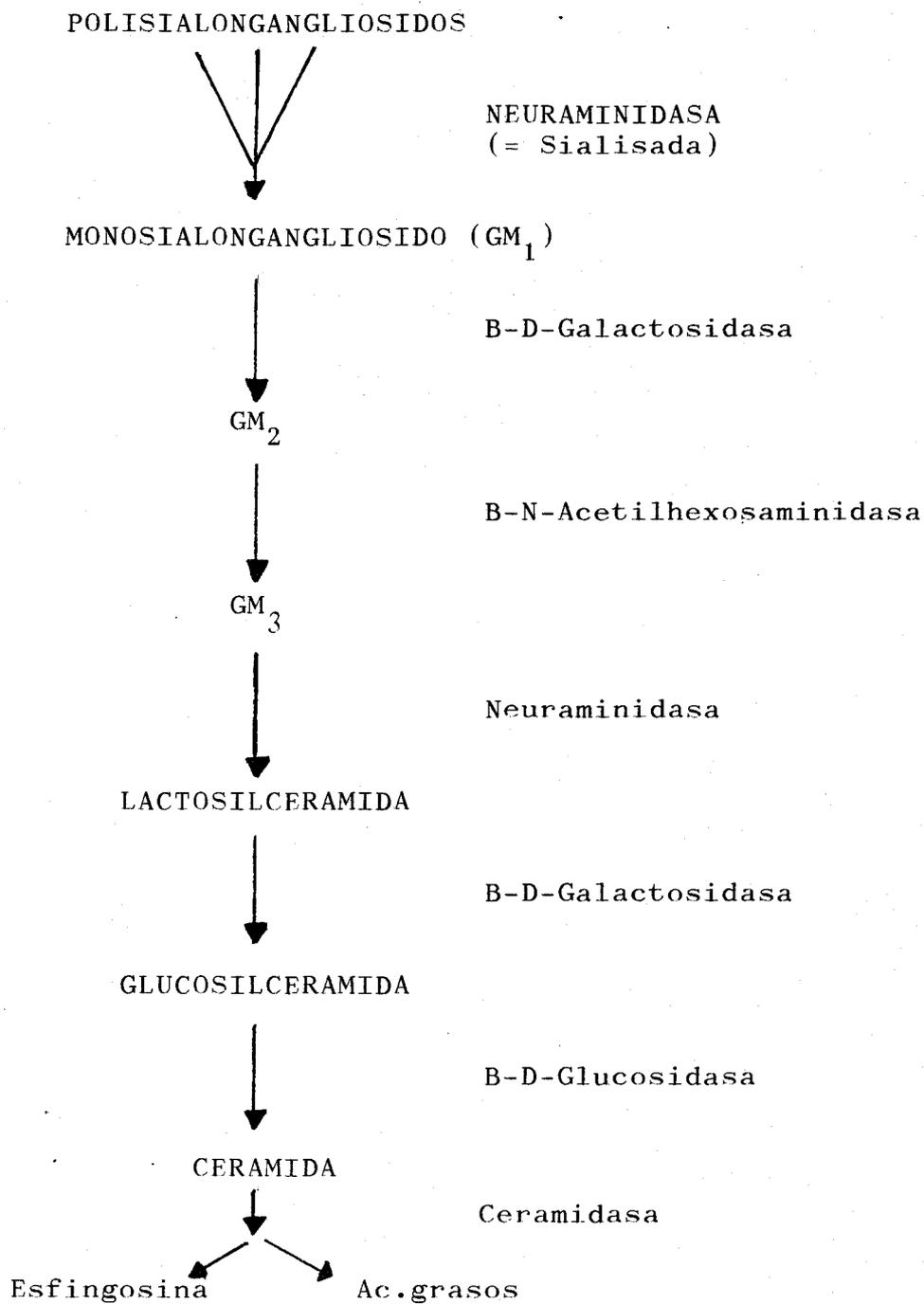


Figura 8. DEGRADACION DE GANGLIOSIDOS

II-8. Función de los gangliósidos.

En nuestros días se ha prestado mucha atención a la bioquímica de los glicoesfingolípidos. Aunque son constituyentes de las membranas revisten gran importancia en cierto número de funciones especializadas. Debido a que los gangliósidos, son especialmente abundantes en las extremidades nerviosas, se ha apuntado la posibilidad, de que actúan en la transmisión de los impulsos nerviosos a través de las sinapsis. También se hallan presentes en los centros receptores, para la acetil-colina y otras sustancias neurotransmisoras. Algunos glucoesfingolípidos de la superficie celular, se hallan relacionados no solamente con la especificidad del grupo sanguíneo, sino también, con la de los órganos y de los tejidos. Estos lípidos, están también implicados, en la inmunidad de los tejidos y en los centros de reconocimiento célula-célula que son fundamentales para el desarrollo y la estructura de los tejidos. Las células cancerosas, por ejemplo, poseen glucoesfingolípidos, característicos, que son diferentes de los de las células normales.

El concepto de que los glicoesfingolípidos son componentes de las membranas plasmáticas y que presentan patrones células tipo específicas han podido ser demostrado desde los clásicos estudios de glicoesfingolípidos en la membrana de eritrocitos. A raíz de esto, se aislaron membranas plasmáticas, de diversas células animales y se observó el alto contenido de glicoesfingolípidos, en las membranas intracelulares. Se ha admitido, que los glicoesfingolípidos están presentes, en la laminilla externa, de la membrana plasmática.

El alto contenido de glicoesfingolípidos, en la mitad externa de la bicapa lipídica, sugiere dos posibilidades: primero, los glicoesfingolípidos pueden contribuir a dar la rigidez estructural de la lámina superficial. Segundo, los glicoesfingolípidos, al estar en la lámina externa de la bicapa, están bien situadas para interactuar con elementos exógenos a través de sus carbohidratos y regular la función de las proteínas receptoras. Las variadas funciones de los GSL, en la interacción y diferenciación celular y su déficit en la transformación celular, pueden verse desde un mismo punto de vista.

Según parece, los glicosfingolípidos influyen sobre la célula y su crecimiento de dos formas principales. Modulan las funciones de algunas de las proteínas que residen en la membrana / plasmática y actúan, junto con las proteínas como marcadores de superficie, necesarias para mantener una adecuada comunicación / intercelular. Los primeros indicios de que los glicosfingolípidos, intervenían, en el funcionamiento de las proteínas de membrana, se obtuvieron, tras comprobarse, que ambos tipos moleculares, se encontraban estrechamente asociados en las membranas. Caputto y cols. (47) encontraron que los glicosfingolípidos del cerebro, activaron la ATPasa proteína que libera la energía necesaria, para la transmisión de mensajes para los nervios.

El hecho de que los glicosfingolípidos, en la superficie / celular puedan ser reconocidos, por otras superficies y viceversa, es una base importante, del reconocimiento celular y diferenciación.

Las proteínas receptoras, incrustadas en las membranas plasmáticas, constituyen a menudo uno de los eslabones fundamentales de la compleja secuencia de acontecimientos previos a la mitosis, que así se llama el proceso de división de las células somáticas. Estudios recientes realizados por Eric Bremer (48), indican que ciertos glicosfingolípidos pueden romper ese eslabón e inhibir el crecimiento celular.

En circunstancias normales, para que las células animales / sufran mitosis, se requiere de ciertas hormonas extracelulares / específicas, denominadas factores de crecimiento, que se unen a proteínas receptoras específicas en determinados puntos de la / parte externa de la membrana plasmática. Las proteínas receptoras son macromoléculas alojadas en la membrana; parte de la molécula queda en el interior de la célula y parte en el exterior. La porción citoplasmática es en realidad una enzima, cuya misión consiste en catalizar la adición de grupos fosfatos a diversas / proteínas del citoplasma incluido el propio receptor. Por lo / que se ve, cuando el factor de crecimiento se une al receptor, / la enzima asociada con su porción citoplasmática se activa e induce la incorporación de un grupo fosfato en el receptor, acción que parece instaurar un cambio conformacional; este tipo de alte

raciones permite la agrupación de los receptores en la superficie de la membrana. Los receptores y los factores de crecimiento que llevan unidos, penetran, a continuación en la célula.

Cuando se añaden los glicosfingolípidos GM_1 o GM_3 a células cultivadas en presencia de factores de crecimiento queda bloqueada la proliferación celular. Es más, las proteínas receptoras de las membranas de las células cuya proliferación se inhibe ante GM_1 ó GM_3 no tienen el grupo fosfato, efecto que parece específico de GM_1 y GM_3 . Ningún otro glicosfingolípido provoca / estos resultados. En consecuencia, se supone, que el funcionamiento del receptor es sensible a los glicosfingolípidos que le rodean. Merece señalarse que, cuando las células sufren transformación por virus tumorígenos, las correspondientes células tumorales presentan un contenido más bajo de GM_3 en algunos tipos de tumor de GM_1 en otros. Las reducciones pueden correlacionarse con una pérdida de control sobre el desarrollo celular ejercido por los glicosfingolípidos.

No debe concluirse, sin embargo, que los glicosfingolípidos estén siempre asociados con la inhibición del crecimiento y la diferenciación celular. Estudios realizados por Nagai y cols. (49) indican que la adición de otro glicosfingolípido, el llamado GQ_{1b} , a neuronas tumorales embrionarias induce la formación / de células nerviosas maduras, además de otros muchos cambios. Recientemente estos autores, han observado que cuando ciertas células de leucemia de ratón se incuban con GM_3 se diferencian en macrófagos.

Además del papel que desempeñan en la regulación de proteínas a los GSL, les corresponden ciertas funciones celulares propias. La más importante es la de establecer diferencias en el nivel celular entre las especies, entre los individuos de una misma especie e incluso entre células de un mismo individuo. Los antígenos de grupos sanguíneos constituyen un buen ejemplo de la variación de los glicosfingolípidos entre individuos de población humana.

Gran interés ha despertado en los últimos años los cambios que sufren los marcadores glicosfingolípidos durante el desarro

llo celular normal y durante el canceroso. Desde que se describió por primera vez un cambio en los GSL asociados con la transformación oncogénica, se han realizado muchos estudios empleando las líneas celulares de fibroblastos o cultivos primarios / transformados por virus DNA, RNA o carcinógenos químicos. Además de la clásica síntesis, que está ausente en las células madre, se encontró en células tumorales y tejidos, que este cambio incluye la síntesis del antígeno glicolípido de Forssman / en tumores derivados de tejido de Forssman negativo, antígenos semejantes en tumores derivados de grupos sanguíneos O ó B y tipos específicos de síntesis de fucolípidos. Una gran cantidad de gangliotriosylcerámid (asialo GM₂) se encontró en sarcomas de ratones y linfomas que están ausentes en las células y tejidos normales; este cambio resulta de una inducción de la síntesis de glicolípidos más que por la acumulación debida a un bloqueo de la síntesis de GM₁.

Los cambios GSL asociados con la transformación oncogénica pueden clasificarse en 7 tipos (Tabla VI). La transformación / del 1 al 4 representa: "Síntesis incompleta", de los tipos 5 al 7 representa la síntesis inducida por un nuevo residuo carbohidratado. Una síntesis incompleta a veces produce una acumulación del precursor. Por lo tanto, tanto una síntesis nueva como una síntesis incompleta podrían producir la aparición de GSL que está ausente (ó presente en un pequeño equivalente) en las células no transformadas.

Mientras que las toxinas y las infecciones víricas o bacterianas se sirven de los glicoesfingolípidos presentes en las células sanas, el crecimiento canceroso está asociado claramente a glicoesfingolípidos alterados. Ese cambio expresa una anormalidad subyacente, cualquiera que sea la causa y la alteración de la población de glicoesfingolípidos podría obstruir, una parte esencial, de los recursos de que dispone la célula, para mantener su vida social ordenada. No sorprendería descubrir que la alteración glicoesfingolípídica fuese una de las causas principales de las caóticas e indisciplinadas interacciones sociales que son características de las células cancerosas.

Los cambios producidos en los GSL dependen de la célula /

- Tipo 1. Disminución o delección de GM_3 , GD_3 ; aumentando en el estadio siguiente.
- Tipo 2. Disminución ó delección de GT_1 , GD_{iab} , aumento de GM_3 , GM_2 ó GM_1 .
- Tipo 3. Acumulación del grupo asialo ($Gg Os_4 Cer$, $Gg Os_3 Cer$, $Lcn Os_4 Cer$, etc..) el cual normalmente está ausente.
- Tipo 4. Descenso o delección de $Gb Os_3 Cer$, $Gb Os_4 Cer$, $Gb Os_5 Cer$ (Forssman) ó aumento de la cadena de glicoesfingolípidos neutrales.
- Tipo 5. Disminución o delección de GM_3 , GM_2 , aumento de GD , GT .
- Tipo 6. Nueva síntesis de $Gb Os_5 Cer$ (Forssman-huésped negativo).
- Tipo 7. Nueva síntesis de antígenos de grupos sanguíneos incompatibles extraños al huésped.

TABLA VI. TIPOS DE CAMBIOS GLICOLIPIDOS ASOCIADOS CON LA TRANSFORMACION ONCOGENICA.

huésped y del agente cancerígeno. Algunas células tumorales / acumulan glicosfingolípidos simples; quizás esté bloqueada la síntesis de los más complejos, derivados de aquellos. Otras cé lulas tumorales, las procedentes de tumores epiteliales humanos sintetizan cadenas de carbohidratos pocos usuales y acumulan / nuevos glicosfingolípidos: los neoglicolípidos.

Los glicosfingolípidos precursores y los neoglicolípidos se identificaron como antígenos asociados a tumores, en estu- / dios clásicos realizados, con anticuerpos de conejo. Pero esa comprobación de que las células tumorales generaban variantes / glicosfingolípídicas no pudo explotarse convenientemente, hasta el desarrollo de los anticuerpos monoclonales, técnicas que pusieron a punto en 1.976 George Köhler y César Milstein (50). Los anticuerpos monoclonales poseen una alta afinidad específica por un solo antígeno. Se identifica rápidamente la presen- / cia de un antígeno por medio de un anticuerpo monoclonal unido a una molécula marcada.

Para elaborar una abundante cantidad de anticuerpos mono- / clonales específicos de antígenos de tumor es preciso inyectar primero el antígeno en ratones. Se fusionan luego células de / bazo del ratón inmunizado con células de tumor de ratón. Las / células así obtenidas, denominadas hibridomas, combinan la capa cidad de crecimiento ilimitado propia de las células tumorales con la capacidad de las células del bazo para generar anticuer- / pos. Ya se han identificado y caracterizado químicamente, en / razón de su especificidad por anticuerpos monoclonales, más de diez tipos de antígenos glicosfingolípidos asociados a tumores.

Cada hibridoma produce un anticuerpo distinto, lo que obli- / ga a seleccionar los adecuados. La mayoría que trabajan con tu mores se sirven al efecto de la estrategia de la perdigonada: inyectar en el ratón antígenos sin caracterizar, procedentes / de tejidos tumorales, y a continuación, entre los hibridomas / resultantes, buscan los que reaccionan contra los antígenos es- / pecíficamente asociados al tumor Hakomori (51) utiliza un méto- / do menos convencional; él obtiene y caracteriza químicamente / un glicosfingolípidos asociado con un tipo específico de cán- /

cer. A continuación inyectan en el ratón bacterias recubiertas con el glicosfingolípido. Lo que buscan posteriormente es un hibridoma que reaccione preferentemente con el antígeno que se había preparado con anterioridad.

Han aplicado ese procedimiento a la elaboración de anticuerpos monoclonales dirigidos contra una amplia variedad de / nuevas estructuras asociadas con tumores.

Kannagi, Levery y Nudelman (52), en su estudios sobre los antígenos Le^x y Le^y , encontraron que muchos tejidos tumorales poseían gran cantidad de glicosfingolípidos muy parecidos a / Le^x y Le^y . Entre los nuevos antígenos se contaban formas diméricas y triméricas de Le^x y formas que llevaban unidas ácido / siálico. Fukushi y Abe (53) han conseguido anticuerpos monoclonales capaces de distinguir varios tipos diferentes de Le^x .

Uno de esos anticuerpos, denominados FH_4 , reacciona específicamente con el antígeno Le^x dimérico, pero no con su forma simple. Marcando ese anticuerpo, Fukushi, encontró que las células epiteliales gástricas de embriones de 35 a 45 días presentaban un alto nivel de expresión de la forma dimérica de / Le^x . En los fetos de 100 días el antígeno se expresaba solo / en las áreas más ocultas y profundas del epitelio gástrico e / intestinal, desapareciendo en las células del recién nacido y adulto.

A estos antígenos de superficie, se denominan antígenos / oncofetales, pues se encuentran en cantidades similares tanto en células cancerosas como en ciertos momentos del desarrollo de algunos tipos de células embrionarias. Se conocen ya varios antígenos oncofetales. Vale también de ejemplo un derivado siálico de la forma Le^x dimérica, definido antigénicamente por el anticuerpo FH_6 . Abundan en los tejidos fetales, pero / no en el tejido gastrointestinal adulto, aunque sí va asociado con tumores gastrointestinales. Estos hallazgos suponen un apoyo a las observaciones, de que las células cancerosas se parecen a las células, relativamente indiferenciadas de los primeros estadios del desarrollo embrionario.

Ha sido aislado y caracterizado por Magnani y cols., otro antígeno oncofetal importante que es el derivado siálico de un glicoesfingolípido llamado antígeno Le^a . Koprowski y cols., lograron obtener un anticuerpo monoclonal contra el antígeno Le^a . Dado que los anticuerpos monoclonales solo se unen a la cadena de carbohidratos del glicoesfingolípido, también se reconocen a esas cadenas, cuando las portan glicoproteínas del suero, que no están unidas a células. Los anticuerpos contra los derivados siálicos de los glicoesfingolípidos Le^a y Le^x , por ejemplo, reaccionan con el suero de pacientes que padecen cáncer. Los antígenos circulantes se detectan con facilidad por lo que su presencia resulta muy útil en el diagnóstico oncológico. El estudio de ese tipo de antígenos constituye uno de los principales objetivos de las investigaciones clínicas (54).

Los antígenos glicoesfingolípidos unidos a células constituyen la gran esperanza de la lucha contra el cáncer. Le^x y sus análogos, las formas Le^x y Le^y diméricas y triméricas, por ejemplo, están asociadas a células tumorales y no se encuentran libres en el suero. En principio y una vez identificados los anticuerpos específicos de antígenos asociados a tumores, podría administrarse a los pacientes tales anticuerpos, que detectarían preferentemente las células cancerosas que presentan poblaciones alteradas de antígenos asociados a tumores y las destrucción por medio de complejos mecanismos instados por los propios anticuerpos y por ciertos tipos de células especializadas.

Trabajos inmunológicos recientes han demostrado que muchos anticuerpos monoclonales dirigidos contra antígenos asociados a tumores son, en realidad, específicos de glicoesfingolípidos. Los resultados de al menos dos estudios clínicos parecen justificar algunas de las esperanzas más optimistas. En uno de esos estudios, un grupo de investigadores dirigidos por Lloyd J. Old y Kenneth O Lloyd, han desarrollado un anticuerpo con alta afinidad por el glicoesfingolípido GD_3 . Houghton A.N. y cols. (55) administraron el anticuerpo a doce pacientes con melanoma, en tres de los doce pacientes se observó una clara regresión del melanoma y cuatro mostraron una respuesta variada.

En otro de los estudios Nudelman et al (56), administró anticuerpos anti GD_3 a doce pacientes con melanoma, el anticuerpo - también resultó eficaz en tres de los doce casos, aunque otros / tipos de anticuerpos antimelanomas no surtieron efecto. Aunque / el glicoesfingolípido GD_3 se halla en cantidades moderadas en tejidos normales del riñón y altas en la retina, ninguno de los pacientes sufrió daños en esos órganos imputables al tratamiento / con los anticuerpos. Los únicos efectos negativos fueron reacciones inflamatorias de la piel, alrededor del melanoma, observaciones que resultan muy alentadores y sugieren que los glicoesfingolípidos, de las células tumorales son más susceptibles de ataque por parte de los anticuerpos que los mismos antígenos presentes / en tejidos normales.

Se han propuesto varias estrategias para eliminar ó matar / las células tumorales, basadas en la especificidad de los anticuerpos monoclonales. De utilizarse anticuerpos unidos a isótopos radiactivos, éstos se adherirían a las células tumorales y / las irradiarían o indicarían con precisión su posición en el cuerpo. Todo ello facilitaría el tratamiento radiactivo ulterior ó / la extirpación quirúrgica del tumor. Si los anticuerpos portaran drogas tóxicas se mataría, también de forma selectiva, las células tumorales.

Los anticuerpos constituyen el medio natural y más eficaz - de que se sirve el organismo para aislar y acabar con las células enfermas. Un anticuerpo monoclonal, como cualquier otro anticuerpo, no solo se une a las células que posee un determinado antígeno, sino que también la señala para que el sistema inmunológico / del organismo la destruya.

Podemos resumir la función de los glicoesfingolípidos en / los siguientes apartados:

1. Componentes constitutivos de la lámina exterior de / la bicapa lipídica, lo que confiere rigidez estructural.
2. Marcadores de superficie y antígeno (Tabla VI).
3. Interacción celular y reconocimiento.

4. Marcadores de diferenciación.
5. Regulación del crecimiento celular y oncogénesis.
6. Interacción con factores bioactivos: Toxinas bacterianas, hormonas glicoprotéicas y virus; implicaciones como receptor (Tabla VII).

Con respecto a la función de los gangliósidos; como hemos mencionado anteriormente hasta los años 70 no se habían mencionado a los glúcidos como un grupo con papel decisivo en la expresión funcional de los seres vivos. Especial mención al respecto fué la declaración sobre la importancia de algunos glúcidos que hiciera Nathan Sharon (57) en 1.977, el cual dice: "El comportamiento social de la célula viva que comprende la comunicación intercelular, la regulación del crecimiento y de la / diferenciación, la respuesta inmune y quizás también la aparición de tumores malignos, está mediada principalmente por la / superficie de la célula, y más concretamente por las moléculas de azúcar ramificadas de las que esta tachonada toda la superficie celular".

Gran parte de las funciones de los gangliósidos están relacionadas con su participación en la transmisión del impulso nervioso. Sus efectos estimuladores de la misma estarían causados por su capacidad de fijación de Ca^{++} en sus restos de / ácidos siálicos.

Los polisialogangliósidos, son los gangliósidos más abundantes en las vesículas sinápticas, podrían participar también en la facilitación de la fusión de estas vesículas con la membrana presináptica, debido a sus características biofísicas de interacción lipídica.

Los gangliósidos también podrían participar en la receptora del K^+ (expulsado en la despolarización nerviosa), fijándolo transitoriamente en sus sitios ácidos (de sus ácidos siálicos); este efecto podría ser inhibido por proteínas básicas, que interferirían el mecanismo de fijación iónica (22).

1. Antígenos de grupos sanguíneos.
ABH, Le^a, Le^b, Ii, P-P₁, P^k
2. Antígenos heterófilos p-e.
Forssman, Hanganutziv-Deicher
3. Marcadores de subpoblación linfoide.
GM₁, Gg Os₅ y Cer para la subpoblación celular T, Lcn Os₄
Cer para los desconocidos B > T; Gg Os₄ Cer para NK; Thy-1
gangliósidos.
4. Diferenciación antigénica.
Forssman, Ii, Fg, TerC, SSEA-1
5. Glicolípidos que reaccionan con auto-anticuerpos o Anti-/
cuerpos antiglicolípidos causantes de enfermedad autoinmu
ne.

Ii-activado glicolípido; sialosylparoglobosido, "anglosi-
de experimental" y neuritis; sulfatide y cerebrosido en /
encefalitis experimental; globosido y Forssman en hemoglo
binuria paroxística.
6. Marcadores ó antígenos tumorales de superficie.

TABLA VI. MARCADORES DE SUPERFICIE GLICOLIPIDICOS Y ANTI-
GENOS.

BIOFACTORMAYOR INTERACTUACION. Toxinas bacterianas

Toxinas del cólera

GM₁

Toxinas del tétanos

GT_{1b}, GQ_{1b}

Toxina botulínica

GT_{1b}

Toxina estafilocócica

SPG

Gonococos

GM₁. Hormonas Glicoprotéicas

Tirotropina

GD_{1b}

Gonodotrofina coriónica

GT₁

Hormona Luteinizante

GT₁. Virus SendaiGT_{1a}, GQ_{1b}. Interferon (tipo 1 solo)GM₂, GT₁. FibronectinaFT_{1b}. Linfoquinas

Inhibidor migración de macrófagos

Fucasy1 Gg Os₄ Cer. Opio y morfina

Sulfatide

. SerotoninaGD₃

TABLA VII. INTERACCION DE GLICOLIPIDOS CON BIOFACTORES

Parece ser que están igualmente relacionadas con la actividad de la ATP-asa que transporta K^+ y Na^+ a través de la membrana ya que dicha enzima está rodeada de altas concentraciones de gangliósidos. También participarían en la receptora de neurotransmisores que, una vez liberados a la hendidura sináptica, no se hubieran fijado directamente a su receptor postsináptico.

Siguiendo con estos modelos, los gangliósidos estarían implicados en algunos de los procesos neurofisiológicos que integran la memoria. Para explicar este fenómeno, se ha considerado que hay pequeñas regiones limitadas de sinapsis que se modificarían al objeto de facilitar la liberación de los neurotransmisores. Esta modificación podría estar causada por un aumento en la cantidad de sialoconjugados. La presencia de más complejos Ca^{++} , gangliósidos produciría una liberación mayor y / más rápida del neurotransmisor.

Los gangliósidos también intervienen en la adaptación de especies que viven a bajas temperaturas. Así, se ha observado un aumento de la síntesis de novo de polisialogangliósidos, durante dicha adaptación: cuanto más fría sea la temperatura ambiente, habrá mayor proporción de polisialogangliósidos.

Los gangliósidos participan en la fijación de toxinas. El estudio del mecanismo de acción de la toxina del cólera (colerágeno) y su interacción con el gangliósido GM_1 es de gran importancia, no sólo por corresponder a la mayor parte de los cuadros diarréicos, sino también porque mimetiza el mecanismo fisiológico de interacción de receptores de membrana de naturaleza gangliosídica con distintas hormonas de tipo glicoproteínico.

Varios gangliósidos, inhiben, la hemaglutinación vírica. Se entiende por esto la aglutinación, que experimentan los hematíes en presencia de virus, como el de la gripe. Se cree que tales gangliósidos proporcionarían, un sitio receptor para los virus, que competiría con el sitio receptor, de la superficie celular de naturaleza gangliosídica. Son necesarios receptores, que contengan ácidos siálicos, para que se produzca infección, por algunos virus. Los gangliósidos inducirían, la /

fusión célula-virus y su posterior penetración, después de fijarles en la superficie celular.

Los gangliósidos, están implicados en la regulación del crecimiento celular, y los fenómenos tumorales. Una síntesis incompleta de gangliósidos superiores, podría muy bien estar relacionada con una pérdida de la regulación del crecimiento demostrada en células transformadas. La síntesis de un glicolípido particular, aumenta al establecerse un contacto célula-célula: la llamada "respuesta glicolipídica" se la considera relacionada con la inhibición por contacto del crecimiento celular.

La respuesta glicolipídica y el proceso de inhibición por contacto están basados en una posible interacción entre proteínas similares a los anticuerpos y glicolípidos sensibles al contacto. Cuando dos células confluyen, esas proteínas y esos glicolípidos se enlazarían a través de estructuras complementarias. En las células malignas transformadas, las cadenas glucídicas estarían incompletas; no se formarían, pues estructuras complementarias.

Las cadenas glucídicas, de glicolípidos, podrían actuar de receptores, de un factor sérico de crecimiento. La inhibición del crecimiento, en el contacto celular, podría estar inducida, por el encubrimiento del glicolípido receptor, mediante una proteína complementaria.

El patrón de gangliósidos, en tumores cerebrales difiere del correspondiente al tejido cerebral normal. En tumores se encuentran, menos gangliósidos y se observa una disminución de la proporción relativa de polisialogangliósidos. Los gangliósidos menos polares suelen incrementarse en tumores malignos.

Muchas líneas celulares, que sufren transformación debida a virus oncogénicos, muestran una simplificación en su patrón de gangliósidos. Los niveles de algunos de los más complejos (GD_{1a}), disminuyen, mientras que aumentan el GM_3 . Una acetilgalactosaminiltransferasa requerida para la biosíntesis de los gangliósidos complejos, estaría ausente o a muy bajo nivel. La actividad sialiltransferásica para la formación de disialogan-

gliósidos está disminuida en tumores inducidos en rata. Los / gangliósidos, estarían implicados, en los cambios de la superficie celular, que se dan en la génesis tumoral.

Muchos anticuerpos monoclonales, producidos por hibrido- / mas, obtenidos de ratones inmunizados, con una línea celular / de adenocarcinoma de colón humano, tienen especificidad por tu / mores gastrointestinales humanos, fijándose a dichas células / cancerosas. El antígeno para estos anticuerpos, en la línea / celular usada para la inmunización es un monosialogangliósido con fucosa, que ha sido aislado muy recientemente. Este gan- / gliósido, se ha detectado en adenocarcinomas gástricos y de co / lón, en carcinomas pancreáticos y en el meconio, pero no en te / jidos adultos normales. La presencia de este gangliósido, en el meconio, sugiere que pudiera ser un antígeno embrionario / asociado a tumores. Además, este antígeno, se ha detectado en algunos tejidos embrionarios humanos, pero no en los tejidos / adultos correspondientes (54).

La composición de los gangliósidos, cambia con el desarro / llo, se han propuesto tres grandes períodos. El primero se ca / racteriza por una multiplicación de neuronas y de células glia / les y por un incremento moderado en la concentración de gan- / gliósidos. Predominan GM_1 y GT_1 , y empieza el incremento del GD_{1a} . Este tiempo se extiende hasta la semana 25 del feto hu / mano. Durante el segundo período se asiste al crecimiento de dendritas y axones y al establecimiento de conexiones neurona / les; corresponde al tiempo comprendido, entre la semana 30 del feto humano y el nacimiento. Esta es la primera fase, de rápi / do incremento, de la concentración de gangliósidos. La tasa / de crecimiento del GD_{1a} , es máxima, mientras que la del GT_1 y GM_1 declina. La tercera fase, tiene lugar en el hombre, desde el nacimiento hasta los 8 meses. Se da una extensión ulterior de las conexiones neuronales y empieza la mielinización. En / esta segunda ocasión de aumento rápido de gangliósidos, se lle / ga a estabilizar su patrón, siendo el GD_{1a} el predominante. En / tre los 4 y 30 años de edad, disminuye el porcentaje de GD_{1a} y aumenta el de GD_{1b} y GT_1 . La proporción relativa de GM_1 , GD_{1a} , GD_{1b} y GT_1 no sufre ningún cambio significativo, entre los 30 y los 70 años. Se considera que hay dos fases de acumulación rápida de gangliósidos: un período en el que se multiplican /

las neuronas y una segunda fase en la que se establecen conexiones intersinápticas. No obstante, el cambio en la concentración relativa, de cada tipo de gangliósidos a lo largo de la vida depende del área del cerebro estudiado y de la especie (22).

La malnutrición durante las fases del desarrollo temprano del individuo retarda la mielinización y el depósito de gangliósidos. La malnutrición, incrementa la densidad del empaquetamiento celular y desorganiza la citoarquitectura de la corteza, efecto que es permanente. El pico normal de concentración de gangliósidos, es menor y se retrasa varios días en esas condiciones. El retraso en la acumulación de gangliósidos parece estar relacionado con una disminución de la proliferación de fibras axodendríticas y con una maduración de la conducta retrasada.

El tratamiento con gangliósidos, favorece en gran medida los procesos de regeneración y reinervación de fibras nerviosas. Al administrar gangliósidos, se ha observado *in vitro*, un aumento del alargamiento axonal. Los gangliósidos, podrían funcionar como moléculasceptoras de sustancias, que promuevan el crecimiento en neuronas embrionarias. Después de su incorporación, podrían inducir modificaciones de membrana, directa o indirectamente, lo que haría que un sitio determinado se hiciera susceptible para la formación de una nueva ramificación neuronal.

El tratamiento con gangliósidos, ha demostrado ser efectivo, igualmente en síndromes de trastornos mentales, mejorándose el rendimiento de los pacientes en test neuropsicológicos. Con respecto a la diabetes, una de sus complicaciones más relevantes es la neuropatía que afecta a los sistemas motor sensorial y autónomo. El tratamiento con gangliósidos permite la recuperación del tamaño axonal normal y potencia la velocidad máxima de conducción nerviosa.

III. BETA-2-MICROGLOBULINA COMO MARCADOR TUMORAL.

Los estudios iniciales de las proteínas contenidas en el plasma sanguíneo se remontan hacia la mitad del pasado siglo. En esta época se denominó como albúmina a la fracción protéica del plasma, dada su similitud física con la proteína contenida en la clara de huevo. Pero hacia 1.850 se obtuvo por primera vez la separación en dos grupos de las proteínas contenidas en el plasma utilizando criterios de solubilidad y precipitación, mediante la acidificación del plasma con ácidos débiles: a uno de éstos grupos se le siguió denominando albúmina y al otro / grupo, por creerse que estas proteínas se originaban en los / glóbulos de la sangre, se le asignó el nombre de globulinas.

Esta primera diferenciación abrió una época de estudio / en la que, siguiendo los métodos de fraccionamiento protéico por diferencias de solubilidad, se ensayaron los efectos precipitantes de diversas sales neutras al ser añadidas al medio / que contenía las proteínas plasmáticas y así Kauder en 1.886 / (58), consiguió mediante la adición de sulfato amónico un criterio definido de las proteínas plasmáticas: las proteínas -/ plasmáticas que precipitaban al 50% de saturación con sulfato amónico eran las globulinas, mientras que la albúmina precipitaba casi a saturación completa. Estos descubrimientos significaron el inicio de las diversas técnicas de fraccionamiento salino, cuyos criterios para la clasificación de las proteínas / plasmáticas y su significación clinicopatológicas estuvieron / ampliamente extendidas hasta el primer tercio del siglo XX.

A pesar de haberse llegado a un gran perfeccionamiento / en las técnicas anteriormente citadas, fué un paso decisivo el descubrimiento realizado por Tiselius en 1.937 (59). Este autor encontró que las proteínas plasmáticas situadas bajo la acción de un campo eléctrico y con determinadas características del medio acuoso que contenía las proteínas (pH, conductividad eléctrica, fuerza iónica, etc.), éstas mostraban una distinta velocidad de desplazamiento, de tal manera que en un principio le fué posible separar cuatro grupos distintos de proteínas / que denominó ordenadas de mayor a menor velocidad de desplazamiento hacia el polo positivo: albúmina, α -globulina y β -globulina.

Esta técnica, denominada electroforesis libre, fué el descubrimiento fundamental en el desarrollo de posteriores métodos de investigación se intentó aplicar de forma práctica al estudio de ciertas enfermedades en las que el contenido del plasma estaba modificado, desarrollándose nuevos procedimientos para simplificar el desplazamiento electroforético. La electroforesis de zona fué el paso siguiente. Con esta técnica se separan más fracciones, utilizando acetato de celulosa, almidón, gel de agar ó de agarosa, poliacrilamina, como soportes para realizar el desplazamiento. La electroforesis sobre acetato de celulosa permite separar algunas fracciones más, y así en el suero y ordenadas de mayor a menor velocidad hacia el ánodo observamos: albúmina, globulina α_1 , globulina α_2 , globulina β_1 , globulina β_2 y globulina γ . En plasma obtenemos la separación del fibrinógeno entre β y γ .

Mucho más recientemente en 1.953 Grabar y Williams pusieron a punto una técnica que denominaron análisis inmunolectroforético, la cual combina la separación electroforética clásica (primer paso) enfrentando posteriormente las proteínas separadas con antisuero preparado frente a las proteínas plasmáticas.

Esta técnica permitió visualizar 22 proteínas diferentes como constituyentes de las proteínas séricas, y puso en evidencia la heterogeneidad de las fracciones globulínicas; es decir, que cada uno de los grupos de globulinas obtenidas por electroforesis estaba constituido por varias proteínas con características morfológicas y funcionales distintas, aunque presentasen una misma o parecida (puntos isoeléctricos iguales) movilidad en el desarrollo electroforético (58).

A partir de la inmunolectroforesis, otras técnicas han permitido detectar y conocer otras proteínas constituyentes del suero. Algunas de ellas se han realizado desarrollando los principios básicos de la inmunolectroforesis, tal como la inmunolectroforesis bidimensional, o bien técnicas inmunológicas que permiten la cuantificación precisa de las proteínas plasmáticas (electroinmunodifusión, inmunodifusión radial, nefelometría, etc...). Otra técnica puesta al servicio del estudio de las proteínas plasmáticas ha sido la ultracentrifugación analítica, utilizada principalmente para determinar los

distintos pesos moleculares de las proteínas.

Los resultados obtenidos hasta el momento mediante las técnicas antes mencionadas, han permitido establecer las características físicas, químicas, genéticas y biológicas de un gran número de proteínas constituyentes de las fracciones de globulinas.

En esta introducción hemos querido reflejar como se han ido descubriendo las distintas fracciones de las proteínas plasmáticas. Ya que desde ahora vamos a limitarnos a estudiar en profundidad a una de ellas: La Beta-2-microglobulina.

III-1. Introducción al estudio de la Beta-2-microglobulina.

La principal diferencia entre proteinuria glomerular y tubular estriba en el tamaño de las proteínas excretadas, la presencia en la orina de elevadas cantidades de proteínas de bajo peso molecular es un aspecto característico de la proteinuria tubular. Este hecho sugirió a Berggard y Bearn (60) que la orina de pacientes con tubulopatías podría ser una fuente satisfactoria para aislar alguna pequeña proteína que estuviera presente en bajas concentraciones en el plasma y que fuese rápida y fácilmente filtrada por el glomérulo. De esta forma y a partir de orinas de pacientes con enfermedad de Wilson, intoxicación crónica de cadmio y con diversas tubulopatías congénitas, aislaron una proteína que se conoce con el nombre de Beta-2-microglobulina (B2M).

Esta proteína posee un peso molecular de 11.815 daltons por su movilidad electroforética se clasificó entre las Beta-globulinas y por su pequeño tamaño se denominó Beta-2-microglobulina.

Estudios biológicos e inmunológicos han revelado la estrecha similitud entre la Beta-2-microglobulina y ciertas regiones de las partes constantes de las cadenas pesadas y ligeras de las inmunoglobulinas (61), también se han comprobado que la Beta-2-microglobulina forma parte de los antígenos de histocompatibilidad (62). Sus aplicaciones clínicas residen

en su peculiar metabolismo y propiedades, siendo útil para el diagnóstico de la insuficiencia renal, localización de las infecciones urinarias, control de los trasplantes renales, como índice de maduración fetal, etc.... Diversos estudios realizados "in vitro" han demostrado que algunas líneas celulares tumorales son capaces de sintetizar y secretar al medio de cultivo grandes cantidades de B2m, superiores a las liberadas por células normales, variando la cuantía de la producción según el tipo de tumor (63). Tras el análisis de diversos estudios (64, 65), sigue siendo motivo de controversia el significado de la B2m sérica entre los pacientes neoplásicos.

Esta microproteína se ha detectado en la membrana de casi todas las células, excepto en los eritrocitos y células trofoblásticas. Está presente en la mayoría de los líquidos orgánicos, especialmente suero, orina, líquido cefalorraquídeo, amniótico, pleural, sinovial, así como en la saliva y calostro (67, 68).

III-2. Estructura y características físico-químicas de la Beta-2-microglobulina.

La primera noción de que la Beta-2-microglobulina podía ser una importante proteína, llegó por los estudios de Smithies y Poulik (69), los cuales establecieron, la secuencia de los primeros 44 aminoácidos de B2m, y hallaron una similitud con la secuencia de aminoácidos de las cadenas pesadas de inmunoglobulinas IgG.

Peterson (70) y Cunningham (71), establecieron la secuencia completa de los aminoácidos de la B2m humana, esta microproteína está constituida por una sola cadena polipeptídica de 100 aminoácidos, en la que dos cisteínas, en posiciones 25 y 81 forman un puente disulfuro intracadena que le confiere a la molécula su peculiar forma esférica (Figura 9).

Su peso molecular, como hemos mencionado anteriormente es de 11.815 daltons; su coeficiente de sedimentación es de 1,65, su radio molecular de 15A, punto isoeléctrico 5,4-5,7 (humano), coeficiente de difusión $13,3 \times 10^{-7} \text{ cm}^2 / \text{sec}$, conte-

nido en nitrógeno 16,3%, no contiene grupos libres sulfidrilo ni carbohidrato, NH_2 terminal: Ile (humanos y ratas) y val / (perros y conejos).

Los grupos de trabajos de Peterson y Cunnighan corroboraron las notas de Smithies y Poulik acerca de la similitud / de la B2m con las cadenas ligeras y pesadas de las inmunoglobulinas y establecieron que el mayor grado de similitud existe con la región de C_γ^3 de las inmunoglobulinas IgG, y también / con CH_1 y CH_2 que al igual que CH_3 tienen restos de 100-110 aminoácidos. De los estudios de Peterson y cols. (70), se / desprende que el proceso evolutivo, la B2m y las inmunoglobulinas, descienden de una fuente común.

Se ha sugerido que la B2m puede tener cierta función inmunológica, si bien su exacto papel no es conocido. A pesar de la similitud estructural no existe reacción cruzada entre B2m e inmunoglobulinas mediante el análisis inmunoquímico / efectuado con la ayuda de numerosos antisueros (72).

El interés por el estudio de las membranas celulares se ha acrecentado a partir de recientes observaciones que han establecido una íntima unión entre los constituyentes de las / membranas y los sistemas inmunológicos y de histocompatibilidad (73).

Peterson y cols. (74) demostraron que la B2m es parte / del complejo antigénico HLA de histocompatibilidad mayor unido a la célula y responsable en gran parte del rechazo imnológico de órganos transplantados entre huéspedes genéticamente no relacionados. La B2m está unida mediante un enlace no covalente con las subunidades mayores de los antígenos HLA / (75). Además de la B2m asociada a los antígenos de histocompatibilidad algunas moléculas de la misma parecen estar pre- / sentes en la superficie de los linfocitos en forma libre (76). La orina de enfermos con proteinuria tubular es una fuente importante de antígenos HLA y B2m libre. Se ha sugerido una / asociación funcional entre HLA y B2m, aunque el papel de la / última permanece desconocido.

III-3. Síntesis y catabolismo de la Beta-2-microglobulina.

La beta-2-microglobulina es sintetizada y secretada por los linfocitos T y B, así como por tejido linfoide tumoral y no tumoral (77). Aunque en menor cantidad, la B2m es también sintetizada y secretada por todas las células nucleadas circulan-tes así como por células mesenquimatosas y epiteliales, incluidas las tumorales, en cuya superficie está también presente. La producción de B2m por las células neoplásicas en cultivo, globalmente aumenta en relación con las células normales, y es muy variable de un tumor a otro (78).

Estudios llevados a cabo en humanos utilizando beta-2-microglobulina marcada con I^{125} han demostrado que la proporción de síntesis de B2m es aproximadamente de 120 $\mu\text{g}/\text{Kg}/\text{h}$ / (79).

La vida media de la B2m si bien no precisada, se calcula que es corta, al igual que la de otras proteínas plasmáticas pequeñas (60). Algunos autores han cifrado la vida media de esta proteína entre menos de 60 minutos (80) y 107 minutos (81). La beta-2-microglobulina circula de forma libre y monomérica por el plasma en un 95%, estando el 5% restante unido a otras proteínas.

La síntesis de B2m puede demostrarse por incubación de linfocitos en un cultivo con leucina tritiada y precipitando radiactivamente a partir del medio de cultivo por anticuerpos directamente contra la B2m. A partir de las 96 horas, ocurre una progresiva síntesis y secreción dentro del medio de B2m / (82). Como ya demostraron Bernier y Fanger (83), los linfocitos estimulados con fitohemaglutinina (PHA) marcada, aumentan la cantidad de B2m sintetizada. Hütheroth y cols. (84), estudiaron la producción de B2m y gammaglobulina en cultivos de tejidos linfoides. Usando técnicas de inmunodifusión radial, este grupo, demostró que las proteínas eran secretadas independientemente. La producción de B2m, fué bastante uniforme, variando de 0,22 a 0,72 $\mu\text{gr}/\text{ml}$ de B2m (sintetizada por 10^6 células en 24 horas). La línea celular más activa sintetizaba 21 moléculas de B2m por célula por segundo. Otros autores /

(85,86), han estudiado una gran cantidad de cultivos celulares de diversos orígenes y demostraron que todos ellos producían B2m; sintetizando grandes cantidades de ésta, los tejidos tumorales (carcinomas). Una sola excepción ocurría en las líneas celulares de linfocitos derivados de pacientes con linfoma de Hodgkin's, las cuales segregaban menos B2m que las líneas celulares normales de origen hematopoyético. Las 27 / líneas celulares segregaban de 38 a 550 μ gr de B2m por 5×10^5 células por 65 horas. Estos autores hallaron también líneas celulares que no producían B2m. La RPMI-8226 derivada originalmente de la sangre de pacientes con mieloma y la línea Dandi, que procedía de tejidos tumorales de un paciente / con linfoma de Burkit. Se demostró que todas las líneas linfoblásticas de alta producción portaban el virus de Empstein-Barr o su genoma.

La producción simultánea de gammaglobulina y B2m fué / también estudiada por Nilson, Evrin y Welsh (85). Ellos no / hallaron correlación entre la capacidad de segregar B2m e inmunoglobulinas, corroborando los resultados de Hütteroth y / cols(84). Los resultados de ambos grupos sugiere que los genes responsables de la producción de B2m e inmunoglobulinas / están bajo mecanismos reguladores distintos. La localización cromosómica de los genes de gammaglobulina es desconocida. Recientemente ha sido establecida la localización de la B2m, parece estar en el cromosoma 15 (87). Poulik y Bloom (88), estudiaron el sobrenadante de los cultivos de líneas celulares linfoblásticas, y aislaron y caracterizaron la B2m vertida en el sobrenadante. La B2m aislada tenía el mismo peso molecular y las mismas propiedades electroforéticas e inmunológicas que la B2m aislada a partir de la orina. La B2m obtenida por digestión de células linfocíticas de membrana por papaina, / filtración de gel y cromatografía de cambio-iónico demostró / también ser idéntica que la B2m de la orina por métodos inmunológicos y por la determinación de la secuencia de los primeros 24 aminoácidos (89).

Algunos autores como Poulik y Matwani (90), y Peterson y cols. (70), demostraron que la B2m está presente en la membrana de los linfocitos utilizando diferentes métodos. Ade-

más Poulik (91) demostró que la B2m estaba presente también / en otras células, plaquetas y en células procedentes de una / gran variedad de tumores.

Fanger y Bernier (92), pensaron que el número de moléculas de B2m en las células de membrana (células B y células T) podrían ser diferenciadas por inmunofluorescencia.

En un estudio sobre la síntesis de B2m (85) se demostró que esta sustancia estaba presente y/o era secretada por células de origen diferente y tales células contenían núcleo. En las células sanguíneas maduras humanas no se halló esta sustancia utilizándose para ello fluoresceína marcada con anti-suero anti-B2m. Evrin y Pertoft (93) quisieron demostrar esto y para ello rompieron células sanguíneas, plaquetas, polimorfonucleares y linfocitos, con detergentes, urea, ácidos, / etc., y determinaron mediante radioinmunoensayo el número de moléculas de B2m de las superficies de éstas células. Las / plaquetas, células mononucleares y los polimorfonucleares con tenían 0.22×10^5 , $3,7 \times 10^5$ y $0,49 \times 10^5$ moléculas de B2m / por célula respectivamente. Los receptores de superficie de las células pueden también calcularse por análisis de la proteína A, con I^{125} marcado, de los estafilococos, tal como lo afirman Derval, Welsh y Wigzell (94). Cuando este método se aplicó para estudiar los receptores de B2m, la información -/ más interesante que se obtuvo fué que la línea celular 61M tenía la mayor proporción de secreción y la menor densidad de / B2m en esta superficie. Entre las líneas celulares estudiadas se hallaron grandes diferencias, y en consecuencia, los / autores decidieron correlacionar la densidad de la superficie de B2m con el área de la superficie celular. Tomando en consideración las inherentes dificultades de tales mediciones, / el consenso final de los autores fué que la mayoría de las líneas celulares manifiestan una densidad prácticamente igual / de B2m con la posible excepción de las líneas celulares de células linfoblásticas y linfoblastos estimulados con fitohemaglutinina. Usando los métodos de fluorescencia cuantitativa. Nilsson, Evrin y Welsh (85), fueron incapaces de confirmar / los resultados de Fanger y Bernier (92), en particular que la B2m en su mayoría esta presente en las células T que en las /

células B desmintiendo la posibilidad de que la B2m podía ser un marcador para las células T. A partir de estos estudios, parecía que las moléculas de B2m que estaban en la superficie de cada linfocito obtenido de sangre periférica era de $3,7$ a $7,4 \times 10^5$. Sin embargo este número fué modificado por Plesner (95) el cual aisla la B2m libre y unida, y estimó que las moléculas de B2m eran alrededor de $5,2 \times 10^5$ por linfocitos.

La presencia de B2m también se ha encontrado en el esperma humano por Fellous, Colle y Tonelle (96) y en una gran variedad de tejidos por autores como Governa y Biguzzi (97). Estos autores, utilizando métodos de fluorescencia indirecta y fijando secciones de tejido en acetona a 4° C. hallaron una fuerte fluorescencia en ganglios linfáticos, bazo y agmídalas palatinas. En tejidos de estómago, intestino delgado y apéndice, mostraban una reacción positiva solo en el epitelio -/columnar y en las glándulas tubulares endometriales del útero. Se obtuvieron resultados negativos con el riñon, vejiga urinaria, glándula prostática, hígado, pulmón, tiroides, músculo /esquelético y miocardio. Estos autores admiten que estos resultados negativos no excluyen necesariamente la presencia de B2m en estos tejidos. No obstante, los resultados de Governa y Biguzzi indican que las células derivadas del mesenquima embrionario son especialmente ricas en B2m y probablemente en /antígenos de histocompatibilidad.

Está claro que para el linfocito la B2m es una proteína de alguna importancia. El grupo de Poulik (98) entre otros, encontró que la B2m estaba íntimamente asociada con el complejo HLA en la superficie de los linfocitos. Sus estudios sugerían que la B2m era la porción constante del complejo HLA y /existían complejos para los antígenos HLA específicos en la /superficie de los linfocitos. En otros estudios se sugiere /que había algunas moléculas de B2m en la superficie de los /linfocitos, los cuales no estaban asociados con los antígenos HLA. La unión de la B2m al antígeno HLA es no covalente y la prueba fundamental de la independencia de estas dos proteínas es que son productos de diferentes cromosomas.

Muchas pruebas se han acumulado indicando que los riño-

nes juegan un importante papel en el catabolismo de gran variedad de proteínas plasmáticas. Las proteínas plasmáticas que aparecen en la orina son el resultado de la combinación de procesos de filtración glomerular seguido de reabsorción tubular. Una pequeña proporción de las proteínas plasmáticas de la orina pueden ser derivadas a otros segmentos del tracto urogenital. Ya que la ultrafiltración es selectiva en el glomérulo: el filtrado glomerular en gran parte consiste en el paso de moléculas de un bajo peso molecular menor de 70.000. Menos del 1% de la fracción de la albúmina presentados en el glomérulo está presente en el filtrado glomerular, mientras que las proteínas de bajo peso molecular, tales como B2m, tienen una tasa de la fracción de filtración del 80 al 90% respecto a creatinina, que es filtrada libremente a través del glomérulo. Así, la mayor proporción de moléculas del filtrado glomerular consisten en proteínas de bajo peso molecular. Sin embargo, cuando se examina, solo una insignificante proporción de las proteínas de bajo peso molecular aparece en la orina, indicando que la reabsorción tubular de esas proteínas a partir de la filtración glomerular tiene lugar primariamente en el túbulo contorneado proximal y en una pequeña cantidad en el tubo contorneado distal. La excreción de proteína por el túbulo parece ser no selectiva, ya que la reabsorción es más completa para las proteínas de muy bajo peso molecular que para la albúmina (99). La excreción luminal de proteínas y la reabsorción parece ocurrir por un proceso de endocitosis. Las vacuolas endocíticas subsiguientemente se funden con los lisosomas preexistentes induciendo a la rotura enzimática y catabolismo de la reabsorción de proteínas. No hay evidencia para sugerir que la absorción de proteínas incorporadas por los lisosomas podían ser transportadas transcelularmente dentro del espacio peritubular. Sin embargo, algunas proteínas pueden difundir de una forma retrógrada en un estado inalterado a través de la membrana basal tubular dentro del espacio intracelular.

Es evidente que las proteínas urinarias se encuentran en las enfermedades de los túbulos renales, esto sería absolutamente diferentes si aquellas se excretaran cuando los glomérulos están dañados. El principal rasgo que las diferencia es /

el tamaño de las proteínas excretadas. Como se esperaba, la orina de pacientes con desórdenes tubulares contienen proteínas de bajo peso molecular mientras que la orina de pacientes con desórdenes glomerulares contenían una fracción significativa de proteínas de alto peso molecular tales como la albúmina. Estas observaciones sirvieron como base para el aislamiento inicial de B2m a partir de la orina de pacientes con enfermedad de Wilson's, intoxicación por cadmio, enfermedades asociadas con disfunción tubular y proteinuria tubular. Además, al principio, determinados estudios indicaban que por la medición de la excreción de proteínas totales, albúmina y B2m en la orina de 24 horas de varias muestras, permitía distinguir la disfunción glomerular de la tubular, estos parámetros podrían demostrar la utilidad clínica.

El interés en el uso de la excreción de B2m como un indicador del grado y naturaleza de la disfunción renal alimentaran cuando los niveles de B2m en la circulación y en orina podían ser bien determinados por RIA sin los engorrosos procedimientos de concentración de las muestras de suero y orina. Además, los métodos de RIA para la determinación de B2m ahora son comercialmente muy eficaces.

Basado en el conocimiento común del manejo de las mediciones de B2m en sujetos sanos se midieron los niveles de esta proteína en suero y orina y se obtuvieron los siguientes resultados. En individuos normales, la B2m en suero, no mostró variaciones significativas entre los sexos y tiende a aumentar lentamente con la edad. Para todos los individuos se halló un rango de 0,9 a 3,0 $\mu\text{gr/ml}$ en suero y una media de $1.6 \pm 0,35$ $\mu\text{gr/ml}$ ($\bar{X} \pm \text{SD}$). La media de la excreción urinaria \pm la desviación típica (SD) es de 75 ± 52 μgr en los hombres y 78 ± 59 μgr en mujeres, según se desprende de los estudios realizados por diversos autores (100,101). Los niveles de B2m en fluidos seminales puede alcanzar los niveles de 200 a 400 $\mu\text{gr/ml}$. Cuando hay una reducción en el funcionamiento glomerular la anomalía característica es un ascenso de los niveles de B2m en el suero, los cuales pueden elevarse según la magnitud del fracaso renal cuando es extenso. Aunque estos cambios son paralelos a los niveles de creatinina en suero de B2m, parece ser un indicador más sensible de empeoramiento de la filtración glome

regular (102). Sin embargo, no hay datos disponibles pertenecientes a la excreción urinaria en 24 horas de estas moléculas en alteraciones glomerulares ni sobre una amplia clase de proteínas o sobre amplias variaciones en la filtración glomerular. En la enfermedad tubular primaria, se esperaba que los niveles en suero de B2m permanecieran inalterables, mientras que las anormalidades primarias sería un aumento en la excreción urinaria de B2m. En una enfermedad con alteraciones a nivel tubular y glomerular, dependiendo de la extensión de la alteración glomerular, los niveles en suero y la excreción de B2m debería estar elevada. Ya que la tasa de filtración glomerular parece ser el parámetro más significativo en el catabolismo de B2m, grandes reducciones en la tasa del filtrado glomerular puede enmascarar la disfunción concomitante del túbulo proximal, ya que reduciría la presencia de B2m en el túbulo proximal. Para evitar los problemas que resultan de la incompleta recolección de orina, puede emplearse la relación de B2m en comparación con la excreción de creatinina para expresar los datos de la orina, ya que ésta es relativamente constante en los individuos normales y no se afecta significativamente por los cambios en la tasa de la filtración glomerular.

Mientras estas observaciones son válidas probablemente en muchas situaciones clínicas con anormalidades en la función renal, en muchas situaciones complejas clínicas que involucran alteraciones en otros órganos ó enfermedades asociadas que puedan empeorar la función renal, las anteriores conclusiones puede no ser válidas. Por ejemplo, en gran variedad de enfermedades neoplásicas e inflamatorias y en traumatismos, la filtración glomerular medida por la creatinina en suero puede ser normal, además los niveles en suero de B2m están elevados. En estas situaciones la elevación de B2m probablemente representa un incremento del turnover de la membrana celular y consecuentemente; turnover HLA como resultado de la destrucción de tejido y regeneración celular.

Del incremento del turnover resultaría un aumento de la fracción de filtración de la B2m. El aumento resultante de la B2m presenta una sobrecarga para el túbulo proximal que puede reflejarse en un aumento de B2m en la excreción de orina. Por

ejemplo, tras un trauma quirúrgico o accidental, el aumento de excreción de B₂m puede parecerse a la observada cuando existe disfunción en el túbulo proximal por la intoxicación por cadmio (103).

Las mediciones en suero y orina de B₂m para ver las funciones glomerular y tubular son esperanzadoras, la utilidad de los datos del aclaramiento, excreción de B₂m en una gran variedad de situaciones clínicas y en otras enfermedades con enfermedad primaria renal son insuficientes para establecer firmemente los valores y limitaciones de tales mediciones. Puede ser necesario medir la B₂m en asociación con otros parámetros para obtener una mejor información. Por ejemplo, la medición cuantitativa en la orina, de un constituyente citoplasmático de un túbulo proximal tales como la ligandina en unión a la B₂m puede servir como un indicador del grado de disfunción y/o necrosis tubular.

Podemos hacer un resumen después de haber mencionado todos estos estudios sobre el catabolismo de la B₂m diciendo: El paso de la B₂m a la orina depende de un fracaso en la reabsorción o de un aumento de su concentración sérica por encima de la capacidad de reabsorción ya que se trata de un proceso saturable.

En ausencia de insuficiencia renal la dosificación de la B₂m en la orina es en la actualidad el método más sensible para poner en evidencia una perturbación del túbulo proximal y es particularmente interesante para la detección precoz de las intoxicaciones por metales, de la nefropatía endémica de los Balcanes y de la nefrotoxicidad medicamentosa, entre otros procesos (60,104). El aumento de la B₂m puede observarse en ausencia detectable por los métodos corrientes, su interpretación debe, sin embargo, tener en cuenta que toda elevación sérica por insuficiencia renal se acompaña de un aumento en la excreción urinaria y por lo tanto la concentración urinaria de la B₂m no debe ser utilizada para el diagnóstico de desórdenes tubulares en pacientes con un filtrado glomerular descendido. Se ha comprobado también que tras traumatismos quirúrgicos, quemaduras extensas y con la infusión masiva de aminoácidos se

excretan elevadas cantidades de esta proteína en orina (105).

Después del trasplante renal los niveles séricos de la B2m, previamente elevados, descienden rápidamente hacia la normalidad, mientras que grandes cantidades de la misma se excretan por la orina. Incluso si la diuresis no reaparece tras el trasplante, los niveles séricos disminuyen significativamente, lo cual se considera como un índice favorable de viabilidad del injerto. Aunque no de forma obligatoria, las crisis agudas de rechazo van a menudo precedidas de un aumento considerable y transitorio de la excreción de la B2m por la orina. Este signo figura entre los más precoces y su búsqueda parece más interesante que la dosificación sérica de la B2m cuyas variaciones reflejan especialmente las de filtrado glomerular.

Recientemente se ha señalado la posible utilidad de la dosificación de la B2m en la orina para diferenciar las infecciones urinarias altas de las bajas (106).

Se ignoran los procesos fisiológicos que regulan la producción y liberación de la B2m en el medio extracelular, tampoco se conocen sus alteraciones patológicas, pero sobre la base de su amplia distribución y conducta biológica no es sorprendente que sus niveles séricos estén aumentados en el curso de procesos con elevado recambio celular como ocurre con diversas neoplasias, enfermedades inflamatorias y procesos autoinmunes.

III-4. Interacciones de la B2m en el organismo.

Aunque las funciones específicas de la B2m permanecen inciertas, se ha sugerido que la B2m puede jugar un importante papel en algunas circunstancias en el organismo humano por su participación p.e. en el sistema inmune, asociación con los receptores de membrana, actividad quimiotáctica de los linfocitos, en procesos tumorales....

. Asociación de B2m con antígenos de histocompatibilidad.

El hallazgo de que la B2m está presente en la superficie de todas las células nucleadas, dió lugar a una nueva / línea de investigación en particular si la B2m estaba unida a otros componentes de membrana. Casi simultáneamente, tres la / boratorios (74,98,107), demostraron que la B2m y los antígenos de histocompatibilidad están químicamente unidos. La pri / mera indicación de la asociación entre B2m y HLA fué hecha / por Nakamuro, Tanigaki y Pressman (107). Estos autores aisla / ron un fragmento de peso molecular de 11.000 daltons a partir de un medio de cultivo de una línea celular de linfocitos hu / manos (RPHI-1780) y hallaron que la composición de aminoáci / dos de este fragmento era prácticamente igual que la de B2m. La purificación de este fragmento se hizo con un antisuero / que detectaba la actividad común HLA sobre una porción ó frag / mento común HLA. Estos últimos fragmentos obtuvieron HLA an / tígenos a partir de derivados de papaina por disociación y / filtración gel. Este fragmento tenía un tamaño molecular di / ferente a la B2m y fué detectada con un antisuero específico HLA. Además, el antisuero que detectó la actividad común HLA identificaba la B2m unida a la molécula HLA. Independiente / mente, Peterson, Rask y Lindblom (74) demostraron que los an / tígenos HLA derivados del bazo por digestión de papaina conte / nían B2m. Los complejos HLA-B2m se aislaron por cromatogra / fía de cambio iónico con carboximetil celulosa y filtración / de gel. Los dos mayores picos aparecieron después de la fil / tración de gel, uno de 40.000 a 50.000 daltons y el otro de / 12.000 daltons. Peterson demostró que la pieza de 12.000 dal / tons era B2m unida con el antígeno HLA. Los complejos inmu / nes preparados con antisuero específico HLA por precipitación indirecta y después sometidos a electroforesis con sodio duo / decil sulfato policrilamida dió como resultado la identifica / ción de 2 picos protéicos uno de 33.000 daltons y otro de / 12.000 daltons. Fué fácil demostrar que la proteína de 12.000 daltons era la B2m, la conclusión principal es que la molécula de HLA está compuesta por dos cadenas polipeptídicas, la / cadena más pesada (33.000 daltons) es el soporte de los deter

minantes de HLA y una cadena ligera (12.000 daltons) que era la B2m. Estas dos cadenas están unidas por enlaces monovalentes. Además Peterson, Rask y Lindblom (74) sustituyeron el derivado B2m del HLA por la B2m de orina reconstituyendo una molécula totalmente activa.

Grey cols. (98), también realizaron investigaciones sobre esto. Estos aislaron linfocitos y los marcaron con I^{125} en presencia de lacto-peroxidasas y los rompieron con detergentes no iónicos. Un suero específico anti B2m se añadió al lisado y los precipitantes que se obtuvieron fueron reducidos y alquilados sujetos a una electroforesis con gel poliacrilamida en duodecil sulfato sódico. El gel fué trazado en secciones y se media la radiactividad en cada sección de gel. Se detectaron dos picos uno de 45.000 daltons y otro de 12.000 daltons. Como los antisueros usados eran específicos para la B2m la proteína de peso molecular más alto fué atribuida a la cadena HLA y la más ligera a la B2m. Estos trabajos originales posteriormente fueron elaborados de forma más específica, marcando líneas celulares linfocíticas con manosa H_3 y aminoácido- C_{14} . Las células usadas fueron del tipo HLA, 2,7, 12 y tratadas entonces con papaina. Las moléculas HLA fueron aisladas por filtración con gel y posterior precipitación directa de éstos antígenos con antisueros específicos B2m y anti-suero anti-HLA se obtuvieron complejos inmunes que podían ser descompuestos en dos componentes por electroforesis en gel de poliacrilamida duodecil sulfato sódico. Los pesos moleculares de estos dos componentes fueron respectivamente 34.000 y 11.000. Las discrepancias entre los pesos moleculares de las moléculas HLA derivadas de papaina y detergentes fueron finalmente explicadas. Durante la digestión con papaina, una porción hidrofóbica así como una porción de la molécula HLA se extiende hacia el interior de la célula, permaneciendo unido a la membrana celular, disminuyendo el peso molecular del complejo HLA-B2m (108). Las moléculas HLA aisladas por el detergente son completamente excindidas a partir de la bicapa lipídica de la membrana, consecuentemente, el complejo HLA-B2m entero tiene un peso molecular de 57.000 daltons.

La demostración de la estructura polipeptídica de anti-

geno HLA a nivel inmunoquímico no prueba suficientemente que la misma organización molecular también existía en membranas celulares intactas. Por consiguiente, los experimentos se hicieron, usando anticuerpos apropiados para demostrar la asociación del complejo HLA-B2m en la membrana celular. Hoy, la membrana celular se considera como un mar de lípidos en los que los componentes protéicos de membrana están suspendidos. Los diferentes componentes pueden ser trasladados de una localización a otro por ciertos ligantes. Los anticuerpos específicos son los más comúnmente usado para tales propósitos. También existen en el estado natural de la membrana celular, enlaces químicos no covalentes entre las cadenas polipéptidicas HLA y B2m, el antisuero contra HLA y B2m (usado independientemente movería el complejo molecular completo. Este fenómeno se llamó de "Co-cubierta" y fué descrito por Taylor y cols. (109) para inmunoglobulinas de la superficie de linfocitos y por Bernoco y cols. (110) para el HLA, así como muchos otros investigadores. Usando sueros específicos anti HLA y anti-B2m, Poulik y cols. (111), demostraron que el HLA y la B2m hacia de co-cubierta, y de este modo, el complejo HLA-B2m existía en las membranas intactas de los linfocitos. Estos experimentos fueron ampliamente corroborados usando una técnica similar por varios autores (112,113). Ellos también demostraron el exceso de B2m que existe en las membranas de los linfocitos; no obstante, no se demostró si el exceso de B2m representa B2m libre o B2m unida a otros componentes de membrana. Cuando se disponga de antisueros específicos en el futuro, esta pregunta, podrá responderse.

. Asociación de B2m con otras proteínas de membrana ó receptores.

En un principio se detectó la asociación de B2m con otras proteínas de membrana o receptores por métodos indirectos como por ejemplo: por bloqueo con anticuerpos anti B2m. Bach y cols. (114) demostraron un descenso de la reacción en cultivos mixtos de linfocitos (MLC) cuando añadían antisuero anti-B2m a la mezcla de células halogénicas. Otros autores inhibieron la reacción de leucocitos (MLR) con fragmentos Fab

de anticuerpos anti-B2m. En este experimento, las células / que respondían eran inhibidas mientras que las células estimu- / ladas no lo fueron. Además, se estudió el efecto de los anti- / cuerpos anti B2m en células mediadoras de citotoxicidad. Las / células T efectoras generadas en la reacción de linfolisis / (CML) no hizo perder la capacidad para reconocer y destruir / las células dianas antologas por la sensibilización celular. / Los resultados no fueron definidos tan bien como ellos podían / hacerlos por la interferencia de los anticuerpos dependientes / de las células mediadoras de citotoxicidad. Sin embargo es- / tos experimentos sugieren que los receptores necesarios para / funcionar en MLC, MLR y CML pueden también estar íntimamente / unidos con la B2m ó la B2m puede estar presente en estrecha / proximidad a estos receptores (115).

Bach y cols. (114) bloquearon la estimulación de fi- / tohemaglutinina con una cierta concentración de anticuerpos / anti B2m; no obstante a concentraciones más bajas de tales an- / ticuerpos, se demostró que tenían un efecto estimulatorio. Es / te fenómeno fué explorado y elaborado en detalle por algunos / autores (116,117). La importancia de estos experimentos se / basa en el descubrimiento de que los anticuerpos anti B2m son / mitogénicos para células B de origen humano y muridos. Otra / importante función de los anticuerpos anti B2m fué reciente- / mente demostrada por Conway y Poulik (118). En los experimen- / tos originales, la B2m demostró efecto quimiotáctico pero los / anticuerpos específicos fueron mucho más eficaces en la pro- / ducción de quimiotaxis que la B2m sola. Estos autores han de- / mostrado que unas 500 moléculas de anticuerpos anti B2m aisla- / dos por columna de afinidad B2m son suficientes para inducir / quimiotaxis. Además algunas estructuras de la membrana aso- / ciadas con B2m pueden ser responsables del efecto mitogénico / a quimiotáctico. Sin embargo, persiste la interrogante de si / la B2m con la que los anticuerpos reacciona es la B2m unida a / HLA.

Desde que se descubrió que el antígeno tímico de la / leucemia (TL) estaba asociado con la B2m de los muridos por / Anundi y cols. (119) y Vitetta y cols. (120), muchos investiga- / dores han querido saber si otros antígenos tumorales podían /

también estar asociados con la B2m. Así, se ha demostrado / que los antígenos del cáncer de mama podían aislarse por co- / lumnas de afinidad anti B2m. La respuesta inmune asociada a antígenos (Ia) no están unidas químicamente a B2m, igualmente, el antígeno de embriones de ratones T/t (F9) no está asociado con la B2m (115).

Siguiendo esta línea de investigación Yamashida y / cols. (121), sugirieron que la B2m juega un importante papel como receptor de la superficie celular y demostró que los anticuerpos dirigidos contra la B2m influiría en la respuesta / de la célula a la mitogénesis así como a cambios mitogénicos de ellas mismas.

Diferentes células del sistema inmune (granulocitos, monocitos y algunos linfocitos) tienen receptores para la porción Fc de las inmunoglobulinas. Un mecanismo reconocido para la destrucción celular tumoral, son los anticuerpos mediadores de citotoxicidad, proceso que involucra la Fc de los receptores y anticuerpos directos contra un antígeno específico de un tumor celular. Se han adscritos otras funciones a los receptores Fc. En subpoblaciones de linfocitos T humanos, / los receptores para la porción Fc de IgG, se ha demostrado / que están asociados con células supresoras y receptoras, para la porción Fc de IgM, parece estar asociada con células auxiliaadoras.

La homología entre B2m y el fragmento Fc de las inmunoglobulinas G, sugiere que ambas proteínas pueden participar de funciones similares, y así, al igual que el dominio CH₃, / la B2m fijada a los hematíes de carnero facilita la formación de rosetas con macrófago de cobaya.

Podemos resumir diciendo que la B2m parece controlar la expresión de diversos antígenos de la superficie celular y verosimilmente su síntesis, al igual que las cadenas ligeras de las inmunoglobulinas controlan la biosíntesis y expresión de las cadenas pesadas.

La B2m, como ya mencionamos anteriormente, es sintetizada por diferentes tipos celulares, aunque los linfocitos T y B son su mayor fuente de producción. Por lo tanto, la activación de estos linfocitos como ocurre en los procesos proliferativos y en enfermedades de tipo autoinmune, libera B2m y aumenta sus niveles séricos.

. Asociación de la B2m con enfermedades tumorales.

Aunque las elevaciones de B2m en suero se ha hallado en una gran variedad de enfermedades benignas, inflamatorias, y degenerativas, las mayores elevaciones de esta proteína se encuentran en enfermedades malignas y en particular en afecciones de naturaleza linfoproliferativa. Se han observado aumentos significativos en mieloma múltiple y leucemia monocítica. Una excepción a esto, fué en la enfermedad de Hodgkin, en la cual se detectaron siempre valores normales, lo que sugiere una baja proporción del turnover celular o de las proteínas de las membranas de linfocitos en esta enfermedad (115).

De la revisión de varios estudios efectuados entre pacientes portadores de neoplasias hematológicas o no, puede deducirse provisionalmente que cerca del 45% de las mismas presentan valores séricos elevados de B2m en presencia de función renal normal. Es entre los portadores de mielomas donde se registran los valores más elevados. Entre los portadores de tumores sólidos se observó que los niveles séricos elevados de esta proteína solían acompañarse de manifestaciones locales o diseminadas pronunciadas de la enfermedad, mientras que los valores séricos normales, en general se registraban entre los portadores de neoplasias pequeñas, descubiertas precozmente y sin metástasis ó bien entre los afectos de tumores intracerebrales. Estudios recientes apuntan la posibilidad de utilizar la B2m como marcador tumoral, bien sea de forma aislada ó en combinación con otros marcadores tumorales (65).

El aumento de esta microproteína en las enfermedades

neoplásicas podemos explicarlo por el hecho de que como sabemos en las neoplasias tiene lugar una mayor producción de las células y una mayor tasa de destrucción de las mismas; y como la B2m es un componente de las membranas celulares y ser producida y liberadas por las células, es obvio pensar que en estas enfermedades esta sustancia estará aumentada.

En numerosos estudios realizados en animales se ha indicado que existe relación entre antígenos tumorales y antígenos de histocompatibilidad. Se ha postulado que los antígenos tumorales representan una modificación de antígenos de histocompatibilidad. Esta relación se ha estudiado en una gran variedad de tumores humanos usando técnicas de afinidad cromatográfica. Gold y Shuster's emplearon columnas que contenían B2m antihumano de caballo. Esta técnica se empleó para aislar selectivamente las moléculas de HLA y los antígenos tumorales, las cuales podrían contener una subunidad B2m (122). Estas moléculas fueron entonces estudiadas por su capacidad para inhibir la adherencia de células mononucleares específicamente sensibilizadas en pacientes con cáncer en el análisis de la inhibición de la adherencia en los leucocitos (LAI). Estos estudios realizados en pacientes portadores de diferentes tipos de neoplasias habian demostrado, previamente, ser un útil marcador in vitro de la inmunidad antitumoral (123). Las moléculas aisladas de las membranas de células tumorales poseen actividad antígeno tumoral en los análisis de LAI y contribuyen a la co-purificación de las moléculas HLA preparadas por el procedimiento de afinidad cromatográfica. Además, las moléculas de tumores de un mismo tipo histológico, parece, que contienen un antígeno tumoral común. La separación de pequeñas cantidades de un antígeno tumoral funcionalmente activo a partir de moléculas de HLA preparadas por este procedimiento y su posterior caracterización química se ha requerido para establecer la relación de antígenos tumorales y las moléculas HLA. Ultimamente, la purificación y caracterización de estos antígenos tumorales y la posterior producción en antisueños de antígenos antitumorales se requerirá para establecer la utilidad potencial de RIA de estos marcadores en el diagnóstico de tumores.

. Otras propiedades.

La B2m tiene propiedades citofílicas para los linfocitos de ratón, cobaya, rata y también para los humanos, pero solo si han sido tratados previamente con fitohemaglutinina.

También se ha visto actividad quimiotáctica para los leucocitos. Recientemente se ha descrito una linfoquina con peso y carga similar a la B2m.

Además la B2m interfiere con la polimerización de fibrina ejerciendo por ello acción anticoagulante

IV. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Habitualmente el término marcadores tumorales se refiere a / sustancias localizadas en sangre o en otros fluidos corporales, / producidos por los pacientes con cáncer, aunque de forma más am- / plia podríamos incluir también los antígenos de superficie celu- / lar o las proteínas intracelulares. Clásicamente un marcador se sintetiza en el tumor y se libera a la circulación, pero también puede ser producido por tejidos normales en respuesta a su inva- / sión por células cancerosas. Hay una gran variedad de sustancias que pueden ser llamadas así y entre ellas sobresalen las enzimas, hormonas, antígenos y proteínas.

Las características que debe cumplir cualquier marcador tumo-
ral ideal son las siguientes:

1. Debe ser producido por la célula tumoral y rápida- / mente detectable en algún líquido corporal.
2. No debe existir en el sano ni en los portadores de enfermedades no neoplásicas.

3. Debería presentarse frecuentemente en suficiente / cantidad y lo antes posible, para que sea útil en / el diagnóstico precoz del cáncer.
4. El nivel del marcador tumoral se relacionará direc- / tamente con la masa o volumen tumoral y además será / detectable cuando exista enfermedad subclínica.
5. El nivel debe correlacionarse con los resultados de / la terapia antineoplásica.

Actualmente no existe ninguna sustancia conocida como marca- / dor tumoral que cumpla todos los requisitos previamente enuncia- / dos; a pesar de esto, denominamos así a una serie de sustancias / relacionadas directamente con el tumor en su producción nivel y / evolución.

En el presente trabajo, se estudia al ácido siálico unido a / los lípidos del suero (LSA) y la B-2-microglobulina (B2m) y pre- / tendemos comprobar los siguientes puntos:

1. Ver si el ácido siálico, unido a los lípidos del / plasma y/o suero y la Beta-2-microglobulina cumple / estas premisas, o si la conjunción de las mismas la / cumplen.
2. Si al menos, las dos ó la conjunción de las dos, se / aproxima a lo que debe ser un buen marcador tumoral.
3. Si no cumpliéndolas, al menos, pudieran ser conside- / rados marcadores tumorales por:
 - a) Estar aumentados de forma precoz en los enfer- / mos portadores de neoplasias.
 - b) Aparecen de forma precoz, en aquellos enfermos, / a los que se les extirpa una neoformación, si- / guiéndolas de tal forma, que podamos predecir, / la recidiva de forma precoz, antes incluso que / otras costosas técnicas.

- c) Que nos sirviera de screening para buscar posibles pacientes con neoplasias, que deberían ser estudiados, más profundamente después.

Partiendo de la premisa, de que en la actualidad, no existe ningún marcador tumoral ideal, y arrastrando las imperfecciones, que estos marcadores presentan, queremos estudiar, si al menos / podrían mejorar, incluso superar, en coste y fidedignidad, a / otros existentes en la actualidad.

Gracias a las numerosas investigaciones sobre marcadores tumorales se ha evidenciado la importancia de éstos en el diagnóstico y el seguimiento del enfermo neoplásico, que junto con las nuevas técnicas de diagnóstico en el cáncer se han podido realizar tratamientos más eficaces y con ello cumplir varios objetivos: Curar la enfermedad, prolongar la vida y mejorar su calidad.

Impulsados por este deseo y con la esperanza de que nuestras investigaciones en este terreno pudieran ser de utilidad en el / futuro, se creó nuestro grupo de trabajo en el departamento de / Medicina Interna bajo la dirección del Prof. Garrido Peralta, / donde no se ha escatimado ningún recurso para que este trabajo / pudiera llevarse a cabo, al igual que ha sucedido con otros departamentos de este Hospital que han estado relacionado con este trabajo.

Al realizar este trabajo nos hemos encontrado con algunos / problemas, por lo que se refiere a los enfermos, ya que no se ha podido realizar, desgraciadamente, un seguimiento adecuado en / cuanto a las determinaciones de estos marcadores tumorales ya / que en algunas ocasiones, se han negado a seguir tratamiento por diversas causas, han descuidado sus controles habituales en otros casos y en otros pacientes no se ha podido llevar a cabo debido a la alta mortalidad de esta enfermedad.

Hemos de aclarar que no nos hemos centrado en ningún tipo de neoplasias en particular, sino que hemos abarcado un amplio grupo de neoplasias, una vez que habían sido confirmadas anatomopatológicamente. Con ella hemos querido comprobar si hay diferen-

cias significativas entre los diferentes tumores con respecto a estos marcadores.

Además en cada grupo de neoplasias y con respecto al estadio en que se encontraban hemos intentado igualmente observar si existían diferencias entre un estadio u otro.

Con la esperanza de que nuestro estudio, sobre estos dos marcadores tumorales puedan aportarnos algunos datos más para determinar si pueden ser o no un marcador tumoral de utilidad clínica a continuación expondremos los resultados de nuestro trabajo.

V. MATERIAL Y METODOS

Para desarrollar la hipótesis de trabajo anteriormente ex-/
puesta y que desde hace años perseguíamos hemos seleccionado un
grupo control de 159 individuos, a los que se les ha realizado
las determinaciones de B2m y LSA con el fin de obtener los valo-
res normales.

De los 159 individuos, 125 son hombres y 34 mujeres, a solo
100 de ellos, 48 mujeres y 52 hombres, se les determinó la B2m
ya que los altos costos de este último parámetro nos llevó a /
pensar que un grupo con 100 sujetos controles era más que sufi-
ciente.

Los criterios para la selección del grupo control fueron las
siguientes: Anamnesis, exploración física, radiografías de tó-
rax, electrocardiograma y análisis de sangre y orina, los cuales
comprenden los siguientes parámetros:

a) Sangre: fórmula y recuento de ambas series, velo-
cidad de sedimentación. Hemoglobina. Hematocrito, tamaño del /
Hematíe. Proteínas totales, Glucemia, Colesterol, bilirrubina
total, ácido úrico, fosfatasas alcalinas, transaminasas, lacto-

dehidrogenasa, calcio iónico, albúmina, creatinina y nitrógeno uréico.

b) Orina: Densidad, albúmina, glucosa, urobilina y / sedimento.

La mayoría de los individuos que forman este grupo control, está constituido por personal hospitalario y personal ajeno a / este medio que se sometieron de forma voluntaria a la realiza- / ción de estas pruebas y en las que previamente se estudiaron / los parámetros de selección ya mencionados.

El grupo problema está constituido por 134 individuos afec- / tos de enfermedad cancerosa, elegidos al azar. El diagnóstico de estos individuos se realiza por historia clínica, datos com- / plementarios y anatomía patológica.

Las diferentes neoplasias que constituyen este grupo son: 11 linfomas, 6 mielomas, 51 carcinomas de pulmón, 9 carcinoma gástrico, 8 leucemias, 9 carcinomas de ovario, 16 linfomas de / Hodgkin, 6 carcinomas de recto, 7 carcinomas de colon, 12 melano- / mas, 9 carcinomas de mama, 6 hepatocarcinomas, 6 carcinomas de páncreas.

La edad de este grupo de enfermos va desde los 12 a los 82 años.

METODOS.

V-I. Método para la determinación del ácido siálico unido a lípidos del plasma y/o suero (LSA).

Para la determinación del LSA hemos seguido el método / desarrollado por Katopodis y Stock el cual está basado en los / siguientes puntos:

A todos los pacientes se le extrajeron 10 ml. de sangre que se dejó coagular para la posterior separación del suero. Las muestras que no fueron procesadas de inmediato, se congela-

ron a -70° C pues se ha demostrado que a dicha temperatura no / existe variación alguna de los niveles de LSA, mientras que a / temperatura ambiente en el plazo de 24 horas los niveles de LSA / descienden un 25%.

Los pasos a seguir en este método son:

1. En tubos de ensayos de 13 x 100 mm. provistos de ta pón se añaden 150 μ l de agua bidestilada y 44,7 μ l de suero. Agitar en vortex durante 5 segundos e in troducir los tubos en un baño de hielo.
2. Añadir a los tubos 3 ml. de cloroformo-metanol 2: 1 enfriado previamente a $4-5^{\circ}$ C y agitar la mezcla en vortex durante 30 segundos.
3. A esta mezcla, añadir 0'5 ml. de agua bidestilada / enfriada asimismo a $4-5^{\circ}$ C y agitar los tubos por / inversión.
4. Centrifugar a 2.500 r.p.m. a temperatura ambiente / durante 5 minutos y transferir 1 ml. de sobrenadante a otros tubos idénticos a los ya mencionados.
5. Añadir 50 μ l. de una solución de ácido fosfotungstico (1g/ml), agitar y dejar en reposo durante 5 minutos a temperatura ambiente.
6. Centrifugar durante 5 minutos a 2.500 r.p.m. y reti rar el sobrenadante por succión, dejando los tubos en posición invertida sobre un papel de filtro.
7. Añadir 1 ml. de agua bidestilada y agitar en vor- / tex hasta que la suspensión quede sin partículas / gruesas (aprox. 1 minuto).
8. Añadir 1 ml. de reactivo de resorcinol, tapar los / tubos, agitarlos e introducirlos en un baño de agua hirviendo durante 15 minutos exactamente.

9. Inmediatamente, transferir los tubos a un baño de hielo y agua y dejarlos durante 10 minutos.
10. Añadir 2 ml. de una mezcla de acetato de n-butilo y n-butanol (85:15) v:v, agitar y centrifugar durante 5 minutos a 2.500 r.p.m.
11. Leer la absorbancia del líquido sobrenadante a 580 nm. frente a un blanco de acetato de n-butilo-n-butanol.

La cantidad de LSA se determina por comparación con la curva standar realizada con NANA y con el uso de la siguiente fórmula:

$$\text{LSA (mgr/100 ml)} = \frac{x \cdot 100.000}{y \cdot 44,7.1000}$$

siendo: x = μ gr NANA leídos de la curva standar
 y = 1 ml de sobrenadante/volumen total (en nuestro caso 1,00/1,30).

La curva standar debe ser controlada diariamente o al menos en 2 puntos, para la posible detección de contaminación de los reactivos.

Para la obtención de la curva standar (Figura 10) tomamos 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 y 40 μ gr de NANA y lo procesamos a partir del punto número 5 de la técnica antes comentada.

Con el fin de comprobar la desviación del método, tomamos una muestra con concentraciones normales de LSA y otra con concentraciones elevadas y la realizamos 10 veces en días distintos obteniéndose los resultados que figuran en la Tabla VIII.

Los distintos productos químicos utilizados, cloroformo, metanol, ácido fosfotungstico, n-butanol y acetato de n-butilo fueron de calidad analítica; el agua utilizada era bidestilada

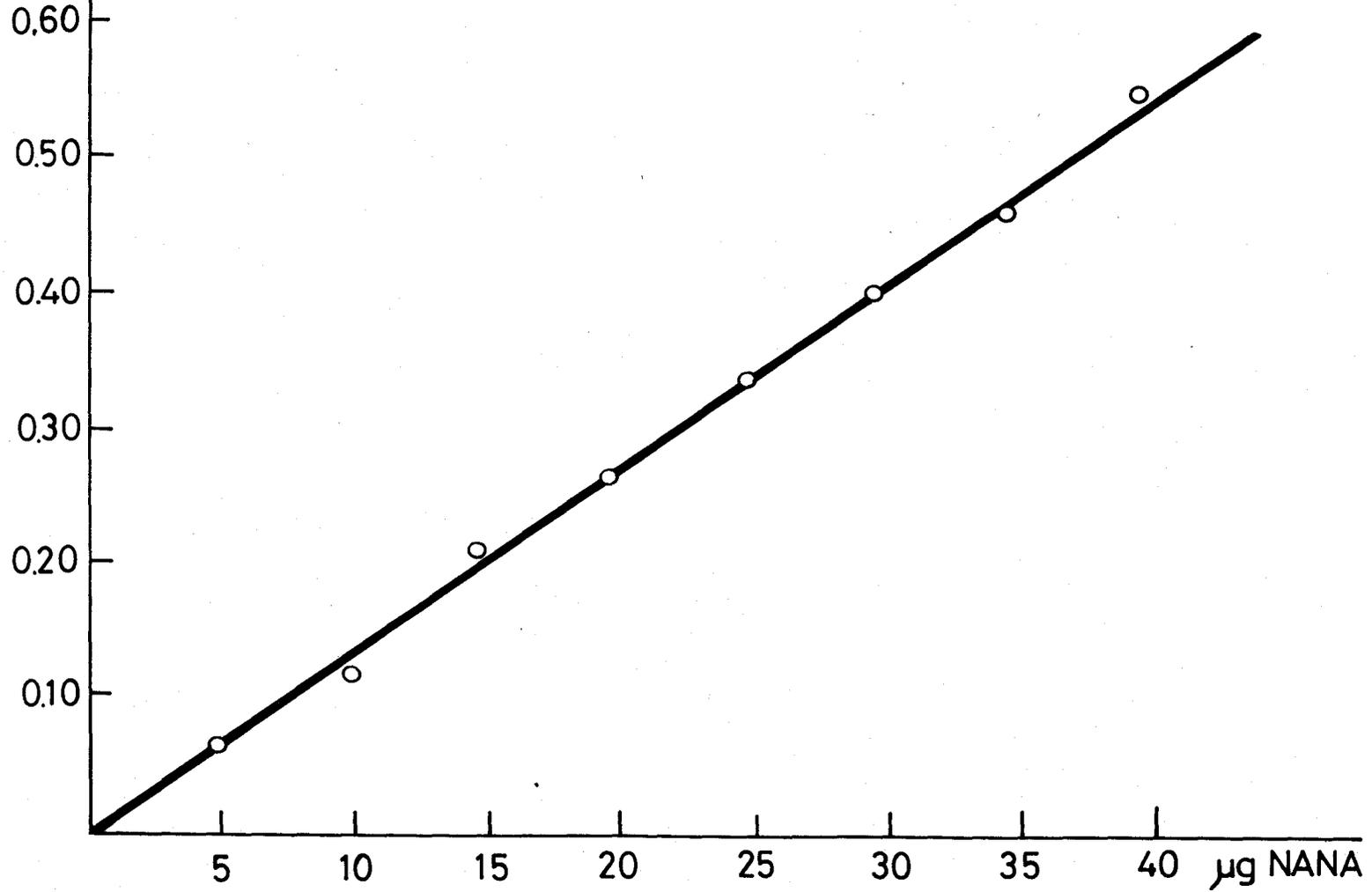


Figura 10- Curva de calibracion

| <u>Nº DETERMINACIONES</u> | <u>LSA (mgr %)</u> | <u>LSA (mgr %)</u> |
|---------------------------|--------------------|--------------------|
| 1 | 15.0 | 45.1 |
| 2 | 14.0 | 43.8 |
| 3 | 14.6 | 46.2 |
| 4 | 14.3 | 45.5 |
| 5 | 15.0 | 45.9 |
| 6 | 14.2 | 44.3 |
| 7 | 14.1 | 41.6 |
| 8 | 14.8 | 46.6 |
| 9 | 14.7 | 42.4 |
| 10 | 14.4 | 45.2 |
| | <hr/> | <hr/> |
| | 14,51 ± 0,34 | 44,66 ± 1,56 |

TABLA VIII. VALORES DE LSA OBTENIDOS EN 2 SUEROS A CONCENTRACIONES NORMALES Y PATOLOGICAS EN 10 DIAS DISTINTOS.

y el ácido n-acetil-neuramínico (NANA) usada para la curva stan-
far tenían una pureza del 95% según la firma Sigma.

El reactivo de resorcinol, fué preparado de acuerdo con Svennerholm (124) de la siguiente forma: en un matraz aforado de 100 ml. se añaden 10 ml. de solución stock de resorcinol / 0,25 ml. de sulfato de cobre 0,1 M., 9,75 ml. de agua bidestilada y ácido clorhídrico hasta envasar los 100 ml. La solución stock de resorcinol contiene un 2% de resorcinol en agua. Am- / bas soluciones stock y de trabajo fueron conservadas en frigorí- fico en frascos de color ámbar para protegerlos de la luz.

Todas las determinaciones se hicieron por duplicado ob-
teniendo como válido el valor medio.

Estas determinaciones se realizaron en la Cátedra de /
Bioquímica del H.U.S. (Prof. Goberna) en le laboratorio de Lípi-
dos (Dr. Fabiani).

V-II. Método para la determinación de la Beta-2-microglobuli- na.

Se empleó un método de radioinmunoanálisis de doble an-
ticuerpo (PHARMACIA B₂-micro-RIA), que tiene el siguiente funda-
mento:

La Beta-2-microglobulina en la muestra compite con una
cantidad fija de Beta-2-microglobulina marcada con I¹²⁵ por los
sitios de enlace en los anticuerpos específicos.

Las fracciones enlazadas y libres de la Beta-2-micro- /
globulina se separan mediante la adición de una suspensión inmu-
no absorbente de doble anticuerpo seguida por centrifugación y
decantación. A continuación se mide la radioactividad del pre-
cipitado. Esta radioactividad es inversamente proporcional a /
la cantidad de Beta-2-microglobulina en la muestra.

1. Reactivos.

Cada estuche de Pharmacia Beta-2-micro-RIA contie-

ne reactivos para 100 tubos, suficientes para 43 muestras y una curva standard por duplicado. Para series más amplias se deben usar reactivos provenientes de estuches con números idénticos / de lote. Antes de ser usados deben mezclarse bien pero suavemente para evitar la formación de espuma.

La fecha de vencimiento del estuche viene indicada. La temperatura de almacenamiento recomendada es de 2-8° C.

2. Recogida y manejo de muestras.

- . Suero: La sangre se toma por punción venosa, se deja coagular y se separa el suero mediante centrifugación. Almacenamiento de las muestras: / una semana a 2-8° C y por lo menos un año a -20° C.

3. Preparación de las muestras.

Normalmente no hay necesidad de diluir las muestras; sin embargo, las muestras que contienen > 16 mgr/l (tanto en orina como en suero) se pueden diluir, por ejemplo 1/5 (1+4) con Pharmacia Diluent, o analizar utilizando un volumen de muestra más pequeño, por ejemplo 10 µl.

4. Preparación de los reactivos.

Los patrones utilizados para realizar la curva de calibración, corresponden a concentraciones de 0,4, 0,8, 1,6, / 4,8 y 16 mgr/l respectivamente; vienen liofilizados y su reconstitución se realiza añadiendo a cada uno de ellos 0,5 ml. de / agua bidestilada.

La B₂ microglobulina marcada con I¹²⁵ tiene una actividad aproximada de 1,7 µCi, y el anticuerpo procedente de antisuero de oveja son reconstituidos con 5.5. ml. de agua bidestilada respectivamente.

Asimismo, se suministra una suspensión de decanta-

ción para preparar la mezcla de reacción; quedando lista al añadir a 220 ml. de la misma, 5.5. ml. de antisuero. Esta mezcla así preparada tiene una caducidad de 6 semanas si es conservada a temperaturas entre 2 y 8° C.

5. Método de realización.

Todas las determinaciones, tanto blanco, como patrones para la curva como los sueros a analizar se hacen por duplicado siguiendo los siguientes pasos:

Se rotulan los tubos con el número 0, dos con las distintas concentraciones utilizadas para la curva dos con la / letra L (control bajo), dos con la letra H (control alto) y dos para cada suero a analizar. A los tubos patrones se le añaden 50 μ l de cada uno de ellos y a cada paeja de tubos de pacientes 50 μ l de su suero respectivos.

A todos los tubos 0 patrones controles y sueros, / se le añaden 50 μ l de B₂ microglobulina marcada con I¹²⁵ y 2000 μ l de mezcla preparada como se dijo anteriormente.

Se agitan los tubos con un vortex y se incuban durante 1 hora a temperatura ambiente.

Se centrifugan durante 10 minutos a 3000 r.p.m. x g. y se decantan los tubos de inmediato con un solo movimiento y se dejan invertidos medio minuto sobre papel absorbente. A / fin de obtener resultados óptimos, pasar la gradilla (todavía / invertida) a papel absorbente seco y golpear los tubos suavemente unas cuantas veces contra el papel para eliminar cualquier / gpta residual. (El precipitado es tan compacto que no hay riesgo de que se desprenda, ni siquiera cuando los tubos son golpeados vehementemente).

Posteriormente se determina la radioactividad.

6. Cálculo de los resultados.

a) Se expresan los conteos (B) de cada uno de los

patrones y desconocidos como un porcentaje de los conteos promedios de "Patrón 0" (B_0). % de actividad enlazada:

$$\% = \frac{B \text{ (de patrón o desconocido)} \times 100}{B_0}$$

b) Se marcan los valores porcentuales obtenidos / de los patrones contra la concentración en un papel de logaritmo y se traza una curva standard.

c) Se lee la concentración de las muestras desconocidas en la curva standard. Si éstas han sido prediluidas al 1/5 o si se emplea un volumen de muestra de 10 μ l se multiplica el resultado por 5. Si se usa un volumen de muestra de 200 μ l. se divide el resultado por 4.

7. Características del método.

Valores normales:

La buena práctica exige que cada laboratorio / establezca su propio rango de valores normales.

La concentración superior normal de la Beta-2 / microglobulina, definida como el 95. valor percentil es de:

2.4 mgr/l en suero (edad \leq 60 años)

3.0 mgr/l en suero (edad $>$ 60 años)

Límite de detección:

El límite de detección es de \leq 0,2 mgr/l (con - un volumen de muestra de 50 μ l).

Recuperación:

. Suero: La recuperación después de la adi-/

ción de B₂-microglobulina es de 97-102%.

Rango de medición.

Muestras no diluidas, 0,4-16 mgr/l. Es posible extender el rango mediante dilución o diferentes volúmenes de / muestra.

Reactividad cruzada:

La IgG humana no da reactividad cruzada medible.

Calibración:

Los patrones de Beta-2-microglobulina del estuche han sido calibrados contra Beta-2-microglobulina pura.

VI. RESULTADOS

Estudiamos un total de 415 individuos, de los cuales 259 / corresponden a un grupo control, formado por personas sin ningún tipo de patología y el resto 156 son pacientes afectos de dis-/ tintos tipos de enfermedades neoplásicas agrupados de la siguiente forma:

| | |
|-----------------------|--------------|
| Enfermedad de Hodgkin | 16 pacientes |
| Carcinoma de pulmón | 51 pacientes |
| Linfomas | 11 pacientes |
| Melanomas | 12 pacientes |
| Leucemias | 8 pacientes |
| Carcinoma de recto | 6 pacientes |
| Carcinoma de colon | 7 pacientes |
| Carcinoma de ovario | 9 pacientes |
| Carcinoma gástrico | 9 pacientes |
| Carcinoma de mama | 9 pacientes |
| Carcinoma de páncreas | 6 pacientes |
| Hepatocarcinoma | 6 pacientes |
| Mielomas | 6 pacientes |

A todos los pacientes se le determinó el ácido siálico unido a los lípidos (LSA) y la β eta-2 microglobulina.

Las edades correspondientes a los grupos controles y a las distintas patologías separadas por sexo figuran en las Tablas / IX, X y XI.

El grupo control para la β eta-2 microglobulina, está formado por 100 individuos con una edad media de 38.48 años. El valor promedio para dicho parámetro es de 1.74 μ g/ml, con una desviación estandar de 0.62. En la Tabla XII figuran dichos valores y en la Tabla XIII los correspondientes cuando dicho grupo se fracciona en décadas. No existen diferencias significativas entre los valores correspondientes de la β -2m, cuando se hace / la distinción entre sexos. Por décadas, tampoco existen diferencias significativas cuando se comparan con el valor promedio, / solo aparece una diferencia en el límite ($n < 0.05$), cuando se compara el grupo de 18 a 30 años con el grupo de 50 a 60.

El grupo control para el ácido siálico (Tabla XIV) está / formado por un total de 159 individuos carentes así mismo de / cualquier tipo de patología, con una edad media de 37.33 años. El valor promedio de LSA es de 13.61 mg% con una desviación estandar de 2.94, no existiendo diferencias estadísticamente significativas ni cuando se separa la población en función del sexo, ni en función de la edad (Tabla XV).

En la Tabla XVI, figuran conjuntamente los valores de LSA y β 2m en el grupo problema que está formado por 156 individuos. El valor promedio para el LSA es de 29.31 ± 11.85 mg% y el de / la β 2m es 3.77 ± 1.92 μ g/ml existiendo diferencia estadística / mente significativa con respecto al grupo control con una / $p < 0.001$ (Tabla XVII) (Figura 11).

A partir de aquí seleccionamos el grupo problema según los distintos tipos de patología y comenzamos por la enfermedad de Hodgkin.

Dentro de esta patología, hemos formado un grupo de 16 individuos, 13 varones y 3 hembras; los valores para LSA y β 2m / con respecto a la edad y sexo, aparecen en la Tabla XVIII, mienu

tras que en la Tabla XIX, figuran los valores promedios de ambos parámetros así como los de la edad; al efectuarse el correspondiente estudio estadístico, se encuentran diferencias estadísticamente significativa con respecto al grupo control en ambos parámetros con una $p < 0.001$ (Figura 12).

En la Tabla XX figura el grupo del cáncer de pulmón formado por 51 individuos, 49 varones y dos hembras; los valores promedios de LSA, $\beta 2m$ y la edad figuran en la Tabla XXI. Al compararse estos resultados con los del grupo control, las diferencias fueron estadísticamente significativas con una $p < 0.001$ (Figura 13).

En la Tabla XXII aparecen los valores del grupo de pacientes afectados de linfoma. Este grupo formado por 11 individuos, arrojó cifras de 32.10 ± 11.54 mg% para el LSA y de 6.26 ± 2.91 / para la $\beta 2m$; los promedios por sexo figuran en la Tabla XXIII y la significación estadística fué menor de 0.001 (Figura 14).

La Tabla XXIV recoge los resultados de los melanomas. Dicho grupo lo constituyen 12 individuos que promediaron unos valores de 20.76 ± 4.50 mg% para el LSA y 1.92 ± 0.68 para la $\beta 2m$ (Tabla XXV). El valor de LSA se encuentra en el límite de la significación estadística ($p < 0.05$), mientras que en la $\beta 2m$ carece de ella (Figura 15).

Los valores obtenidos para el grupo de leucemias formados por 8 individuos, figuran en la Tabla XXVI, correspondiendo / 31.08 ± 12.54 mg% para el LSA y 5.23 ± 2.61 para la $\beta 2m$ (Tabla XXVII). Fueron ambos estadísticamente significativos ($p < 0.001$) cuando se compararon (Figura 16).

En los límites de la significación estadística ($p < 0.05$) se encuentran los valores de LSA de los pacientes con cáncer de recto, cuando se comparan con el grupo control (Figura 17). Los valores de LSA y $\beta 2m$ obtenidos para dicho grupo está formado / por 6 individuos fueron de 22.95 ± 7.70 mg% y 2.75 ± 1.12 $\mu g/ml$ respectivamente (Tablas XXVIII y XXIX). La $\beta 2m$ no presenta significación estadística.

En la Tabla XXX aparecen los valores para el grupo de pa-/

cientes con cáncer de colon. El grupo está formado por 7 individuos y los valores medios de LSA y $\beta 2m$ fueron de 24.66 ± 8.09 mg% y 3.03 ± 1.12 mg% respectivamente (Tabla XXXI). Hubo también significación estadística cuando se compararon los resultados de LSA con los del grupo control pero no la hubo para la $\beta 2m$ (Figura 18).

En la Tabla XXXII figuran los resultados de los carcinomas de ovario con una cifra de 26.33 ± 6.84 para el LSA y de 4.17 ± 1.43 para la $\beta 2m$ (Tabla XXXIII). La significación estadística en este grupo fué de $p < 0.01$ (Figura 19).

Los 9 individuos afectados de carcinoma gástrico presentaron unas cifras de 29.04 ± 4.35 mg% para el LSA y 3.47 ± 1.07 $\mu\text{g/ml}$ para la $\beta 2m$ (Tablas XXXIV y XXXV). La significación estadística arrojó una $p < 0.05$ (Figura 20).

En la Tabla XXXVI aparecen los resultados de los 6 mielomas estudiados. Los valores de LSA fueron de 22.75 ± 8.76 mg% y los de $\beta 2m$ de 3.48 ± 0.66 $\mu\text{g/ml}$ (Tabla XXXVII). La significación estadística fué inferior a 0.05 (Figura 21).

En los 6 pacientes con carcinoma de páncreas (Tabla XXXVIII), se obtuvieron unos valores de 30.23 ± 9.60 mg% para el LSA y de 4.32 ± 1.20 $\mu\text{g/ml}$ para la $\beta 2m$ (Tabla XXXIX). Las diferencias con el grupo control fueron estadísticamente significativas con una $p < 0.01$ (Figura 22).

En los hepatocarcinoma, obtenemos una significación estadística con una $p < 0.01$ para la $\beta 2m$ y de $p < 0.001$ para el LSA (Figura 23), y los valores correspondientes de LSA y $\beta 2m$ de los 6 individuos estudiados fueron de 41.56 ± 10.97 mg% y 4.75 ± 0.84 $\mu\text{g/ml}$ respectivamente (Tablas XL y XLI).

Por último, en la Tabla XLII aparece los valores correspondientes a los 9 carcinomas de mamas incluidos en este estudio. Los valores de LSA fueron de 36.38 ± 19.43 mg% y los de $\beta 2m$ de 5.45 ± 2.79 $\mu\text{g/ml}$ (Tabla XLIII). La significación estadística fué positiva con una $p < 0.001$ (Figura 24).

Las Figuras 25 y 26 resumen los valores de LSA y $\beta 2m$ en /

el grupo control y en los distintos grupos que hemos realizado con las distintas neoplasias estudiadas. Con lo que respecta a la determinación de LSA, todos los grupos estudiados poseen diferencias estadísticamente significativas cuando se las comparan con el grupo control.

Por su alta significación, cabe destacar como más llamativos a los grupos de la enfermedad de Hodgkin, cáncer de pulmón, linfomas, leucemias, hepatocarcinomas y ovario; aunque en realidad todos poseen una alta significación estadística, los melanomas cánceres de recto, colon y gástrico y los mielomas se encuentran en el límite de la significación con una $p < 0.05$. Posiblemente si la población estudiada hubiera sido más amplia la significación habría sido mayor, pero también es cierto que grupos con el mismo número de individuos han dado una significación muy positiva, por ejemplo, el hepatocarcinoma y el cáncer de mama.

Esto podría significar que dicha determinación es más útil en un tipo de cáncer que en otro, pero también habría que tener en cuenta que en los valores pudiera influir el estadio en que se encuentre la enfermedad. Estos hechos junto con la explicación pertinente serán analizados más adelante.

Por lo que respecta a la β_2m podemos observar en la Figura 25 que todos los grupos que hemos formado a excepción de los melanomas y los cánceres de recto y colon tienen diferencias estadísticamente significativas cuando se las comparan con el grupo control. También aquí los linfomas, las leucemias y el cáncer de mama presentan las mayores diferencias, aunque de un modo general podemos decir que la significación en conjunto de la β_2m es inferior siempre a la del LSA.

| | \bar{x} | d s | n |
|-----------------------|-----------|-------|-----|
| Población total | 44.04 | 14.88 | 415 |
| Grupo control 82m | 38.48 | 12.34 | 100 |
| Grupo control 82m (V) | 37.17 | 11.82 | 52 |
| Grupo control 82m (H) | 39.89 | 12.44 | 48 |
| Grupo control LSA | 37.33 | 10.73 | 159 |
| Grupo control LSA (V) | 38.42 | 10.89 | 111 |
| Grupo control LSA (H) | 34.79 | 9.90 | 48 |

TABLA IX. VALORES MEDIOS DE LA EDAD EN LA POBLACION TOTAL Y EN LOS GRUPOS CONTROLES.

| | \bar{x} | d s | n |
|----------------|-----------|-------|----|
| Hodgkin | 35.38 | 14.25 | 16 |
| Hodgkin (V) | 37.69 | 14.68 | 13 |
| Hodgkin (H) | 25.33 | 6.66 | 3 |
| Ca. pulmón | 57.55 | 9.68 | 51 |
| Ca. pulmón (V) | 58.08 | 8.72 | 49 |
| Ca. pulmón (H) | 44.50 | 26.16 | 2 |
| Linfomas | 51.55 | 14.79 | 11 |
| Linfomas (V) | 46.71 | 13.59 | 7 |
| Linfomas (H) | 60.00 | 14.47 | 4 |
| Melanomas | 58.92 | 13.24 | 12 |
| Melanomas (V) | 56.70 | 13.46 | 10 |
| Melanomas (H) | 70.00 | 1.41 | 2 |
| Leucemias | 48.38 | 26.52 | 8 |
| Leucemias (V) | 73.33 | 13.43 | 3 |
| Leucemias (H) | 33.40 | 19.83 | 5 |
| Ca. recto | 61.00 | 9.21 | 6 |
| Ca. recto (V) | 62.33 | 12.74 | 3 |
| Ca. recto (H) | 59.67 | 6.66 | 3 |

TABLA X. VALORES MEDIOS DE LA EDAD EN DISTINTAS PATOLOGIAS.

| | \bar{X} | d s | n |
|---------------------|-----------|-------|---|
| Ca. de Colon | 60.57 | 7.14 | 7 |
| Ca. de Colon (V) | 60.67 | 11.50 | 3 |
| Ca. de Colon (H) | 60.50 | 3.69 | 4 |
| Ca. de Ovario | 57.44 | 14.60 | 9 |
| Ca. Gástrico | 58.78 | 11.66 | 9 |
| Ca. Gástrico (V) | 60.00 | 12.22 | 7 |
| Ca. Gástrico (H) | 54.50 | 12.02 | 2 |
| Mielomas | 61.83 | 7.99 | 6 |
| Mielomas (V) | 58.50 | 7.77 | 4 |
| Mielomas (H) | 68.50 | 2.12 | 2 |
| Ca. de Páncreas | 62.33 | 10.29 | 6 |
| Ca. de Páncreas (V) | 64.67 | 14.47 | 3 |
| Ca. de Páncreas (H) | 60.00 | 6.25 | 3 |
| Ca. de Hígado (V) | 47.83 | 16.30 | 6 |
| Ca. de Mama | 51.33 | 8.50 | 9 |

TABLA XI. VALORES MEDIOS DE LA EDAD EN DISTINTAS PATOLOGIAS

| <u>HEMBRAS</u> | | <u>VARONES</u> | |
|----------------|--|----------------|--|
| <u>Edad</u> | <u>$\beta 2m$ ($\mu g/ml$)</u> | <u>Edad</u> | <u>$\beta 2m$ ($\mu g/ml$)</u> |
| 47 | 1.6 | 61 | 1.1 |
| 47 | 1.5 | 27 | 1.4 |
| 41 | 2.2 | 27 | 1.6 |
| 48 | 1.3 | 25 | 1.7 |
| 50 | 1.5 | 63 | 2.2 |
| 35 | 1.7 | 57 | 4.0 |
| 54 | 1.0 | 45 | 1.8 |
| 22 | 1.2 | 56 | 2.1 |
| 52 | 2.2 | 33 | 2.0 |
| 54 | 1.2 | 24 | 1.2 |
| 18 | 3.0 | 24 | 1.8 |
| 50 | 1.4 | 24 | 1.2 |
| 52 | 1.7 | 28 | 1.2 |
| 30 | 0.9 | 28 | 0.9 |
| 28 | 1.2 | 24 | 1.8 |
| 31 | 1.5 | 23 | 2.0 |
| 23 | 1.3 | 27 | 1.6 |
| 30 | 1.3 | 30 | 2.0 |
| 20 | 1.3 | 29 | 1.2 |
| 25 | 1.2 | 40 | 2.4 |
| 26 | 1.1 | 22 | 3.2 |
| 60 | 2.7 | 40 | 1.7 |
| 32 | 2.0 | 28 | 3.4 |
| 29 | 1.6 | 51 | 2.0 |
| 58 | 2.8 | 35 | 1.4 |
| 46 | 2.2 | 30 | 1.8 |
| 62 | 3.0 | 60 | 3.2 |
| 46 | 2.0 | 45 | 1.6 |
| 50 | 1.0 | 33 | 2.4 |
| 35 | 0.9 | 42 | 1.6 |

TABLA XII. VALORES DE LA $\beta 2m$ EN EL GRUPO CONTROL.

| <u>HEMBRAS</u> | | <u>VARONES</u> | |
|----------------|--|----------------|--|
| <u>Edad</u> | <u>β2m (μg/ml)</u> | <u>Edad</u> | <u>β2m (μg/ml)</u> |
| 52 | 2.2 | 50 | 2.6 |
| 40 | 2.6 | 50 | 2.6 |
| 21 | 1.2 | 28 | 1.8 |
| 56 | 1.3 | 42 | 2.0 |
| 20 | 0.8 | 29 | 1.8 |
| 44 | 1.4 | 38 | 1.5 |
| 41 | 2.9 | 29 | 1.8 |
| 52 | 1.2 | 34 | 1.7 |
| 45 | 1.8 | 47 | 1.6 |
| 49 | 2.0 | 59 | 1.8 |
| 30 | 1.4 | 37 | 1.7 |
| 49 | 2.0 | 49 | 1.3 |
| 44 | 1.0 | 55 | 1.5 |
| 37 | 1.4 | 33 | 0.6 |
| 42 | 2.2 | 53 | 2.8 |
| 18 | 1.4 | 29 | 2.9 |
| 45 | 1.4 | 31 | 1.4 |
| 29 | 1.0 | 30 | 1.0 |
| | | 28 | 2.2 |
| | | 29 | 1.5 |
| | | 26 | 1.8 |
| | | 41 | 1.4 |

TABLA XII. VALORES DE β 2m EN GRUPO 1 CONTROL (CONTINUACION)

| <u>Edad</u> | <u>$\beta_{2m} (\bar{x})$</u> | <u>d s</u> | <u>n</u> |
|-------------|--|------------|----------|
| < 30 | 1.60 | 0.61 | 39 |
| 30-40 | 1.59 | 0.48 | 16 |
| 40-50 | 1.77 | 0.48 | 26 |
| 50-60 | 2.11 | 0.83 | 16 |
| > 60 | 2.10 | 0.95 | 3 |
| TODOS | 1.74 | 0.63 | 100 |
| V | 1.86 | 0.63 | 52 |
| H | 1.61 | 0.58 | 48 |

TABLA XIII. VALORES MEDIOS DE β_{2m} EN INDIVIDUOS NORMALES CLASIFICADOS POR DECADAS Y SEXO.

• VARONES

| <u>Edad</u> | <u>LSA (mg%)</u> | <u>Edad</u> | <u>LSA (mg%)</u> |
|-------------|------------------|-------------|------------------|
| 44 | 11.35 | 38 | 18.91 |
| 30 | 11.63 | 46 | 14.54 |
| 27 | 22.39 | 48 | 12.80 |
| 60 | 14.54 | 53 | 9.89 |
| 33 | 11.35 | 22 | 13.38 |
| 33 | 12.51 | 43 | 8.44 |
| 44 | 11.05 | 59 | 13.38 |
| 35 | 17.16 | 42 | 10.47 |
| 33 | 13.38 | 64 | 14.54 |
| 47 | 13.38 | 55 | 11.05 |
| 61 | 9.31 | 25 | 8.14 |
| 28 | 15.42 | 29 | 17.45 |
| 33 | 10.47 | 53 | 17.45 |
| 43 | 12.80 | 63 | 16.87 |
| 34 | 15.42 | 54 | 16.57 |
| 38 | 14.54 | 23 | 13.38 |
| 56 | 14.83 | 22 | 15.12 |
| 37 | 17.16 | 29 | 12.21 |
| 32 | 14.25 | 41 | 9.89 |
| 40 | 19.19 | 36 | 10.47 |
| 49 | 16.87 | 48 | 11.35 |
| 27 | 13.38 | | |
| 26 | 17.16 | | |
| 48 | 11.35 | | |
| 48 | 15.42 | | |
| 42 | 9.60 | | |
| 29 | 14.25 | | |
| 41 | 11.35 | | |
| 63 | 16.29 | | |
| 48 | 11.66 | | |

TABLA XIV. VALORES DEL LSA EN GRUPO CONTROL.

VARONES

| <u>Edad</u> | <u>LSA (mg%)</u> | <u>Edad</u> | <u>LSA (mg%)</u> |
|-------------|------------------|-------------|------------------|
| 28 | 16.29 | 37 | 18.03 |
| 35 | 12.80 | 25 | 14.25 |
| 44 | 17.16 | 23 | 11.93 |
| 38 | 17.16 | 26 | 11.35 |
| 44 | 20.36 | 40 | 9.89 |
| 43 | 15.42 | 61 | 16.58 |
| 35 | 12.80 | 21 | 13.09 |
| 28 | 22.98 | 32 | 21.52 |
| 26 | 17.16 | 25 | 18.18 |
| 58 | 12.22 | 24 | 18.03 |
| 40 | 9.60 | 23 | 15.12 |
| 39 | 16.29 | 45 | 11.63 |
| 30 | 10.47 | 28 | 14.25 |
| 25 | 17.74 | 35 | 19.77 |
| 31 | 11.93 | 31 | 12.51 |
| 40 | 12.51 | 31 | 16.29 |
| 46 | 16.29 | 22 | 11.63 |
| 32 | 13.67 | 43 | 16.58 |
| 25 | 13.37 | 37 | 10.47 |
| 34 | 14.25 | 40 | 8.43 |
| 29 | 11.92 | 50 | 10.18 |
| 39 | 9.74 | 49 | 12.51 |
| 52 | 11.93 | 23 | 11.34 |
| 33 | 11.63 | 37 | 15.12 |
| 42 | 15.42 | 40 | 8.43 |
| 27 | 14.54 | 37 | 12.51 |
| 31 | 15.71 | 38 | 13.08 |
| 40 | 15.12 | 34 | 17.45 |
| 39 | 12.22 | 38 | 11.63 |
| 48 | 9.31 | 56 | 9.31 |

TABLA XIV. VALORES DEL LSA EN GRUPO CONTROL. (CONTINUACION)

HEMBRAS

| <u>Edad</u> | <u>LSA (mg%)</u> | <u>Edad</u> | <u>LSA (mg%)</u> |
|-------------|------------------|-------------|------------------|
| 23 | 12.80 | 24 | 11.35 |
| 30 | 15.12 | 33 | 13.96 |
| 34 | 11.35 | 48 | 9.85 |
| 29 | 18.32 | 29 | 13.08 |
| 18 | 10.76 | 54 | 15.12 |
| 25 | 13.96 | 30 | 13.38 |
| 19 | 15.12 | 30 | 12.51 |
| 47 | 14.54 | 35 | 15.12 |
| 50 | 10.18 | 36 | 11.63 |
| 23 | 15.42 | 39 | 14.54 |
| 44 | 15.12 | 43 | 11.05 |
| 34 | 14.83 | 31 | 13.10 |
| 34 | 11.35 | 44 | 10.05 |
| 28 | 15.12 | 23 | 11.63 |
| 24 | 9.59 | 41 | 15.12 |
| 35 | 12.51 | 51 | 11.05 |
| 33 | 15.42 | 34 | 17.45 |
| 35 | 9.59 | 27 | 14.25 |
| 22 | 10.47 | | |
| 50 | 10.47 | | |
| 56 | 14.83 | | |
| 33 | 12.51 | | |
| 42 | 12.80 | | |
| 35 | 11.66 | | |
| 60 | 17.45 | | |
| 32 | 8.73 | | |
| 33 | 10.47 | | |
| 25 | 11.93 | | |
| 30 | 18.04 | | |
| 35 | 14.25 | | |

TABLA XIV. VALORES DEL LSA EN GRUPO CONTROL. (CONTINUACION)

| <u>Edad</u> | <u>\bar{x}</u> | <u>d s</u> | <u>n</u> |
|-------------|-----------------------------|------------|----------|
| < 30 | 14.18 | 3.03 | 48 |
| 30-40 | 13.67 | 2.95 | 56 |
| 40-50 | 12.75 | 2.79 | 35 |
| 50-60 | 13.28 | 2.79 | 15 |
| > 60 | 14.72 | 3.15 | 5 |
| TODOS | 13.61 | 2.95 | 159 |
| V | 13.84 | 3.14 | 111 |
| H | 13.90 | 2.39 | 48 |

TABLA XV. VALORES MEDIOS DE LSA EN INDIVIDUOS NORMALES CLASIFICADOS POR DECADAS Y SEXO.

| <u>LSA (mg%)</u> | <u>β2m (μg/ml)</u> |
|------------------|--------------------|
| 29.08 | 9.6 |
| 42.17 | 8.4 |
| 17.20 | 2.9 |
| 27.40 | 4.8 |
| 28.30 | 4.2 |
| 21.80 | 5.2 |
| 32.40 | 7.1 |
| 22.63 | 4.7 |
| 23.15 | 5.2 |
| 17.40 | 3.2 |
| 34.20 | 6.7 |
| 32.65 | 6.7 |
| 74.06 | 5.6 |
| 35.00 | 4.3 |
| 55.96 | 4.6 |
| 55.90 | 7.1 |
| 48.62 | 4.2 |
| 58.73 | 6.0 |
| 38.24 | 5.0 |
| 25.30 | 5.0 |
| 33.40 | 5.3 |
| 18.90 | 5.2 |
| 36.35 | 4.2 |
| 33.40 | 3.0 |
| 24.72 | 3.7 |
| 21.80 | 4.2 |
| 49.44 | 2.7 |
| 24.70 | 3.8 |
| 25.88 | 4.2 |
| 44.20 | 4.8 |

TABLA XVI. VALORES DE LSA Y β2m EN EL GRUPO PROBLEMA.

| <u>LSA (mg%)</u> | <u>β2m (μg/ml)</u> |
|------------------|--------------------|
| 29.08 | 2.7 |
| 72.10 | 10.1 |
| 28.62 | 4.2 |
| 36.20 | 4.2 |
| 29.77 | 2.4 |
| 21.30 | 2.8 |
| 55.40 | 10.1 |
| 23.27 | 2.4 |
| 29.03 | 3.3 |
| 26.17 | 1.9 |
| 36.35 | 2.8 |
| 17.64 | 2.3 |
| 20.06 | 2.1 |
| 41.59 | 8.8 |
| 29.08 | 2.3 |
| 43.60 | 3.2 |
| 29.08 | 3.4 |
| 47.10 | 2.9 |
| 44.20 | 3.2 |
| 15.87 | 1.9 |
| 32.50 | 3.5 |
| 34.90 | 8.4 |
| 53.50 | 3.2 |
| 35.77 | 2.8 |
| 35.40 | 2.4 |
| 11.90 | 1.7 |
| 14.30 | 1.9 |
| 26.17 | 1.4 |
| 22.45 | 1.6 |
| 60.50 | 4.2 |

TABLA XVI. VALORES DE LSA Y β2m EN EL GRUPO PROBLEMA.
(CONTINUACION)

| <u>LSA (mg%)</u> | <u>β 2m (μg/ml)</u> |
|------------------|---------------------|
| 23.65 | 6.9 |
| 33.70 | 3.8 |
| 15.50 | 2.2 |
| 16.20 | 2.6 |
| 33.20 | 3.0 |
| 13.20 | 1.3 |
| 26.75 | 4.1 |
| 21.37 | 1.2 |
| 19.20 | 1.4 |
| 17.74 | 1.9 |
| 16.87 | 2.1 |
| 18.32 | 2.3 |
| 20.07 | 2.4 |
| 27.16 | 5.0 |
| 20.95 | 2.5 |
| 32.57 | 2.1 |
| 34.32 | 5.0 |
| 33.95 | 2.8 |
| 19.50 | 3.4 |
| 22.50 | 2.3 |
| 24.72 | 2.7 |
| 39.85 | 2.4 |
| 25.02 | 2.8 |
| 33.44 | 2.1 |
| 22.10 | 3.5 |
| 20.06 | 1.9 |
| 20.65 | 1.7 |
| 17.45 | 1.5 |
| 22.40 | 3.1 |
| 16.58 | 2.0 |

TABLA XVI. VALORES DE LSA Y β2m EN EL GRUPO PROBLEMA.
(CONTINUACION)

| <u>LSA (mg%)</u> | <u>β 2m (μg/ml)</u> |
|------------------|---------------------|
| 22.69 | 1.4 |
| 17.45 | 2.0 |
| 23.27 | 2.7 |
| 21.81 | 1.3 |
| 22.98 | 5.3 |
| 32.58 | 3.6 |
| 18.91 | 5.2 |
| 16.58 | 1.7 |
| 13.67 | 2.5 |
| 37.85 | 5.5 |
| 35.64 | 5.3 |
| 60.31 | 9.7 |
| 14.56 | 3.2 |
| 39.57 | 5.4 |
| 30.48 | 4.7 |
| 35.68 | 5.8 |
| 28.54 | 4.6 |
| 20.36 | 5.6 |
| 25.35 | 3.2 |
| 20.50 | 2.1 |
| 28.32 | 4.9 |
| 24.45 | 4.1 |
| 31.40 | 5.3 |
| 21.26 | 3.1 |
| 31.44 | 4.0 |
| 29.57 | 3.0 |
| 25.55 | 2.1 |
| 27.61 | 3.1 |
| 25.80 | 4.1 |
| 30.57 | 3.6 |

TABLA XVI. VALORES DE LSA Y β2m EN EL GRUPO PROBLEMA.
(CONTINUACION)

| <u>LSA (mg%)</u> | <u>β2m (μg/ml)</u> |
|------------------|--------------------|
| 42.51 | 5.4 |
| 12.27 | 2.9 |
| 43.39 | 5.2 |
| 11.63 | 3.2 |
| 11.60 | 2.9 |
| 30.35 | 5.6 |
| 30.50 | 2.8 |
| 47.89 | 3.0 |
| 37.30 | 4.8 |
| 26.70 | 2.6 |
| 26.17 | 3.4 |
| 30.71 | 3.2 |
| 22.11 | 2.6 |
| 20.35 | 3.2 |
| 39.44 | 7.8 |
| 32.61 | 2.0 |
| 23.20 | 2.0 |
| 43.62 | 2.7 |
| 20.94 | 2.5 |
| 15.99 | 1.7 |
| 24.43 | 10.1 |
| 12.50 | 2.2 |
| 21.20 | 1.9 |
| 20.20 | 3.2 |
| 33.96 | 2.1 |
| 29.30 | 3.2 |
| 46.53 | 4.2 |
| 18.32 | 2.0 |
| 19.10 | 2.6 |
| 28.10 | 3.7 |

TABLA XVI. VALORES DE LSA Y β2m EN EL GRUPO PROBLEMA.
(CONTINUACION)

| <u>LSA (mg%)</u> | <u>β₂m (μg/ml)</u> |
|------------------|-------------------------------|
| 14.51 | 3.4 |
| 31.47 | 4.3 |
| 40.52 | 5.3 |
| 20.63 | 3.3 |
| 42.61 | 5.0 |
| 46.32 | 5.6 |
| 35.88 | 3.9 |

TABLA XVI. VALORES DE LSA Y β₂m EN EL GRUPO PROBLEMA.
(CONTINUACION).

| | | <u>\bar{x}</u> | <u>d s</u> | <u>n</u> | <u>p</u> |
|--------------------------|-----------------|-----------------------------|------------|----------|----------|
| LSA (mg%) | <u>Control</u> | 13.61 | 2.94 | 159 | 0.001 |
| | <u>Problema</u> | 29.31 | 11.85 | 156 | |
| β 2m (μ g/ml) | <u>Control</u> | 1.74 | 0.62 | 100 | 0.01 |
| | <u>Problema</u> | 3.77 | 1.92 | 156 | |

TABLA XVII. VALORES MEDIOS DE LSA Y β 2m EN EL GRUPO PROBLEMA.

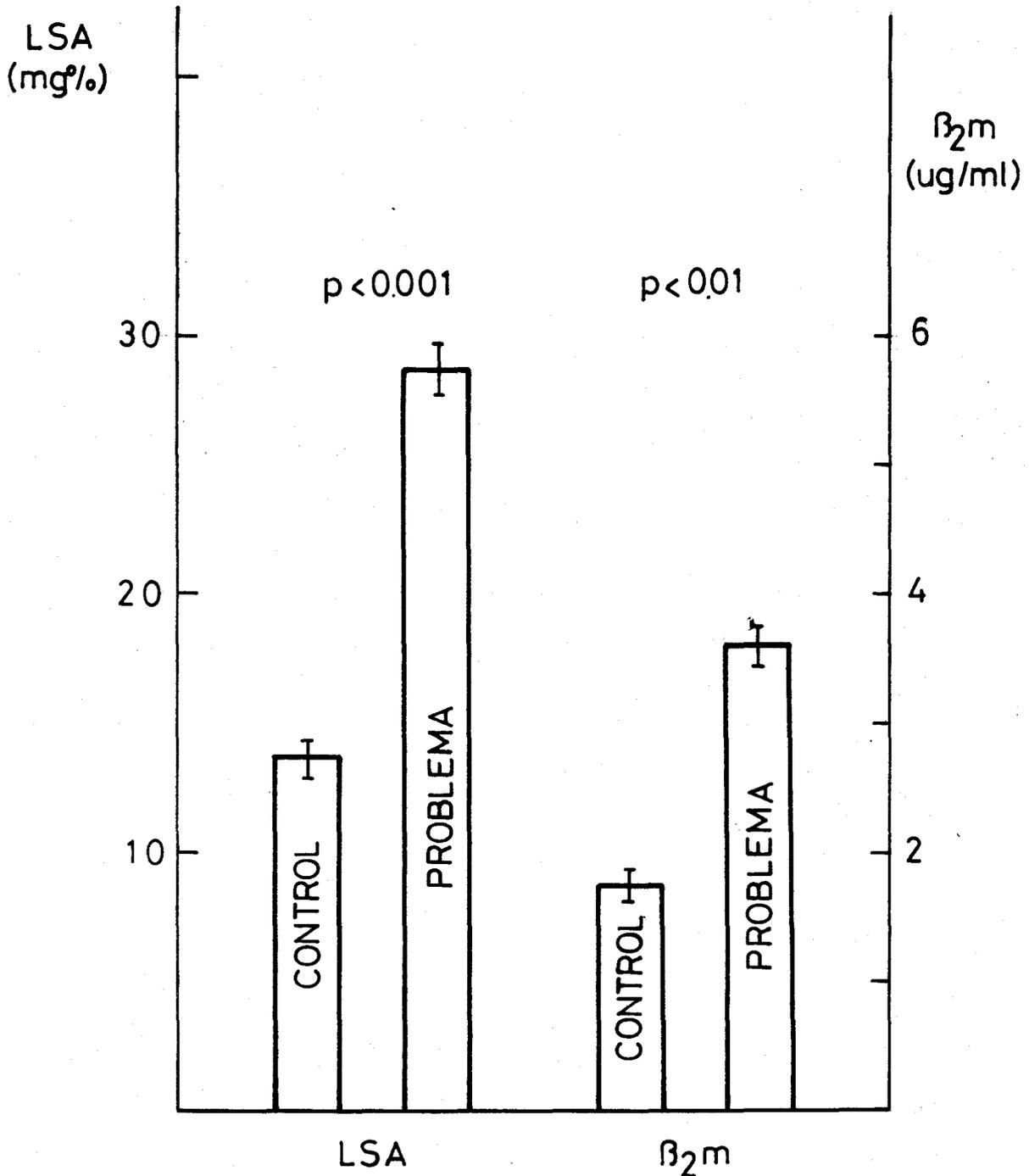


FIGURA 11

| | <u>SEXO</u> | <u>EDAD</u> | <u>LSA</u> | <u>β2m</u> |
|----|-------------|-------------|------------|------------|
| 1 | V | 33 | 74.06 | 5.6 |
| 2 | V | 53 | 55.96 | 4.6 |
| 3 | H | 21 | 48.62 | 4.2 |
| 4 | H | 22 | 49.44 | 2.7 |
| 5 | V | 22 | 47.89 | 3.0 |
| 6 | V | 52 | 29.08 | 2.3 |
| 7 | H | 33 | 44.20 | 3.2 |
| 8 | V | 24 | 32.50 | 3.5 |
| 9 | V | 15 | 35.77 | 2.8 |
| 10 | V | 50 | 35.40 | 2.4 |
| 11 | V | 45 | 26.17 | 1.4 |
| 12 | V | 15 | 22.45 | 1.6 |
| 13 | V | 52 | 23.65 | 6.9 |
| 14 | V | 53 | 33.20 | 3.0 |
| 15 | V | 41 | 22.50 | 2.3 |
| 16 | V | 35 | 20.06 | 2.0 |

TABLA XVIII. SEXO, EDAD, LSA Y β2m EN LA ENFERMEDAD DE HODGKIN.

| | | \bar{x} | d s | n | Edad (\bar{x}) | d s |
|------------|-------|-----------|-------|----|--------------------|-------|
| LSA | Todos | 37.56 | 14.82 | 16 | 35.38 | 14.25 |
| LSA | V | 35.28 | 15.60 | 13 | 37.69 | 14.68 |
| LSA | H | 47.42 | 2.82 | 3 | 25.33 | 6.66 |
| β 2m | Todos | 3.22 | 1.47 | 16 | | |
| β 2m | V | 3.18 | 1.61 | 3 | | |
| β 2m | H | 3.37 | 0.76 | 3 | | |

TABLA XIX. VALORES PROMEDIOS DE LSA, β 2m Y EDAD EN LA ENFERMEDAD DE HODGKIN.

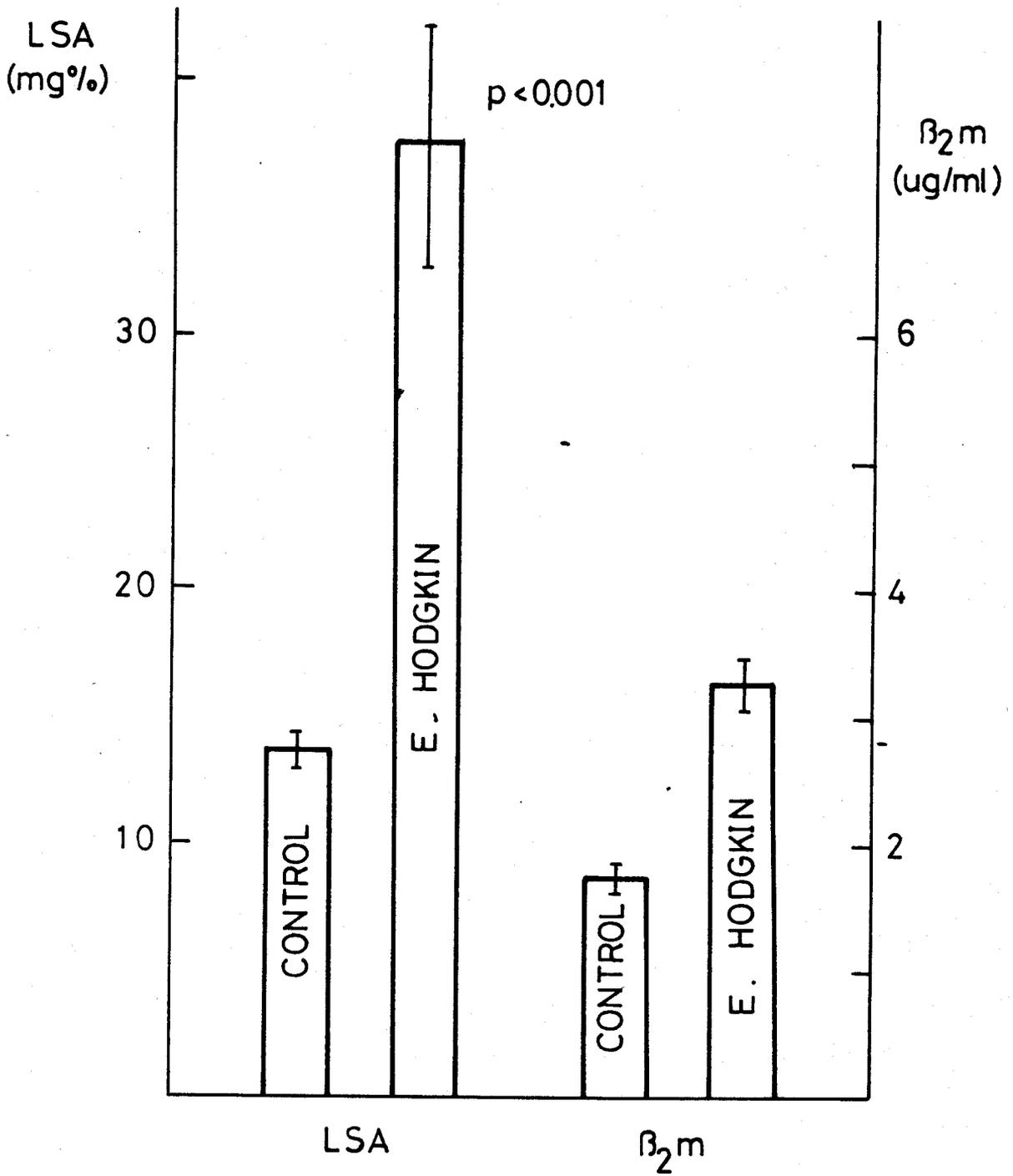


FIGURA 12

| | <u>Sexo</u> | <u>Edad</u> | <u>LSA (mg%)</u> | <u>β2m (μg/ml)</u> |
|----|-------------|-------------|------------------|--|
| 1 | V | 54 | 27.40 | 4.8 |
| 2 | V | 60 | 22.63 | 4.7 |
| 3 | V | 65 | 23.15 | 5.2 |
| 4 | V | 65 | 17.40 | 3.2 |
| 5 | V | 64 | 34.20 | 6.7 |
| 6 | V | 62 | 55.90 | 7.1 |
| 7 | V | 65 | 38.24 | 5.0 |
| 8 | V | 61 | 33.40 | 5.3 |
| 9 | V | 43 | 18.90 | 5.2 |
| 10 | V | 61 | 33.40 | 3.0 |
| 11 | V | 61 | 24.72 | 3.7 |
| 12 | V | 61 | 24.70 | 3.8 |
| 13 | H | 63 | 25.88 | 4.2 |
| 14 | V | 41 | 44.20 | 4.8 |
| 15 | V | 60 | 12.27 | 2.9 |
| 16 | V | 62 | 43.39 | 5.2 |
| 17 | V | 49 | 11.63 | 3.2 |
| 18 | V | 57 | 37.30 | 4.8 |
| 19 | V | 76 | 26.70 | 2.6 |
| 20 | V | 53 | 39.44 | 7.8 |
| 21 | H | 26 | 32.61 | 2.0 |
| 22 | V | 60 | 23.20 | 2.6 |
| 23 | V | 61 | 34.62 | 2.7 |
| 24 | V | 39 | 20.94 | 2.5 |
| 25 | V | 35 | 12.50 | 2.2 |
| 26 | V | 59 | 21.20 | 1.9 |
| 27 | V | 50 | 20.20 | 3.2 |
| 28 | V | 71 | 29.30 | 3.2 |
| 29 | V | 53 | 46.53 | 4.2 |
| 30 | V | 63 | 18.32 | 2.0 |

TABLA XX. EDAD, SEXO, LSA Y β 2m EN EL CANCER DE PULMON.

| | <u>Sexo</u> | <u>Edad</u> | <u>LSA (mg%)</u> | <u>β2m (µg/ml)</u> |
|----|-------------|-------------|------------------|--------------------|
| 31 | V | 77 | 19.10 | 2.6 |
| 32 | V | 47 | 28.10 | 3.7 |
| 33 | V | 43 | 29.08 | 2.7 |
| 34 | V | 60 | 29.77 | 2.4 |
| 35 | V | 51 | 21.30 | 2.8 |
| 36 | V | 66 | 23.27 | 2.4 |
| 37 | V | 61 | 36.35 | 2.8 |
| 38 | V | 63 | 20.06 | 2.1 |
| 39 | V | 56 | 43.60 | 3.2 |
| 40 | V | 62 | 47.10 | 2.9 |
| 41 | V | 54 | 15.87 | 1.9 |
| 42 | V | 58 | 53.50 | 3.2 |
| 43 | V | 56 | 11.90 | 1.7 |
| 44 | V | 49 | 14.30 | 2.0 |
| 45 | V | 53 | 15.50 | 2.1 |
| 46 | V | 59 | 24.72 | 2.6 |
| 47 | V | 68 | 25.02 | 2.8 |
| 48 | V | 59 | 33.44 | 2.1 |
| 49 | V | 67 | 32.40 | 3.1 |
| 50 | V | 62 | 23.27 | 2.7 |
| 51 | V | 64 | 22.98 | 5.3 |

TABLA XX. EDAD, SEXO, LSA Y β2m EN EL CANCER DE PULMON.
(CONTINUACION).

| | | \bar{x} | d s | n | Edad (\bar{x}) | d s |
|------------|-------|-----------|-------|----|--------------------|-------|
| LSA | Todos | 27.84 | 10.97 | 51 | 57.55 | 9.68 |
| LSA | V | 27.78 | 11.17 | 49 | 58.08 | 8.72 |
| LSA | H | 29.25 | 4.76 | 2 | 44.50 | 26.16 |
| β 2m | Todos | 3.47 | 1.42 | | | |
| β 2m | V | 3.48 | 1.43 | | | |
| β 2m | H | 3.10 | 1.55 | | | |

TABLA XXI. VALORES PROMEDIOS DE LSA, β 2m Y EDAD EN EL CANCER DE PULMON.

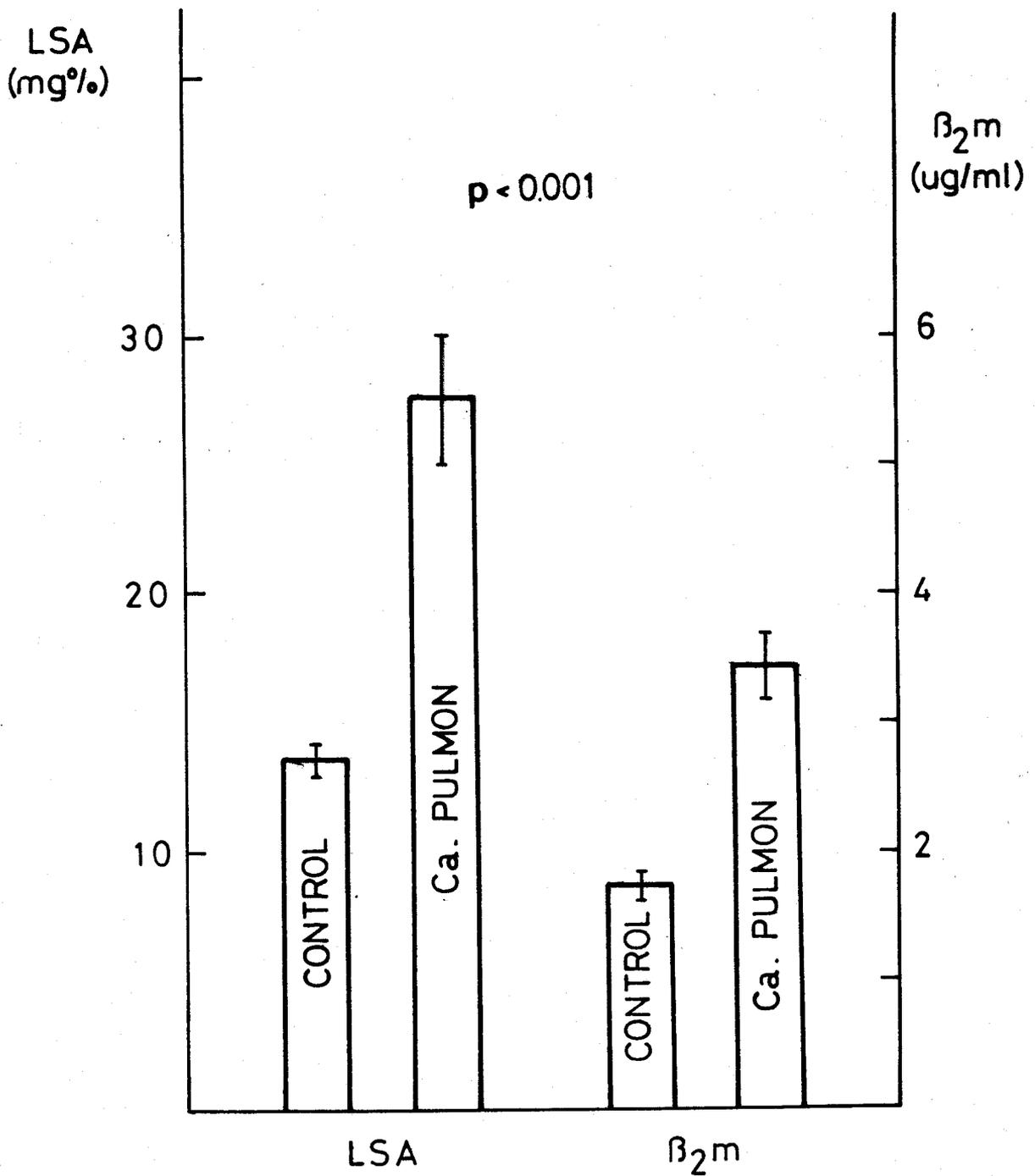


FIGURA 13

| | <u>Sexo</u> | <u>Edad</u> | <u>LSA (mg%)</u> | <u>β2m (μg/ml)</u> |
|----|-------------|-------------|------------------|--|
| 1 | V | 23 | 29.08 | 9.6 |
| 2 | V | 35 | 42.17 | 8.4 |
| 3 | V | 54 | 28.30 | 4.2 |
| 4 | V | 46 | 28.62 | 4.2 |
| 5 | H | 65 | 55.40 | 10.1 |
| 6 | H | 43 | 26.17 | 1.9 |
| 7 | H | 55 | 41.59 | 8.8 |
| 8 | V | 56 | 34.90 | 8.4 |
| 9 | V | 63 | 34.32 | 5.6 |
| 10 | H | 77 | 18.91 | 5.2 |
| 11 | V | 49 | 13.67 | 2.5 |

TABLA XXII. SEXO, EDAD, LSA Y β 2m EN LOS LINFOMAS.

| | | \bar{x} | d s | n | Edad (\bar{x}) | d s |
|------------|-------|-----------|-------|----|--------------------|-------|
| LSA | Todos | 32.10 | 11.54 | 11 | 51.55 | 14.79 |
| LSA | V | 30.15 | 8.78 | 7 | 46.71 | 13.60 |
| LSA | H | 35.51 | 16.28 | 4 | 60.00 | 14.47 |
| β 2m | Todos | 6.26 | 2.91 | | | |
| β 2m | V | 6.13 | 2.69 | | | |
| β 2m | H | 6.50 | 3.70 | | | |

TABLA XXIII. VALORES MEDIOS DE LA EDAD, LSA Y β 2m EN LOS LINFOMA

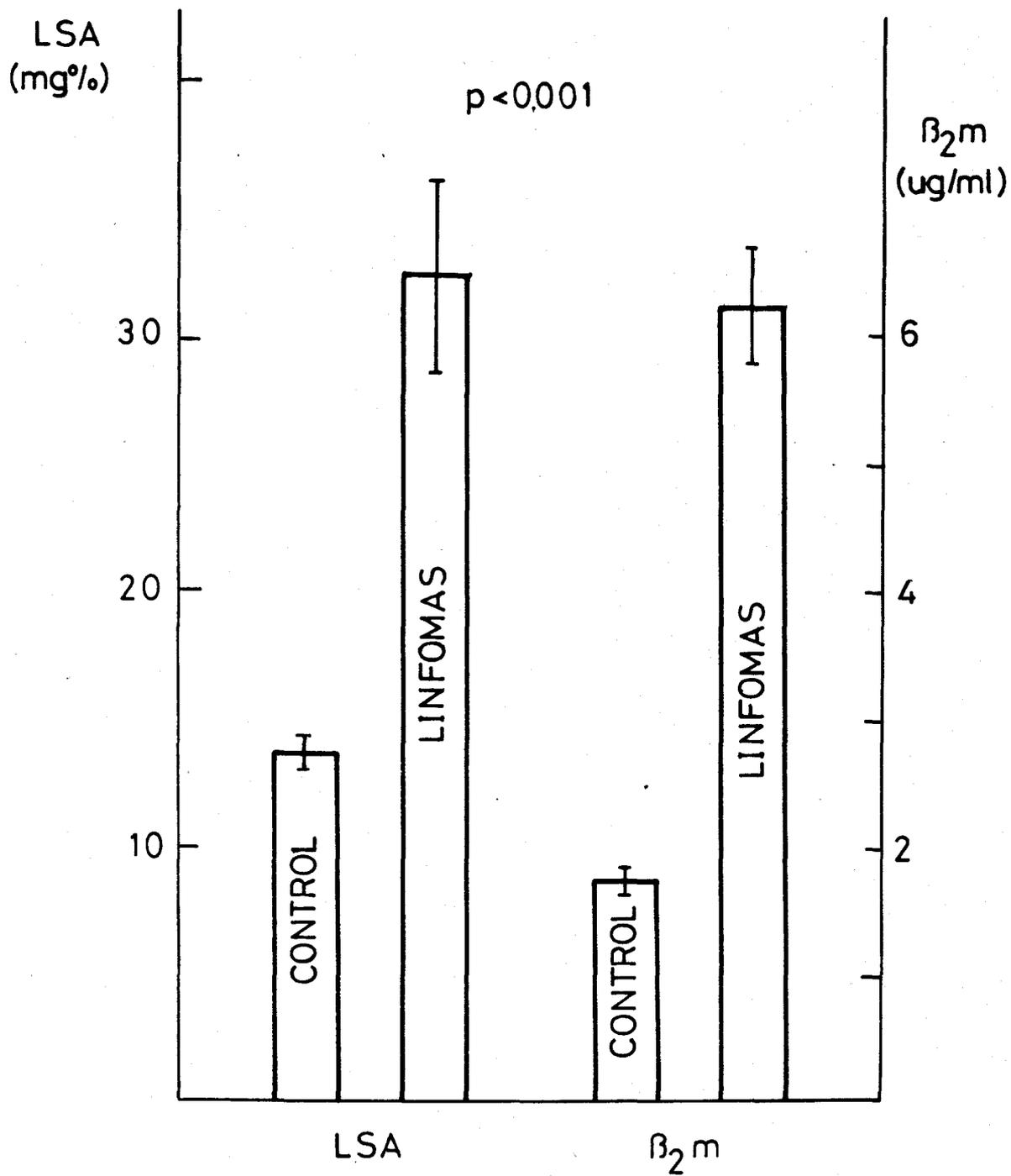


FIGURA 14

| | <u>Sexo</u> | <u>Edad</u> | <u>LSA (mg%)</u> | <u>β2m (μg/ml)</u> |
|----|-------------|-------------|------------------|--|
| 1 | V | 40 | 21.37 | 1.2 |
| 2 | V | 60 | 19.20 | 1.5 |
| 3 | V | 56 | 17.74 | 1.8 |
| 4 | V | 65 | 16.87 | 2.1 |
| 5 | V | 64 | 18.32 | 2.3 |
| 6 | V | 64 | 33.45 | 2.8 |
| 7 | V | 59 | 22.10 | 3.5 |
| 8 | V | 28 | 20.65 | 1.7 |
| 9 | H | 69 | 17.45 | 1.5 |
| 10 | V | 56 | 22.69 | 1.4 |
| 11 | V | 75 | 17.45 | 2.0 |
| 12 | H | 71 | 21.81 | 1.3 |

TABLA XXIV. EDAD, SEXO, LSA Y β 2m EN LOS MELANOMAS.

| | | \bar{x} | d s | n | Edad (\bar{x}) | d s |
|------------|-------|-----------|------|----|--------------------|-------|
| LSA | Todos | 20.76 | 4.50 | 12 | 58.92 | 13.24 |
| LSA | V | 20.98 | 4.83 | 10 | 56.70 | 13.00 |
| LSA | H | 19.63 | 3.08 | 2 | 70.00 | 1.41 |
| $\beta 2m$ | Todos | 1.93 | 0.68 | | | |
| $\beta 2m$ | V | 2.03 | 0.69 | | | |
| $\beta 2m$ | H | 1.40 | 0.14 | | | |

TABLA XXV. VALORES PROMEDIOS DE LSA, $\beta 2m$ Y EDAD EN LOS MELANOMAS

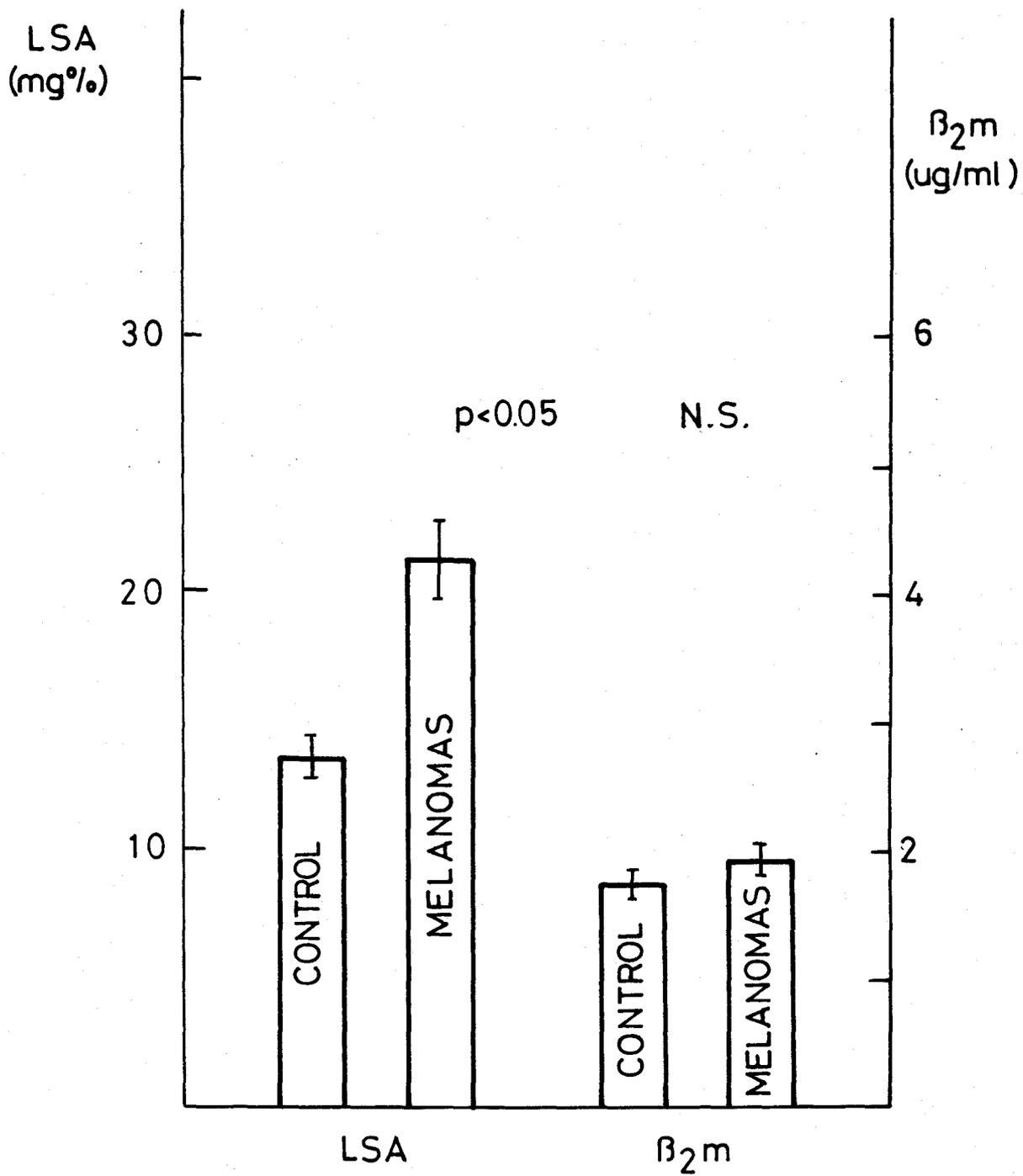


FIGURA 15

| | <u>Sexo</u> | <u>Edad</u> | <u>LSA (mg%)</u> | <u>β2m (μg/ml)</u> |
|---|-------------|-------------|------------------|--|
| 1 | H | 46 | 32.40 | 7.1 |
| 2 | H | 61 | 58.73 | 6.0 |
| 3 | V | 83 | 22.11 | 2.6 |
| 4 | V | 79 | 24.43 | 10.1 |
| 5 | H | 27 | 29.03 | 3.3 |
| 6 | H | 12 | 17.74 | 2.3 |
| 7 | H | 21 | 35.68 | 5.8 |
| 8 | V | 58 | 28.54 | 4.6 |

TABLA XXVI.EDAD, SEXO, LSA Y β 2m EN LAS LEUCEMIAS.

| | | \bar{x} | d s | n | Edad (\bar{x}) | d s |
|------------|-------|-----------|-------|---|--------------------|-------|
| LSA | Todos | 31.08 | 12.54 | 8 | 48.38 | 26.52 |
| LSA | V | 35.03 | 3.26 | 3 | 73.33 | 13.43 |
| LSA | H | 34.72 | 15.03 | 5 | 33.40 | 19.83 |
| β 2m | Todos | 5.23 | 2.61 | | | |
| β 2m | V | 5.77 | 3.89 | | | |
| β 2m | H | 4.90 | 2.01 | | | |

TABLA XXVII. VALORES MEDIOS DE LSA, β 2m Y EDAD EN LAS LEUCEMIAS.

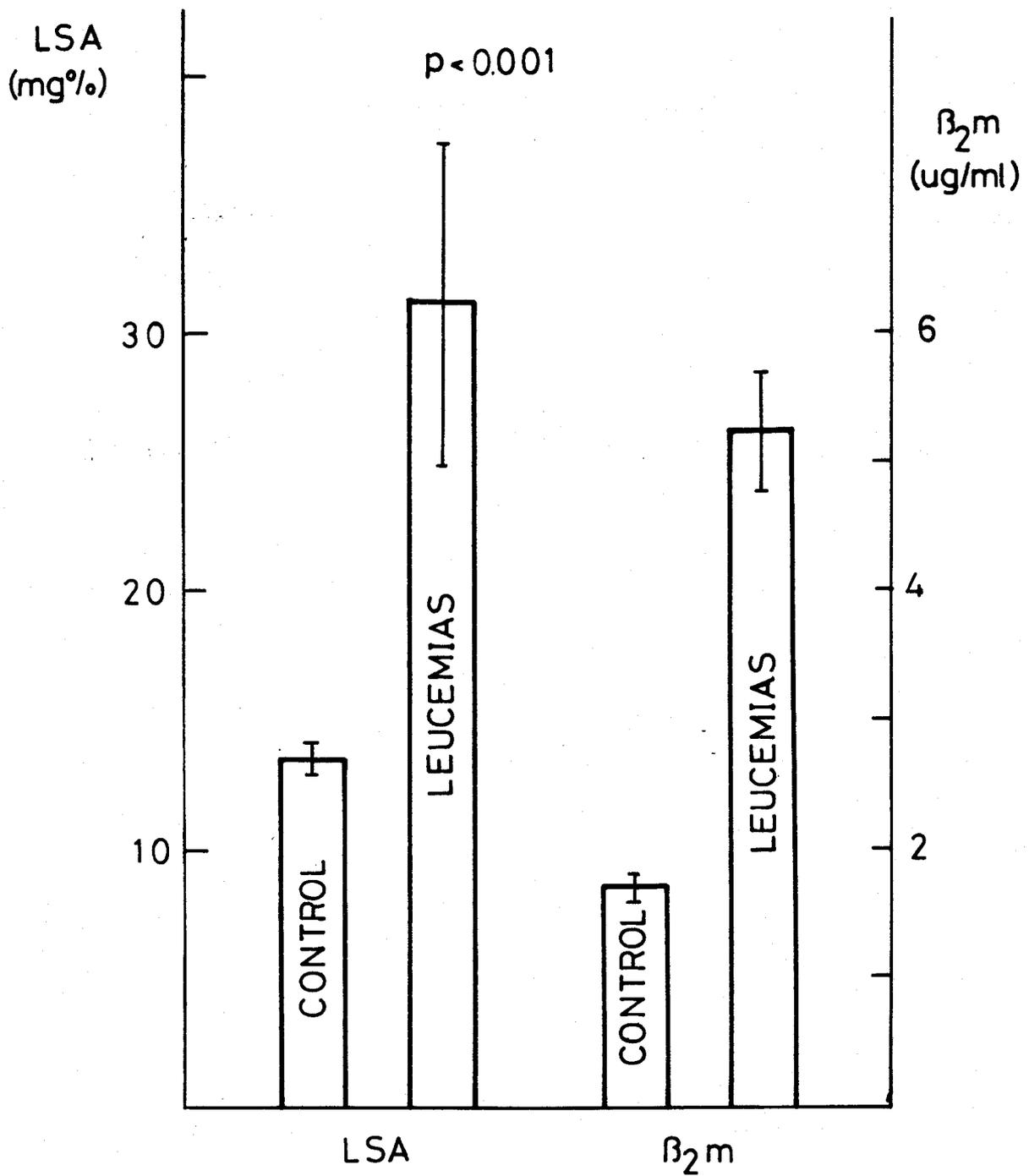


FIGURA 16

| | <u>Sexo</u> | <u>Edad</u> | <u>LSA (mg%)</u> | <u>β2m (μg/ml)</u> |
|---|-------------|-------------|------------------|--------------------|
| 1 | V | 54 | 15.99 | 1.7 |
| 2 | V | 77 | 29.08 | 3.4 |
| 3 | H | 64 | 13.20 | 1.3 |
| 4 | V | 56 | 26.75 | 4.1 |
| 5 | H | 63 | 20.07 | 2.4 |
| 6 | H | 52 | 32.58 | 3.6 |

TABLA XXVIII. EDAD, SEXO, LSA Y β2m EN EL CARCINOMA DE RECTO.

| | | \bar{x} | d s | n | Edad (\bar{x}) | d s |
|------------|-------|-----------|------|---|--------------------|-------|
| LSA | Todos | 22.95 | 7.70 | 6 | 61.00 | 9.21 |
| LSA | V | 23.94 | 6.98 | 3 | 62.33 | 12.74 |
| LSA | H | 21.95 | 9.82 | 3 | 59.67 | 6.65 |
| β 2m | Todos | 2.75 | 1.12 | | | |
| β 2m | V | 3.07 | 1.23 | | | |
| β 2m | H | 2.43 | 1.15 | | | |

TABLA XXIX. VALORES MEDIOS DE LA EDAD, LSA Y β 2m EN EL CARCINOMA DE RECTO.

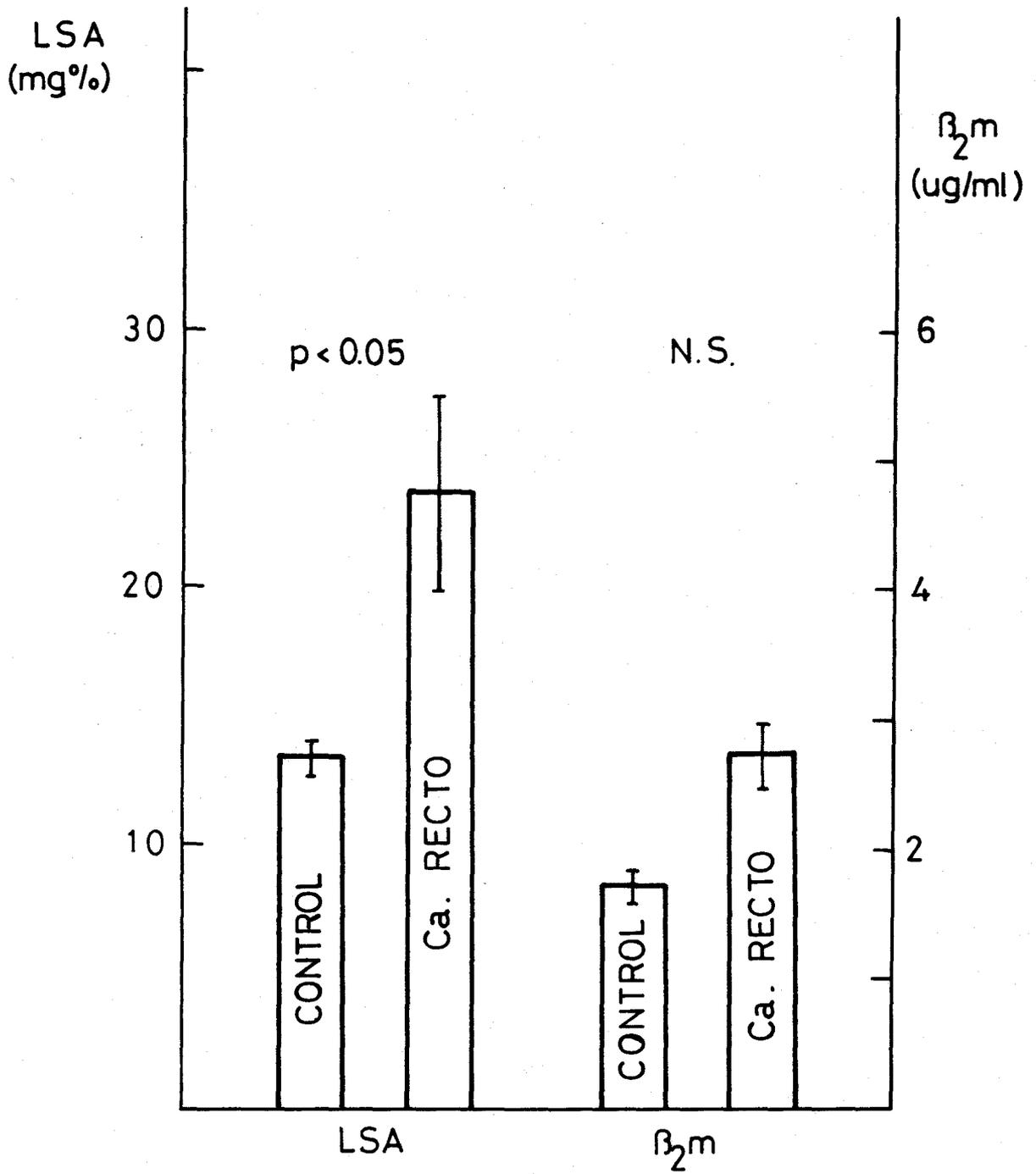


FIGURA 17

| | <u>Sexo</u> | <u>Edad</u> | <u>LSA (mg%)</u> | <u>β2m (μg/ml)</u> |
|---|-------------|-------------|------------------|--------------------|
| 1 | H | 59 | 30.50 | 2.8 |
| 2 | H | 63 | 19.50 | 3.4 |
| 3 | V | 49 | 39.85 | 2.4 |
| 4 | H | 64 | 16.58 | 1.7 |
| 5 | V | 61 | 20.36 | 5.6 |
| 6 | H | 56 | 25.35 | 3.2 |
| 7 | V | 72 | 20.50 | 2.1 |

TABLA XXX. EDAD, SEXO, LSA Y β2m EN EL CARCINOMA DE COLON.

| | | \bar{x} | d s | n | Edad (\bar{x}) | d s |
|------------|-------|-----------|-------|---|--------------------|-------|
| LSA | Todos | 24.66 | 8.09 | 7 | 60.57 | 7.14 |
| LSA | V | 26.90 | 11.21 | 3 | 60.67 | 11.50 |
| LSA | H | 22.98 | 6.20 | 4 | 60.50 | 3.70 |
| $\beta 2m$ | Todos | 3.03 | 1.28 | | | |
| $\beta 2m$ | V | 3.37 | 1.94 | | | |
| $\beta 2m$ | H | 2.78 | 0.76 | | | |

TABLA XXXI. VALORES MEDIOS DE LA EDAD, LSA Y $\beta 2m$ EN EL CARCINOMA DE COLON.

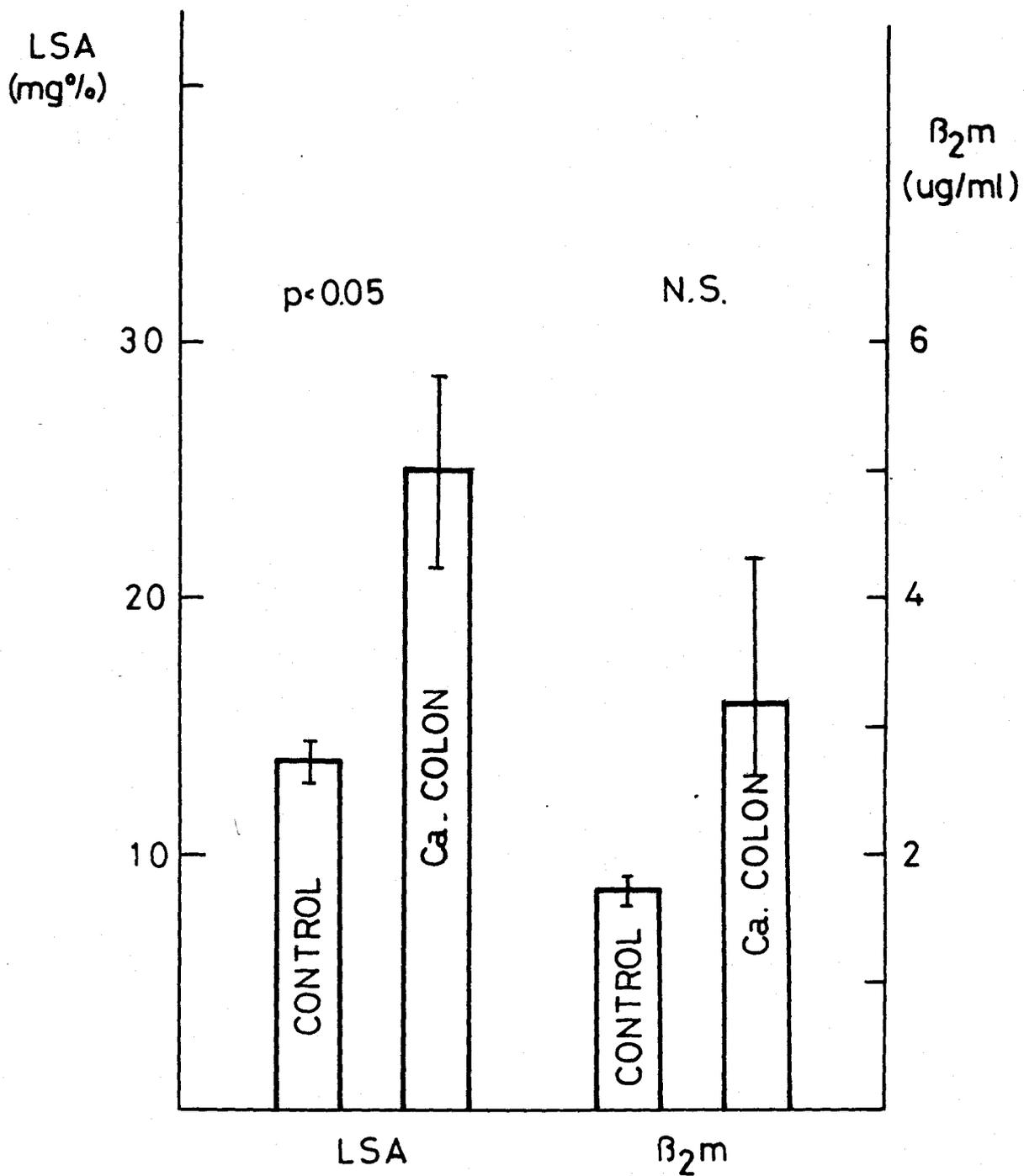


FIGURA 18

| | <u>Sexo</u> | <u>Edad</u> | <u>LSA (mg%)</u> | <u>β2m (μg/ml)</u> |
|---|-------------|-------------|------------------|--------------------|
| 1 | H | 67 | 32.65 | 6.7 |
| 2 | H | 46 | 11.60 | 2.9 |
| 3 | H | 60 | 26.17 | 3.4 |
| 4 | H | 27 | 33.96 | 2.1 |
| 5 | H | 79 | 27.16 | 5.0 |
| 6 | H | 62 | 28.32 | 4.9 |
| 7 | H | 59 | 24.45 | 4.1 |
| 8 | H | 53 | 31.40 | 5.3 |
| 9 | H | 64 | 21.26 | 3.1 |

TABLA XXXII. EDAD, SEXO, LSA Y β2m EN EL CANCER DE OVARIO

| | <u>\bar{x}</u> | <u>d s</u> | <u>n</u> | <u>Edad (\bar{x})</u> | <u>d s</u> |
|--------------|-----------------------------|------------|----------|------------------------------------|------------|
| LSA | 26.33 | 6.84 | 9 | 57.44 | 14.60 |
| β_{2m} | 4.17 | 1.43 | | | |

TABLA XXXIII. VALORES MEDIOS DE LA EDAD, LSA Y β_{2m} EN EL CANCER DE OVARIO.

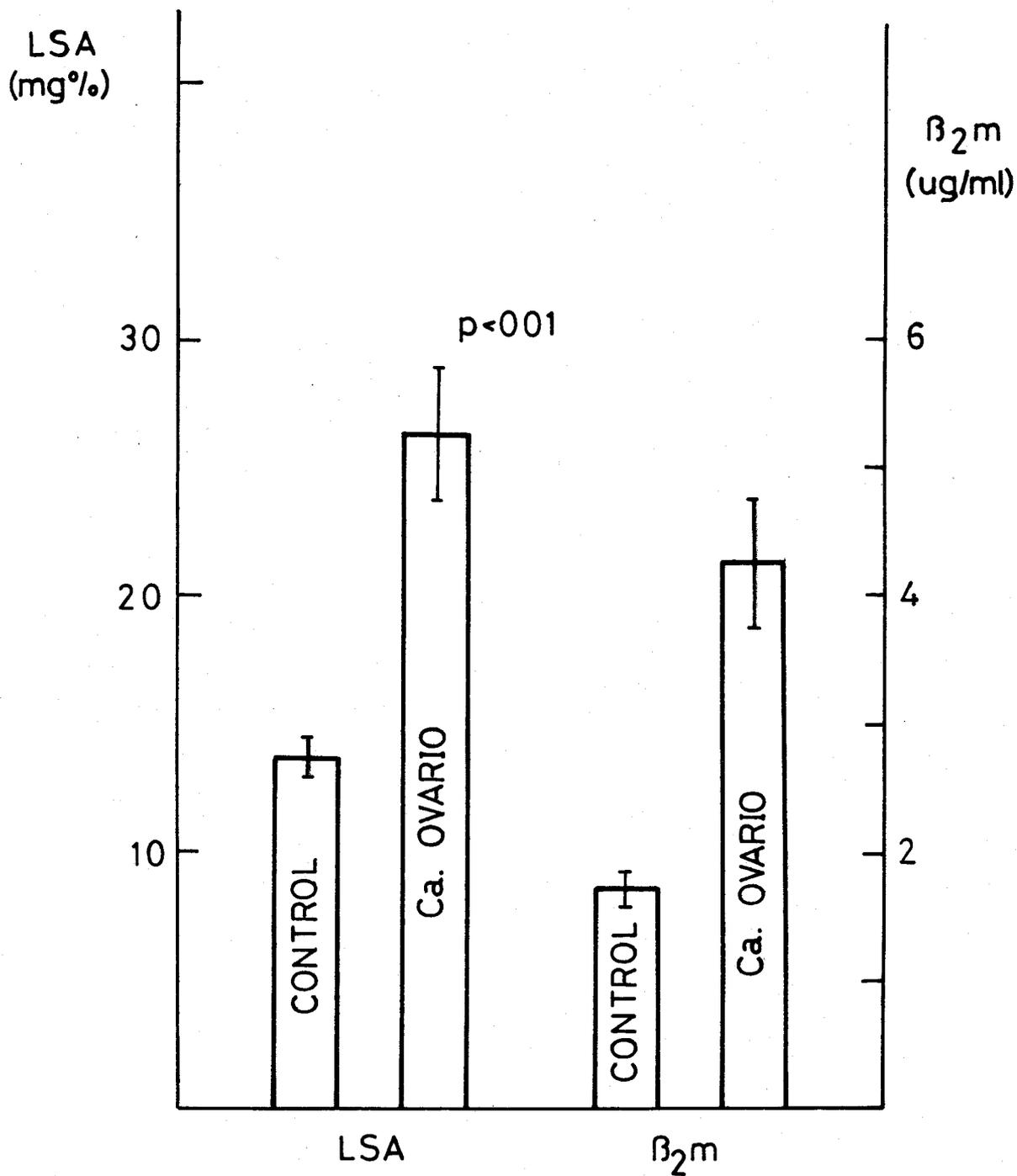


FIGURA 19

| | <u>Sexo</u> | <u>Edad</u> | <u>LSA (mg%)</u> | <u>β2m (μg/ml)</u> |
|---|-------------|-------------|------------------|--|
| 1 | H | 63 | 21.80 | 5.2 |
| 2 | V | 52 | 36.35 | 4.2 |
| 3 | V | 63 | 30.71 | 3.2 |
| 4 | H | 46 | 32.57 | 2.1 |
| 5 | V | 67 | 31.44 | 4.0 |
| 6 | V | 59 | 29.57 | 3.3 |
| 7 | V | 37 | 25.55 | 2.1 |
| 8 | V | 72 | 27.61 | 3.1 |
| 9 | V | 70 | 25.80 | 4.1 |

TABLA XXXIV. EDAD, SEXO, LSA Y β 2m EN EL CANCER GASTRICO.

| | <u>\bar{x}</u> | <u>d s</u> | <u>n</u> | <u>Edad (\bar{x})</u> | <u>d s</u> |
|------------------|-----------------------------|------------|----------|------------------------------------|------------|
| LSA Todos | 29.04 | 4.36 | 9 | 58.78 | 11.70 |
| LSA V | 29.57 | 3.76 | 7 | 60.00 | 12.22 |
| LSA H | 27.19 | 7.62 | 2 | 54.50 | 12.02 |
| β 2m Todos | 3.47 | 1.01 | | | |
| β 2m V | 3.43 | 0.74 | | | |
| β 2m H | 3.65 | 2.19 | | | |

TABLA XXXV. VALORES MEDIOS DE LA EDAD, LSA Y β 2m EN EL CANCER GASTRICO.

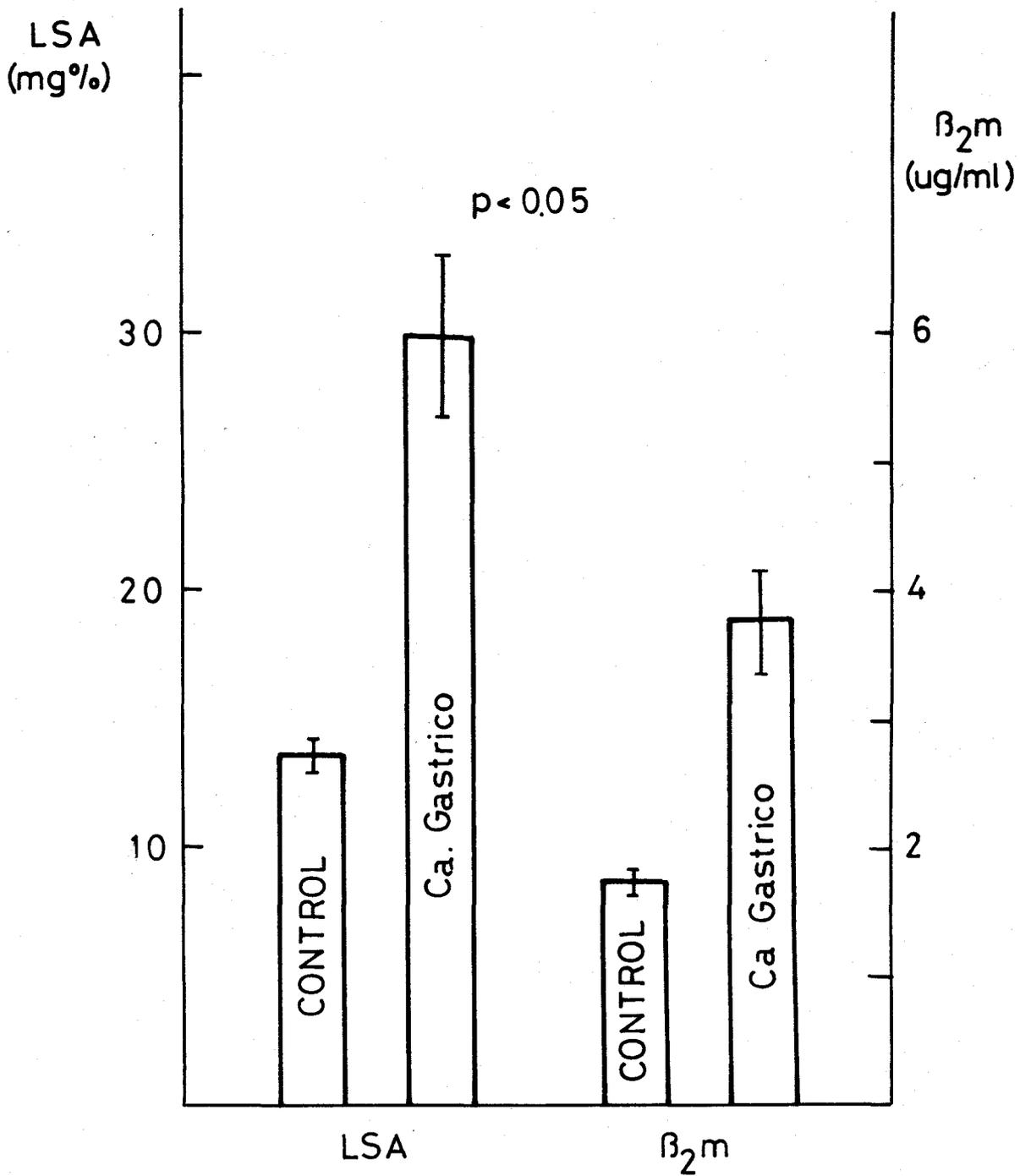


FIGURA 20

| | <u>Sexo</u> | <u>Edad</u> | <u>LSA (mg%)</u> | <u>β 2m (μg/ml)</u> |
|---|-------------|-------------|------------------|---------------------|
| 1 | H | 67 | 17.20 | 2.9 |
| 2 | V | 68 | 21.80 | 4.2 |
| 3 | V | 59 | 36.20 | 4.2 |
| 4 | V | 58 | 16.20 | 2.6 |
| 5 | V | 49 | 30.57 | 3.6 |
| 6 | H | 70 | 14.51 | 3.4 |

TABLA XXXVI. EDAD, SEXO, LSA Y β 2m EN MIELOMAS.

| | | \bar{x} | d s | n | Edad (\bar{x}) | d s |
|------------|-------|-----------|------|---|--------------------|------|
| LSA | Todos | 22.75 | 8.77 | 6 | 61.83 | 7.99 |
| LSA | V | 26.19 | 8.91 | 4 | 58.50 | 7.76 |
| LSA | H | 15.86 | 1.90 | 2 | 68.50 | 2.12 |
| β 2m | Todos | 3.48 | 0.66 | | | |
| β 2m | V | 3.65 | 0.76 | | | |
| β 2m | H | 3.15 | 0.35 | | | |

TABLA XXXVII. VALORES MEDIOS DE LSA Y β 2m EN LOS MIELOMAS.

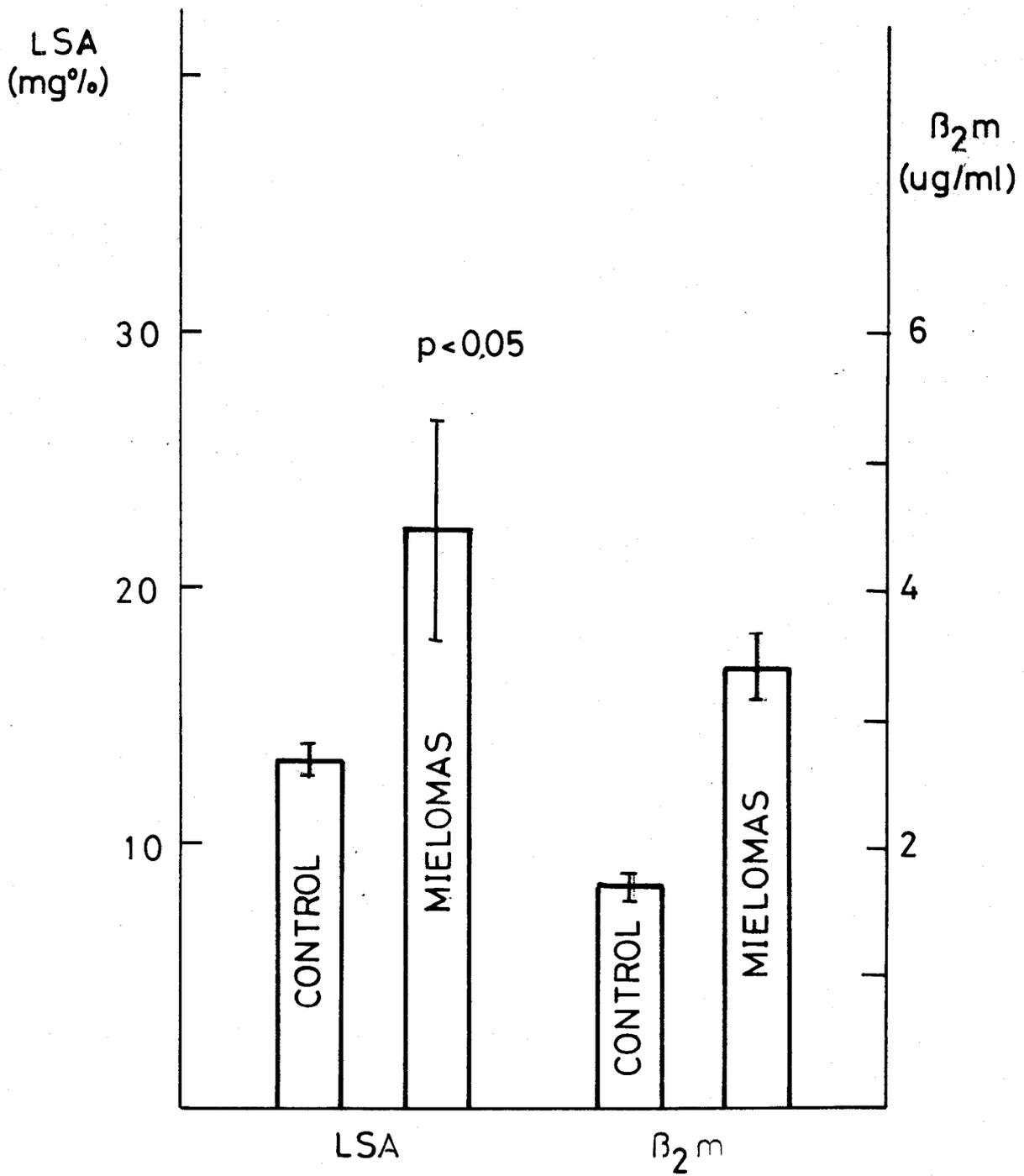


FIGURA 21

| | <u>Sexo</u> | <u>Edad</u> | <u>LSA (mg%)</u> | <u>β2m (μg/ml)</u> |
|---|-------------|-------------|------------------|--------------------|
| 1 | V | 72 | 25.30 | 5.1 |
| 2 | H | 53 | 42.51 | 5.4 |
| 3 | V | 74 | 20.95 | 2.5 |
| 4 | V | 48 | 31.47 | 4.3 |
| 5 | H | 65 | 40.52 | 5.3 |
| 6 | H | 62 | 20.63 | 3.3 |

TABLA XXXVIII. EDAD, SEXO, LSA Y β2m EN EL CARCINOMA DE PANCREAS.

| | | \bar{x} | d s | n | Edad (\bar{x}) | d s |
|------------|-------|-----------|-------|---|--------------------|-------|
| LSA | Todos | 30.23 | 9.60 | 6 | 62.33 | 10.29 |
| LSA | V | 25.91 | 5.29 | 3 | 64.67 | 14.49 |
| LSA | H | 34.55 | 12.09 | 3 | 60.00 | 6.25 |
| β 2m | Todos | 4.32 | 1.19 | | | |
| β 2m | V | 3.97 | 1.33 | | | |
| β 2m | H | 4.67 | 1.18 | | | |

TABLA XXXIX. VALORES MEDIOS DE LA EDAD, LSA Y β 2m EN EL CARCINOMA DE PANCREAS.

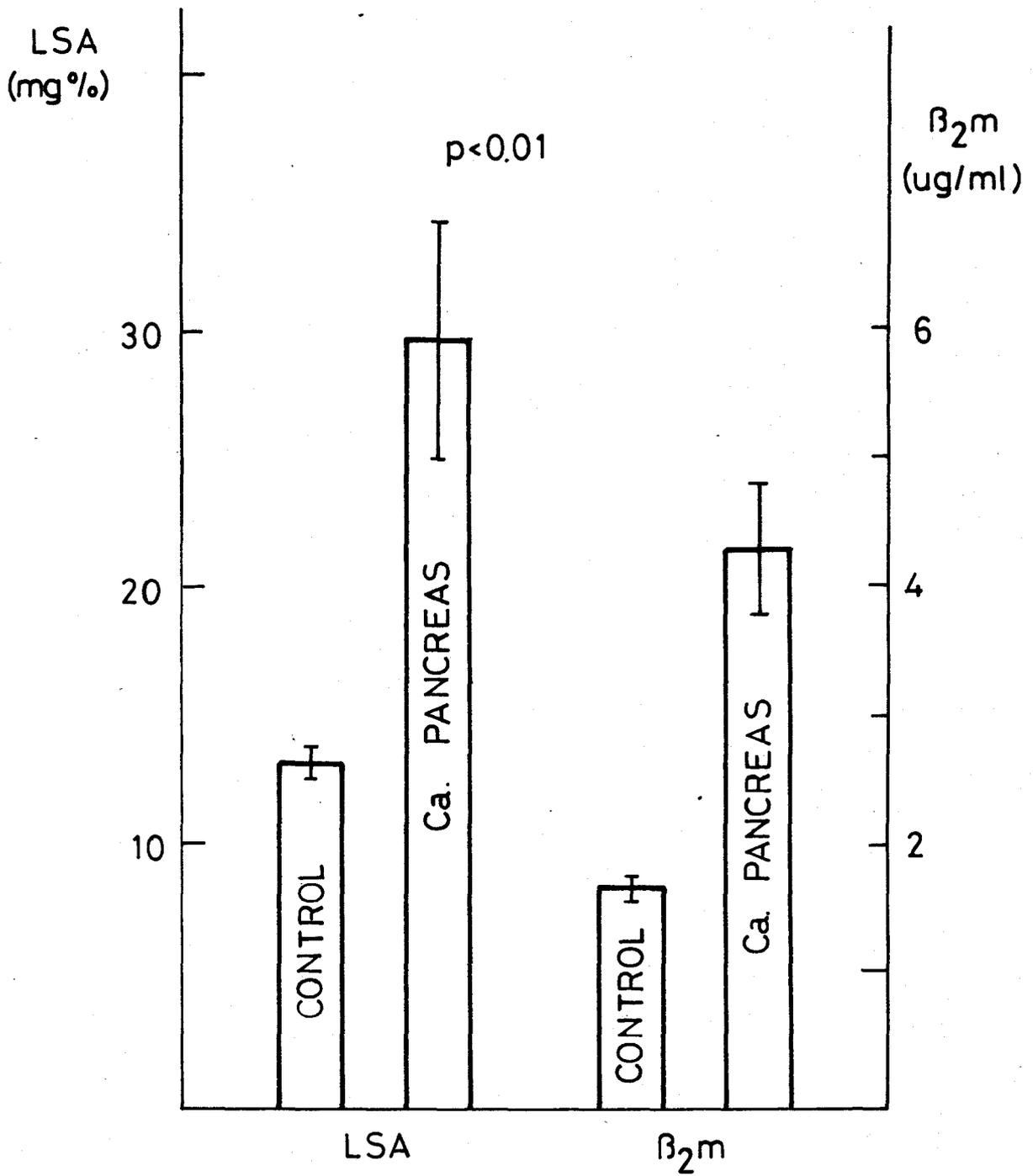


FIGURA 22

| | <u>Sexo</u> | <u>Edad</u> | <u>LSA (mg%)</u> | <u>β2m (μg/ml)</u> |
|---|-------------|-------------|------------------|--|
| 1 | V | 47 | 30.35 | 5.6 |
| 2 | V | 17 | 60.50 | 4.3 |
| 3 | V | 53 | 33.70 | 3.8 |
| 4 | V | 55 | 42.61 | 5.6 |
| 5 | V | 65 | 46.32 | 5.3 |
| 6 | V | 50 | 35.88 | 3.9 |

TABLA XL. EDAD, SEXO, LSA Y β 2m EN HEPATOCARCINOMAS.

| | | <u>\bar{x}</u> | <u>d s</u> | <u>n</u> | <u>Edad (\bar{x})</u> | <u>d s</u> |
|-----|---|-----------------------------|------------|----------|------------------------------------|------------|
| LSA | V | 41.56 | 10.97 | 6 | 47.83 | 16.30 |
| 82m | V | 4.75 | 0.85 | | | |

TABLA XLI. VALORES MEDIOS DE EDAD, LSA Y 82m EN EL HEPATOCARCINOMA

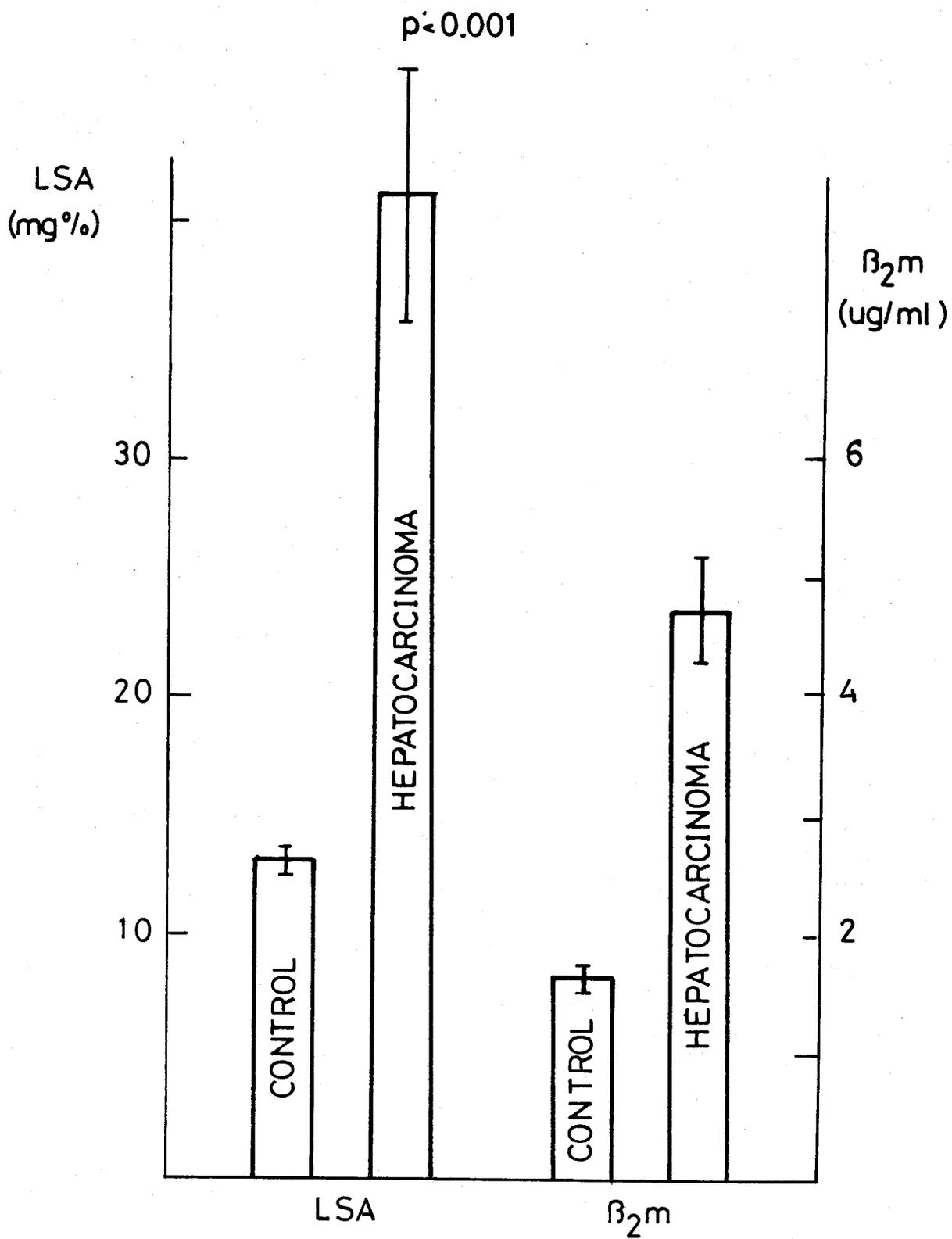


FIGURA 23

| | <u>Sexo</u> | <u>Edad</u> | <u>LSA (mg%)</u> | <u>β2m (μg/ml)</u> |
|---|-------------|-------------|------------------|--|
| 1 | H | 64 | 20.35 | 3.2 |
| 2 | H | 55 | 72.10 | 10.1 |
| 3 | H | 49 | 16.58 | 2.0 |
| 4 | H | 42 | 37.85 | 5.5 |
| 5 | H | 57 | 35.64 | 5.3 |
| 6 | H | 59 | 60.31 | 9.7 |
| 7 | H | 45 | 14.56 | 3.2 |
| 8 | H | 53 | 39.57 | 5.4 |
| 9 | H | 38 | 30.48 | 4.7 |

TABLA XLII. EDAD, SEXO, LSA Y β 2m EN EL CARCINOMA DE MAMA.

| | | \bar{x} | d s | n | Edad (\bar{x}) | d s |
|-----|---|-----------|-------|---|--------------------|------|
| LSA | H | 36.38 | 19.43 | 9 | 51.33 | 8.50 |
| 82m | H | 5.46 | 2.79 | | | |

TABLA XLIII. VALORES MEDIOS DE LA EDAD, LSA Y 82m EN EL CARCINOMA DE MAMA.

p < 0.001

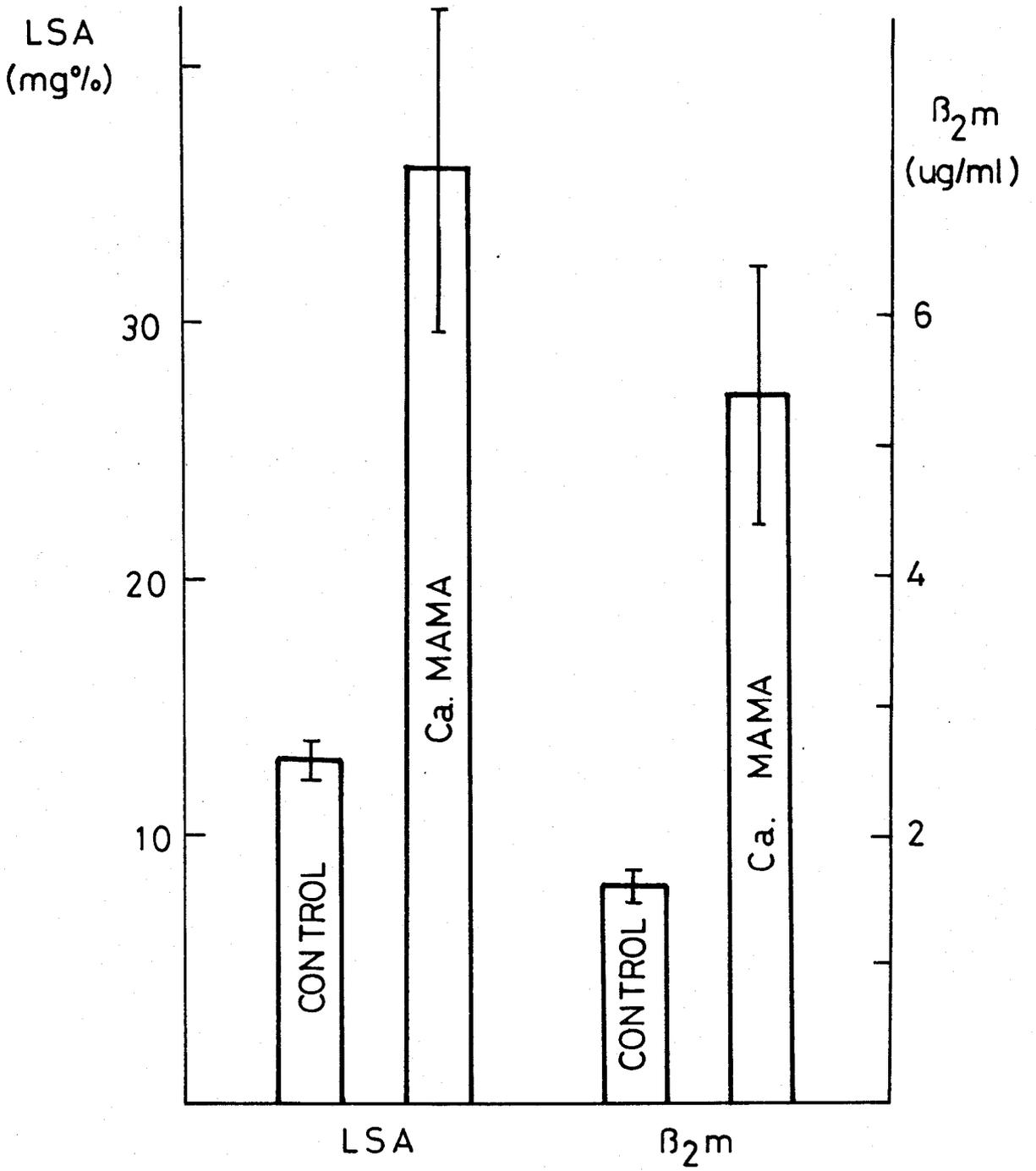


FIGURA 24

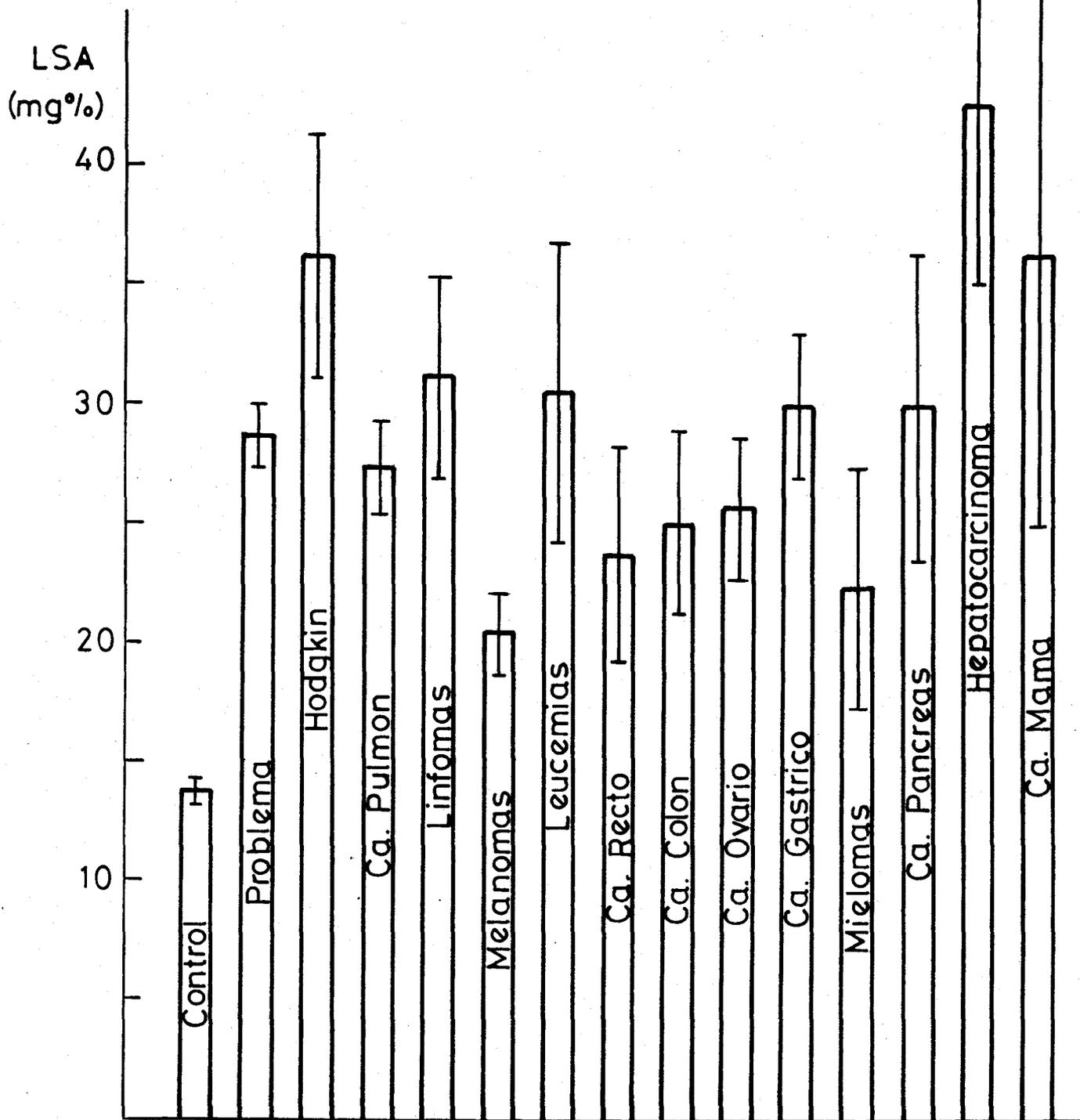


FIGURA 25 Valor promedio del LSA en la poblacion estudiada.

$\beta_2 m$
(ug/ml)

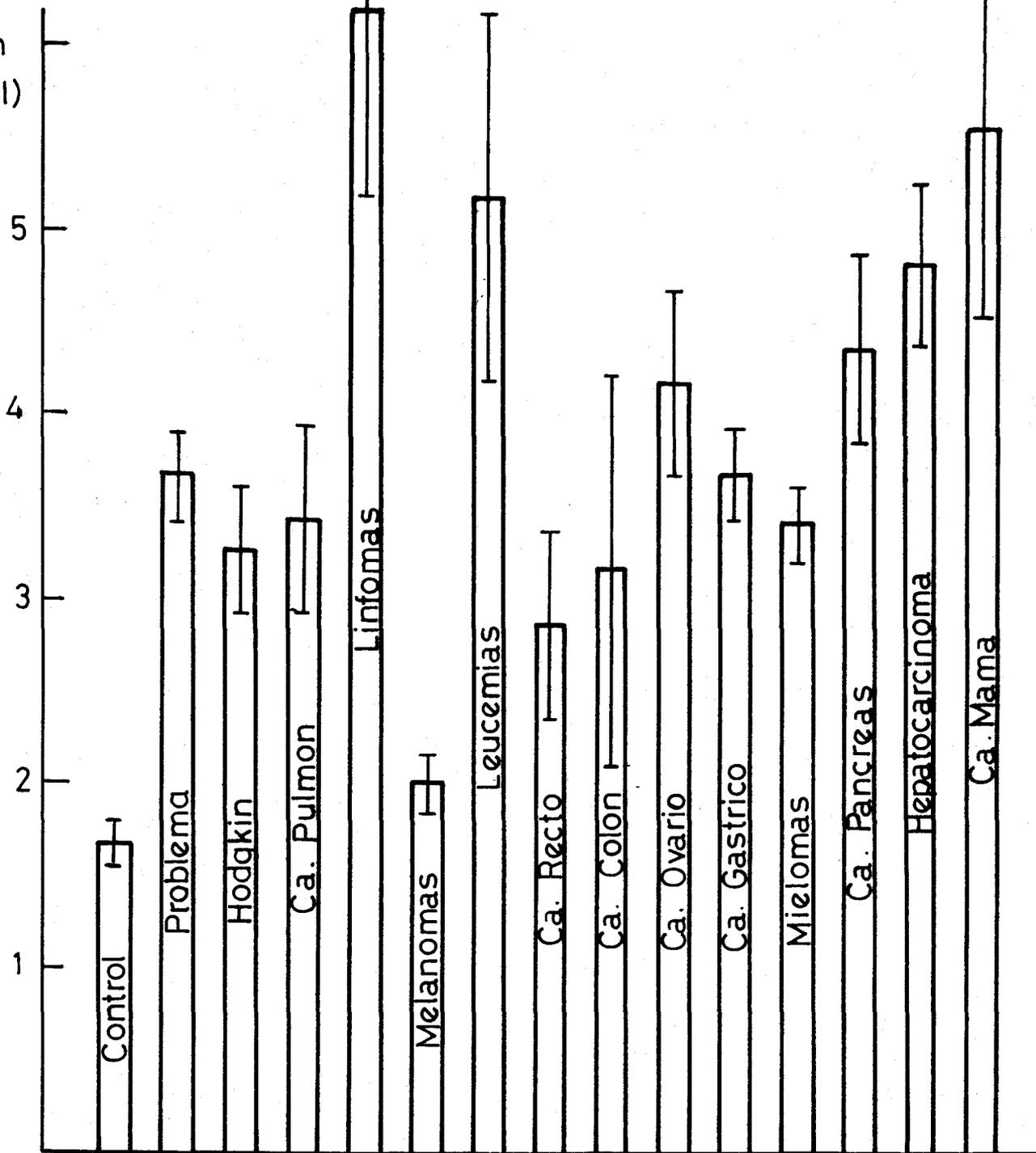


FIGURA 26 Valor promedio de $\beta_2 m$ en la poblacion estudiada

Cuando se aplica el test de rango múltiple mediante el procedimiento de Student-Newman-Keuls con el fin de comprobar no ya solo si existe significación estadística entre los grupos formados y el grupo control, sino si existen diferencias entre cada uno de los grupos, observamos que para el LSA cuando el límite de significación se pone en el nivel 0.05 aparecen diferencias entre las siguientes parejas de grupos.

Hepatocarcinoma - Melanoma
 Hepatocarcinoma - Mieloma
 Hepatocarcinoma - Cáncer de Recto
 Hepatocarcinoma - Cáncer de Colon
 Hepatocarcinoma - Cáncer de Ovario
 Hepatocarcinoma - Cáncer de Pulmón
 Hepatocarcinoma - Cáncer Gástrico

Enfermedad de Hodgkin - Melanoma
 Enfermedad de Hodgkin - Mieloma
 Enfermedad de Hodgkin - Cáncer de Recto
 Enfermedad de Hodgkin - Cáncer de Ovario
 Enfermedad de Hodgkin - Cáncer de Pulmón

Cáncer mama - Melanoma
 Cáncer mama - Mieloma
 Cáncer mama - Cáncer de Recto
 Cáncer mama - Cáncer de Pulmón

Linfoma - Melanoma

y evidentemente el grupo control con todos y cada uno de los grupos.

Cuando bajamos el límite a una significación de 0.01 aparecen las siguientes parejas:

Hepatocarcinoma - Melanoma
 Hepatocarcinoma - Mieloma
 Hepatocarcinoma - Cáncer de Ovario

Enfermedad de Hodgkin - Melanoma

Enfermedad de Hodgkin - Mieloma

Cáncer de mama - Cáncer de Pulmón

y el grupo control con cada uno de los grupos.

Por último cuando se fuerza la significación a $p < 0.01$ solo aparecen distintos significativamente el grupo control y cada / una de las patologías estudiadas.

Con lo que respecta a la β_2m para un límite de $p < 0.05$ aparecen significativamente distintas las siguientes parejas de grupos:

Linfoma - Melanoma

Linfoma - Cáncer de Recto

Linfoma - Cáncer de Colon

Linfoma - Enfermedad de Hodgkin

Linfoma - Cáncer de Pulmón

Linfoma - Cáncer Gástrico

Linfoma - Mieloma

Linfoma - Cáncer de Ovario

Linfoma - Cáncer de Páncreas

Cáncer de mama - Melanoma

Cáncer de mama - Cáncer de Recto

Cáncer de mama - Cáncer de Colon

Cáncer de mama - Enfermedad de Hodgkin

Cáncer de mama - Cáncer de Pulmón

Cáncer de mama - Cáncer Gástrico

Leucemia - Melanoma

Leucemia - Cáncer de Recto

Leucemia - Cáncer de Colon

Leucemia - Enfermedad de Hodgkin

Leucemia - Cáncer de Pulmón

Hepatocarcinoma - Melanoma
 Cáncer de Páncreas - Melanoma
 Cáncer de Ovario - Melanoma
 Cáncer de Pulmón - Melanoma

y el grupo control con todos los grupos excepto melanoma, cáncer de Recto y cáncer de Colon.

Cuando el límite de significación se baja a 0.01 las parejas de grupos significativamente distintos son:

Linfoma - Melanoma
 Linfoma - Enfermedad de Hodgkin
 Linfoma - Cáncer de Pulmón
 Linfoma - Grupo Control

Cáncer de mama - Melanoma
 Cáncer de mama - Grupo Control

Leucemia - Melanoma
 Leucemia - Grupo Control

Hepatocarcinoma - Grupo Control

Cáncer de Pulmón - Grupo Control

Cuando por último el límite se lleva a una $p < 0.001$ las parejas resultantes son las siguientes:

Linfomas - Melanomas
 Linfomas - Cáncer de Pulmón
 Linfomas - Grupo Control

Cáncer de mama - Melanoma
 Cáncer de mama - Grupo Control

Leucemia - Grupo Control

Cáncer de Pulmón - Grupo Control

A partir de la Tabla XLIV y hasta la LV figuran los valores de LSA y $\beta 2m$ en las distintas patologías estudiadas según los / distintos estadios de la enfermedad; el hecho de que existan pocos valores dentro de cada uno de los estadios, impiden que podamos realizar un estudio estadístico con el fin de comprobar si / existen diferencias estadísticamente significativas entre uno y otro (Figuras 27 a 38).

A la vista de los resultados parece ser que a medida de que la enfermedad avanza los valores sufren un incremento y con el / fin de comprobarlo de una forma general hemos agrupado todos los resultados de todas las neoplasias estudiadas por estadios quedando los resultados reflejados en la Tabla LVI.

Puede comprobarse como efectivamente a medida que la enfermedad avanza se producen incrementos tanto del LSA como de la / $\beta 2m$; ignoramos por el motivo antes mencionado si esas diferencias tienen o no significación estadística, pero lo que si esta claro es que los valores medios obtenidos para dichos parámetros distan mucho de las cifras obtenidas en el grupo control (Figura 38). Desde el punto de vista clínico la distinción entre un estadio y otro viene definida en términos claros, pero desde el / punto de vista bioquímico, la presencia de una enfermedad neoplásica hace que se incrementen en mayor o menor cantidad los valores de LSA y $\beta 2m$, pero ese incremento no parece estar relacionado con el tamaño de la masa tumoral.

| | <u>LSA</u> | <u>β2m</u> |
|--------------------|------------|-----------------------------|
| <u>ESTADIO I</u> | - | - |
| <u>ESTADIO II</u> | | |
| 1 | 48.62 | 4.2 |
| 2 | 49.44 | 2.7 |
| 3 | 44.20 | 3.2 |
| 4 | 32.50 | 3.0 |
| <u>ESTADIO III</u> | | |
| 1 | 55.96 | 4.6 |
| 2 | 26.17 | 1.5 |
| 3 | 33.20 | 3.0 |
| 4 | 22.50 | 2.3 |
| 5 | 20.06 | 1.7 |
| <u>ESTADIO IV</u> | | |
| 1 | 47.89 | 3.0 |
| 2 | 29.08 | 2.3 |
| 3 | 35.77 | 2.9 |
| 4 | 35.40 | 2.4 |
| 5 | 23.65 | 6.9 |
| 6 | 74.06 | 5.6 |
| 7 | 22.45 | 1.6 |

| | | n | \bar{x} | D.S. |
|-------------|------------|---|-----------|-------|
| ESTADIO I | LSA | - | - | - |
| | β 2m | - | - | - |
| ESTADIO II | LSA | 4 | 43.69 | 6.76 |
| | β 2m | 4 | 3.27 | 0.56 |
| ESTADIO III | LSA | 5 | 31.58 | 12.97 |
| | β 2m | 5 | 2.62 | 1.1 |
| ESTADIO IV | LSA | 7 | 38.32 | 16.63 |
| | β 2m | 7 | 3.52 | 1.81 |

TABLA XLIV. VALORES DE LSA Y β 2m EN LA ENFERMEDAD DE HODGKIN SEGUN LOS DISTINTOS ESTADIOS.

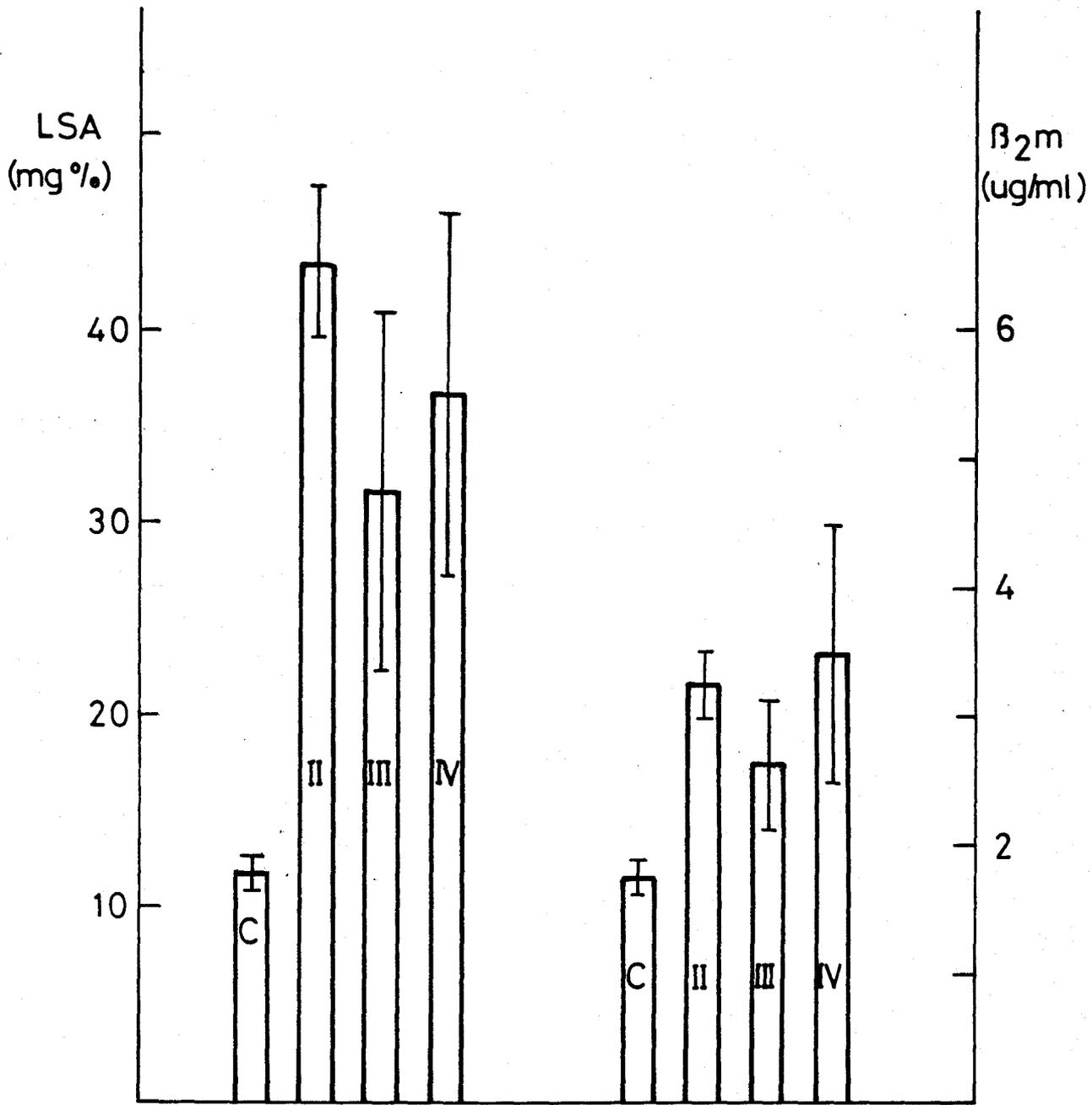


FIGURA 27

HODGKIN

| | <u>LSA</u> | <u>β2m</u> |
|--------------------|------------|------------|
| <u>ESTADIO I</u> | | |
| 1 | 20.94 | 2.5 |
| 2 | 23.20 | 2.6 |
| 3 | 33.44 | 2.1 |
| <u>ESTADIO II</u> | | |
| 1 | 22.63 | 4.7 |
| 2 | 23.15 | 5.2 |
| 3 | 24.70 | 3.8 |
| 4 | 44.20 | 4.8 |
| 5 | 11.63 | 3.2 |
| 6 | 12.50 | 2.2 |
| 7 | 19.10 | 2.6 |
| 8 | 28.10 | 3.7 |
| 9 | 29.77 | 2.4 |
| 10 | 21.30 | 2.8 |
| 11 | 36.35 | 2.8 |
| 12 | 15.50 | 2.2 |
| 13 | 24.72 | 2.6 |
| 14 | 23.27 | 2.7 |
| 15 | 25.02 | 2.8 |
| <u>ESTADIO III</u> | | |
| 1 | 34.20 | 6.7 |
| 2 | 55.90 | 7.1 |
| 3 | 24.72 | 3.7 |
| 4 | 25.88 | 4.2 |
| 5 | 43.39 | 5.2 |
| 6 | 37.30 | 4.8 |
| 7 | 20.20 | 3.2 |
| 8 | 29.08 | 2.7 |
| 9 | 23.27 | 2.4 |
| 10 | 43.60 | 3.2 |

TABLA XLV. VALORES DE LSA Y β2m EN EL CANCER DE PULMON SEGUN
LOS DISTINTOS ESTADIOS DE LA ENFERMEDAD.

| | <u>LSA</u> | <u>β 2m</u> |
|----|------------|------------------------------|
| 11 | 14.30 | 2.0 |
| 12 | 20.06 | 2.1 |
| 13 | 33.40 | 3.0 |
| 14 | 15.87 | 1.9 |
| 15 | 22.40 | 3.1 |
| 16 | 22.98 | 5.3 |

ESTADIO IV

| | | |
|----|-------|-----|
| 1 | 27.40 | 4.8 |
| 2 | 17.40 | 3.2 |
| 3 | 38.24 | 5.3 |
| 4 | 18.90 | 5.2 |
| 5 | 12.27 | 2.9 |
| 6 | 26.70 | 2.6 |
| 7 | 39.44 | 7.8 |
| 8 | 34.62 | 2.7 |
| 9 | 21.20 | 1.9 |
| 10 | 46.53 | 4.2 |
| 11 | 18.32 | 2.0 |
| 12 | 29.30 | 3.2 |
| 13 | 32.61 | 2.0 |
| 14 | 47.10 | 2.9 |
| 15 | 53.50 | 3.2 |
| 16 | 11.90 | 3.2 |
| 17 | 33.40 | 5.3 |

| | | n | \bar{x} | D.S. |
|-------------|------------|----|-----------|-------|
| ESTADIO I | LSA | 3 | 25.86 | 5.44 |
| | β 2m | 3 | 2.40 | 0.22 |
| ESTADIO II | LSA | 15 | 24.13 | 8.18 |
| | β 2m | 15 | 3.23 | 0.95 |
| ESTADIO III | LSA | 16 | 29.15 | 11.02 |
| | β 2m | 16 | 3.78 | 1.57 |
| ESTADIO IV | LSA | 17 | 29.93 | 12.05 |
| | β 2m | 17 | 3.57 | 1.56 |

TABLA XLV. VALORES DE LSA Y β 2m EN EL CANCER DE PULMON SEGUN LOS DISTINTOS ESTADIOS DE LA ENFERMEDAD (CONTINUACION)

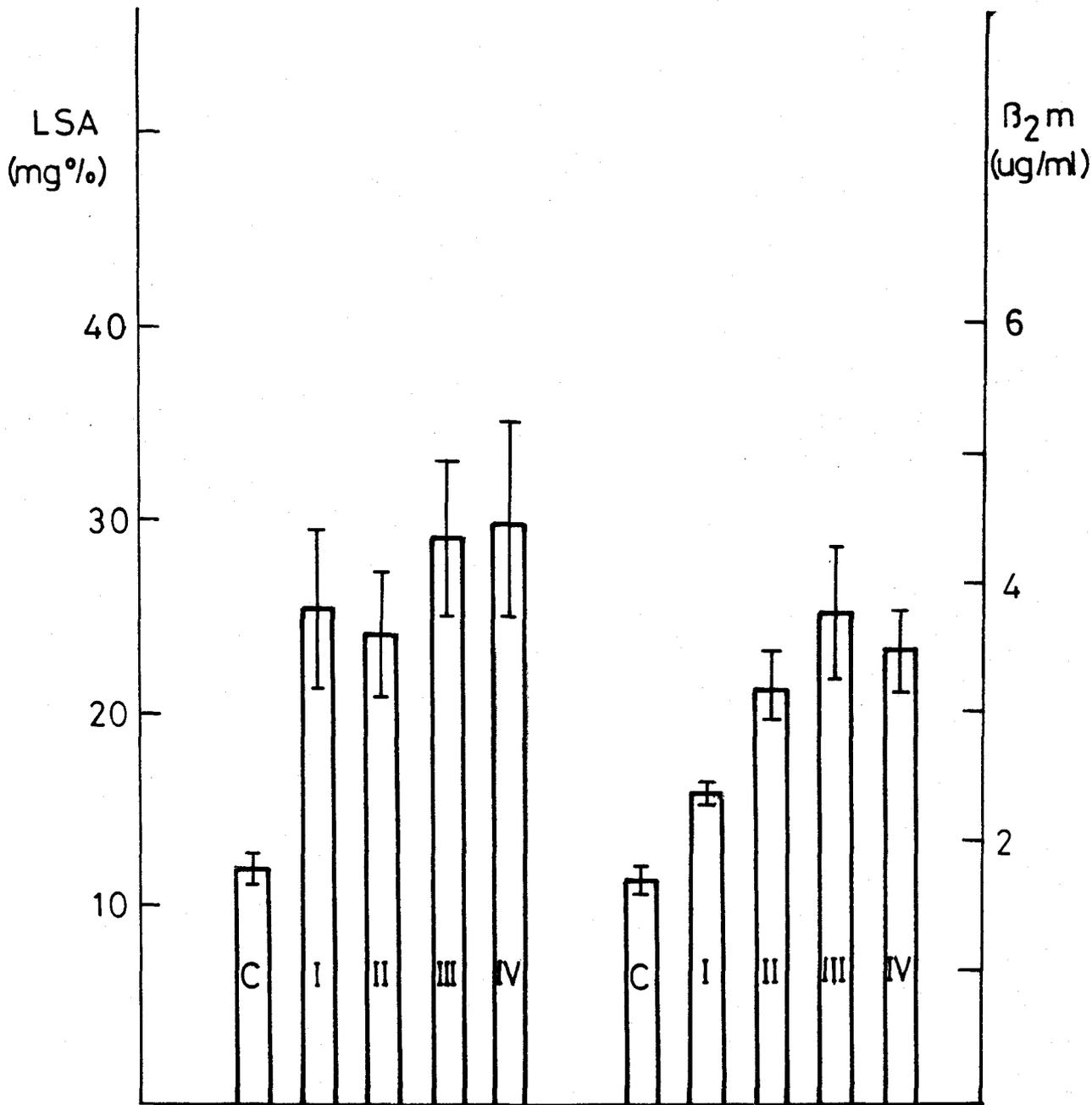


FIGURA 28

Ca. PULMON

| | | <u>LSA</u> | <u>β 2m</u> |
|--------------------|---|------------|------------------------------|
| <u>ESTADIO I</u> | | - | - |
| <u>ESTADIO II</u> | | - | - |
| <u>ESTADIO III</u> | | | |
| | 1 | 26.17 | 1.9 |
| | 2 | 34.90 | 8.4 |
| | 3 | 34.32 | 5.6 |
| | 4 | 13.67 | 2.5 |
| <u>ESTADIO IV</u> | | | |
| | 1 | 29.08 | 9.6 |
| | 2 | 42.17 | 8.4 |
| | 3 | 28.30 | 4,2 |
| | 4 | 28.62 | 4.2 |
| | 5 | 55.40 | 10.1 |
| | 6 | 41.59 | 8.8 |
| | 7 | 18.91 | 5.2 |

| | | n | \bar{x} | D.S. |
|-------------|------------|---|-----------|-------|
| ESTADIO I | LSA | - | - | - |
| | β 2m | - | - | - |
| ESTADIO II | LSA | - | - | - |
| | β 2m | - | - | - |
| ESTADIO III | LSA | 4 | 27,26 | 8.57 |
| | β 2m | 4 | 4.61 | 2.61 |
| ESTADIO IV | LSA | 7 | 34.86 | 11.28 |
| | β 2m | 7 | 7.21 | 2.40 |

TABLA XLVI. VALORES DE LSA Y β 2m EN LINFOMAS SEGUN LOS DISTINTOS ESTADIOS DE LA ENFERMEDAD.

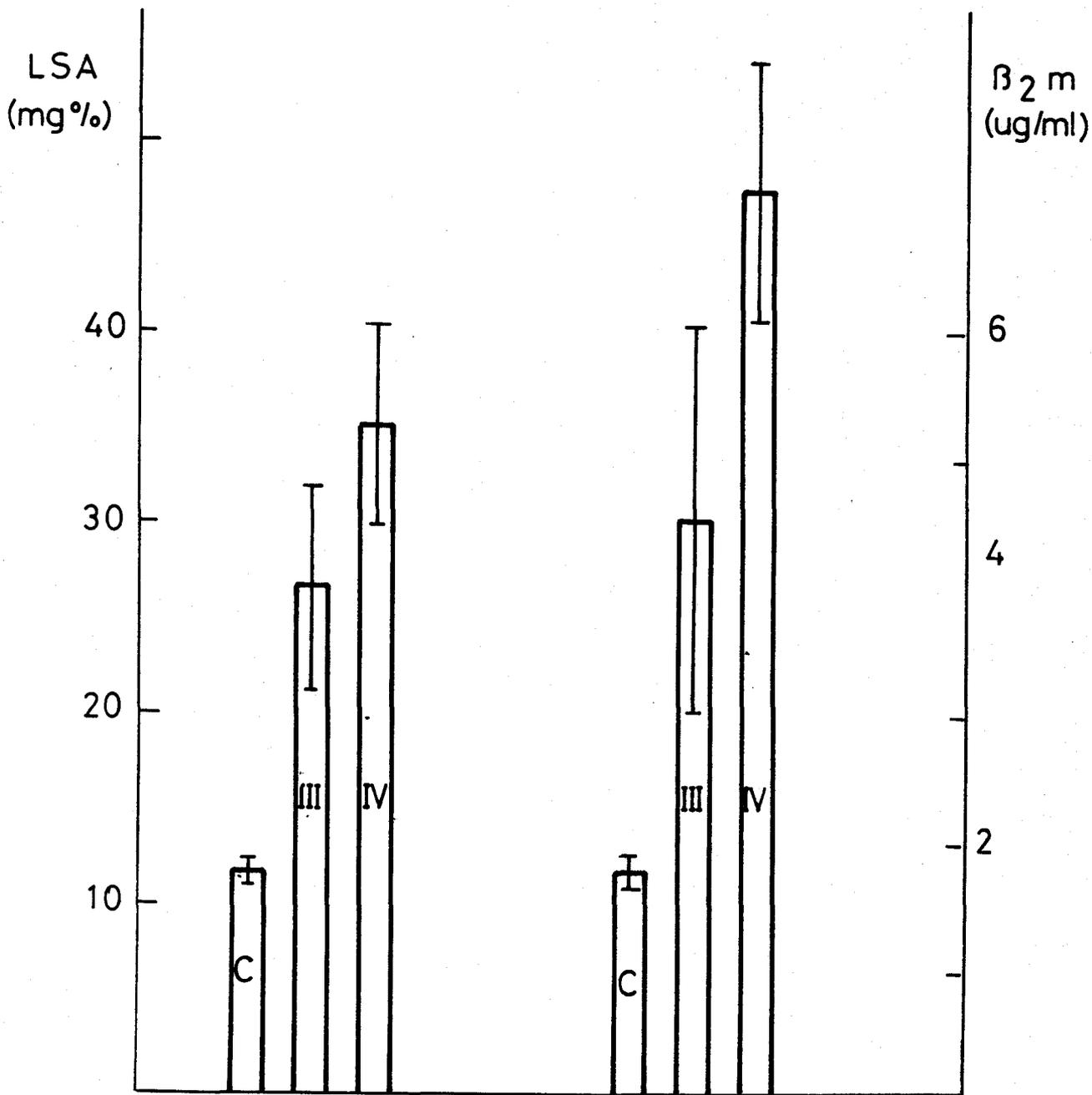


FIGURA 29

LINFOMAS

| | <u>LSA</u> | <u>β 2m</u> |
|--------------------|------------|------------------------------|
| <u>ESTADIO I</u> | | |
| 1 | 19.20 | 1.5 |
| 2 | 16.87 | 2.1 |
| 3 | 20.65 | 1.7 |
| 4 | 17.45 | 1.5 |
| 5 | 22.69 | 1.4 |
| 6 | 21.81 | 1.3 |
| <u>ESTADIO II</u> | | |
| 1 | 21.37 | 1.2 |
| 2 | 17.74 | 1.9 |
| <u>ESTADIO III</u> | | |
| 1 | 18.32 | 2.3 |
| 2 | 22.10 | 3.5 |
| <u>ESTADIO IV</u> | | |
| 1 | 17.45 | 2.0 |
| 2 | 33.45 | 2.8 |

| | | n | \bar{x} | D.S. |
|-------------|------------|---|-----------|------|
| ESTADIO I | LSA | 6 | 19.78 | 2.14 |
| | β 2m | 6 | 1.58 | 0.25 |
| ESTADIO II | LSA | 2 | 19.55 | 1.81 |
| | β 2m | 2 | 1.57 | 0.35 |
| ESTADIO III | LSA | 2 | 20.21 | 1.89 |
| | β 2m | 2 | 2.9 | 0.60 |
| ESTADIO IV | LSA | 2 | 25.45 | 8 |
| | β 2m | 2 | 2.39 | 0.43 |

TABLA XLVII. VALORES DE LSA Y β 2m EN MELANOMAS SEGUN LOS DISTINTOS ESTADIOS DE LA ENFERMEDAD.

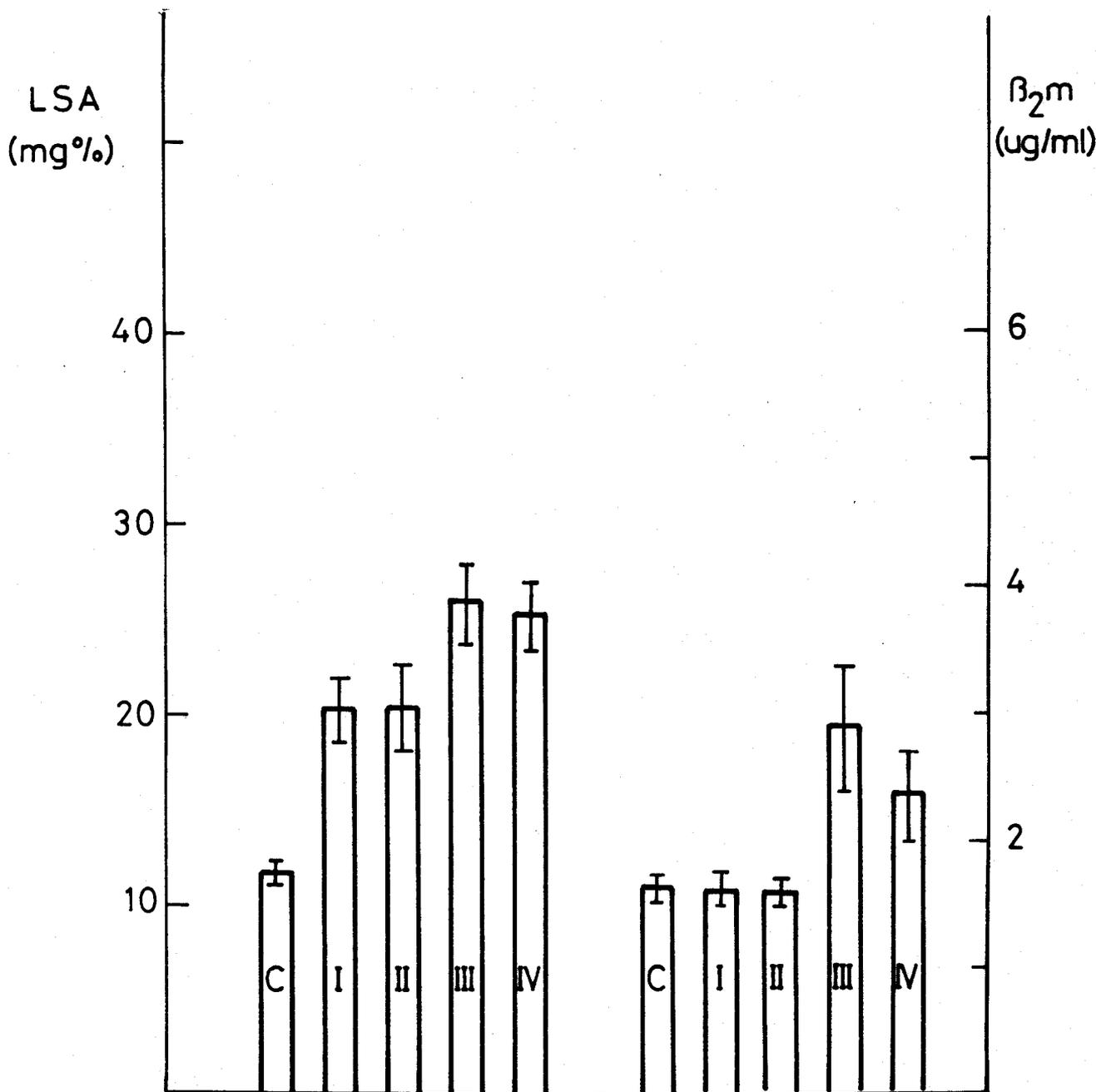


FIGURA 30

MELANOMAS

| | <u>LSA</u> | <u>$\beta 2m$</u> |
|--------------------|------------|------------------------------|
| <u>ESTADIO I</u> | - | - |
| <u>ESTADIO II</u> | - | - |
| <u>ESTADIO III</u> | | |
| 1 | 15.99 | 1.7 |
| 2 | 29.08 | 3.4 |
| 3 | 13.20 | 1.3 |
| 4 | 26.75 | 4.1 |
| <u>ESTADIO IV</u> | | |
| 1 | 20.07 | 2.4 |
| 2 | 32.58 | 3.6 |

| | | n | \bar{x} | D.S. |
|-------------|------------|---|-----------|------|
| ESTADIO I | LSA | - | - | - |
| | $\beta 2m$ | - | - | - |
| ESTADIO II | LSA | - | - | - |
| | $\beta 2m$ | - | - | - |
| ESTADIO III | LSA | 4 | 21.25 | 6.78 |
| | $\beta 2m$ | 4 | 2.62 | 1.18 |
| ESTADIO IV | LSA | 2 | 26.35 | 6.25 |
| | $\beta 2m$ | 2 | 2.99 | 0.61 |

TABLA XLVIII. VALORES DE LSA Y $\beta 2m$ EN EL CANCER DE RECTO SEGUN LOS DISTINTOS ESTADIOS DE LA ENFERMEDAD.

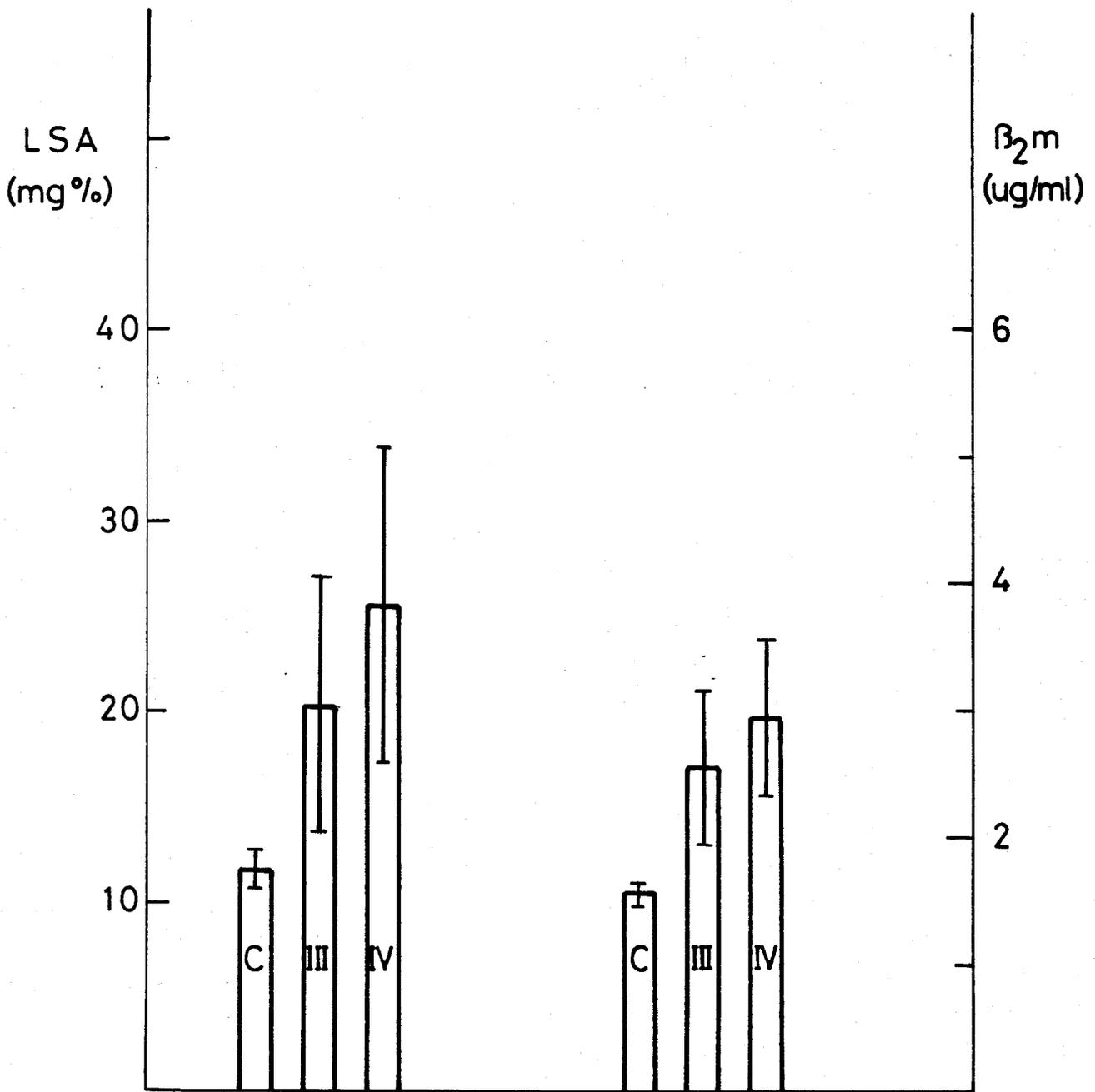


FIGURA 31

Ca. RECTO

| | <u>LSA</u> | <u>β2m</u> |
|--------------------|------------|------------|
| <u>ESTADIO I</u> | - | - |
| <u>ESTADIO II</u> | | |
| 1 | 19.50 | 3.4 |
| 2 | 20.55 | 2.1 |
| <u>ESTADIO III</u> | | |
| 1 | 30.50 | 2.8 |
| 2 | 16.58 | 1.7 |
| 3 | 25.35 | 3.2 |
| <u>ESTADIO IV</u> | | |
| 1 | 20.36 | 5.6 |
| 2 | 39.85 | 2.4 |

| | | n | \bar{x} | D.S. |
|-------------|-----|---|-----------|------|
| ESTADIO I | LSA | - | - | - |
| | β2m | - | - | - |
| ESTADIO II | LSA | 2 | 20.05 | 0.52 |
| | β2m | 2 | 2.7 | 0.66 |
| ESTADIO III | LSA | 3 | 24.14 | 5.74 |
| | β2m | 3 | 2.55 | 0.62 |
| ESTADIO IV | LSA | 2 | 30.10 | 9.74 |
| | β2m | 2 | 3.97 | 1.61 |

TABLA XLIX. VALORES DE LSA Y β2m EN EL CANCER DE COLON SEGUN LOS DISTINTOS ESTADIOS DE LA ENFERMEDAD.

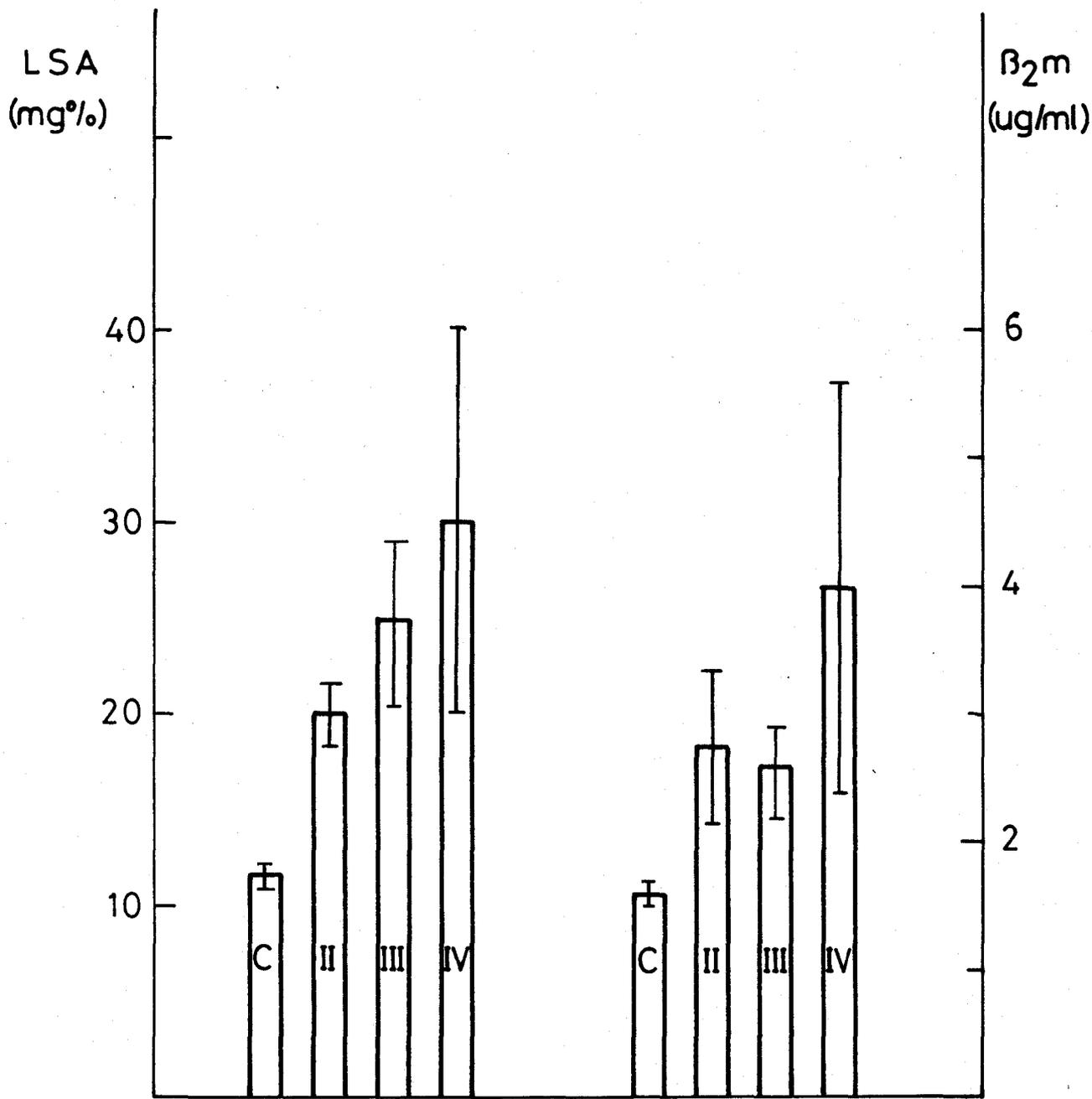


FIGURA 32

Ca. COLON

| | <u>LSA</u> | <u>$\beta 2m$</u> |
|--------------------|------------|------------------------------|
| <u>ESTADIO I</u> | - | - |
| <u>ESTADIO II</u> | | |
| 1 | 11.60 | 2.9 |
| 2 | 27.16 | 5.0 |
| <u>ESTADIO III</u> | | |
| 1 | 26.17 | 3.4 |
| 2 | 28.32 | 4.9 |
| 3 | 24.45 | 4.1 |
| 4 | 31.40 | 5.3 |
| <u>ESTADIO IV</u> | | |
| 1 | 32.65 | 6.7 |
| 2 | 33.96 | 2.1 |
| 3 | 21.26 | 3.1 |

| | | n | \bar{x} | D.S. |
|-------------|------------|---|-----------|------|
| ESTADIO I | LSA | - | - | - |
| | $\beta 2m$ | - | - | - |
| ESTADIO II | LSA | 2 | 19.38 | 7.78 |
| | $\beta 2m$ | 2 | 3.98 | 1.04 |
| ESTADIO III | LSA | 4 | 27.58 | 2.59 |
| | $\beta 2m$ | 4 | 4.42 | 0.72 |
| ESTADIO IV | LSA | 3 | 29.29 | 5.7 |
| | $\beta 2m$ | 3 | 3.97 | 1.97 |

TABLA L. VALORES DE LSA Y $\beta 2m$ EN EL CANCER DE OVARIO SEGUN LOS DISTINTOS ESTADIOS DE LA ENFERMEDAD.

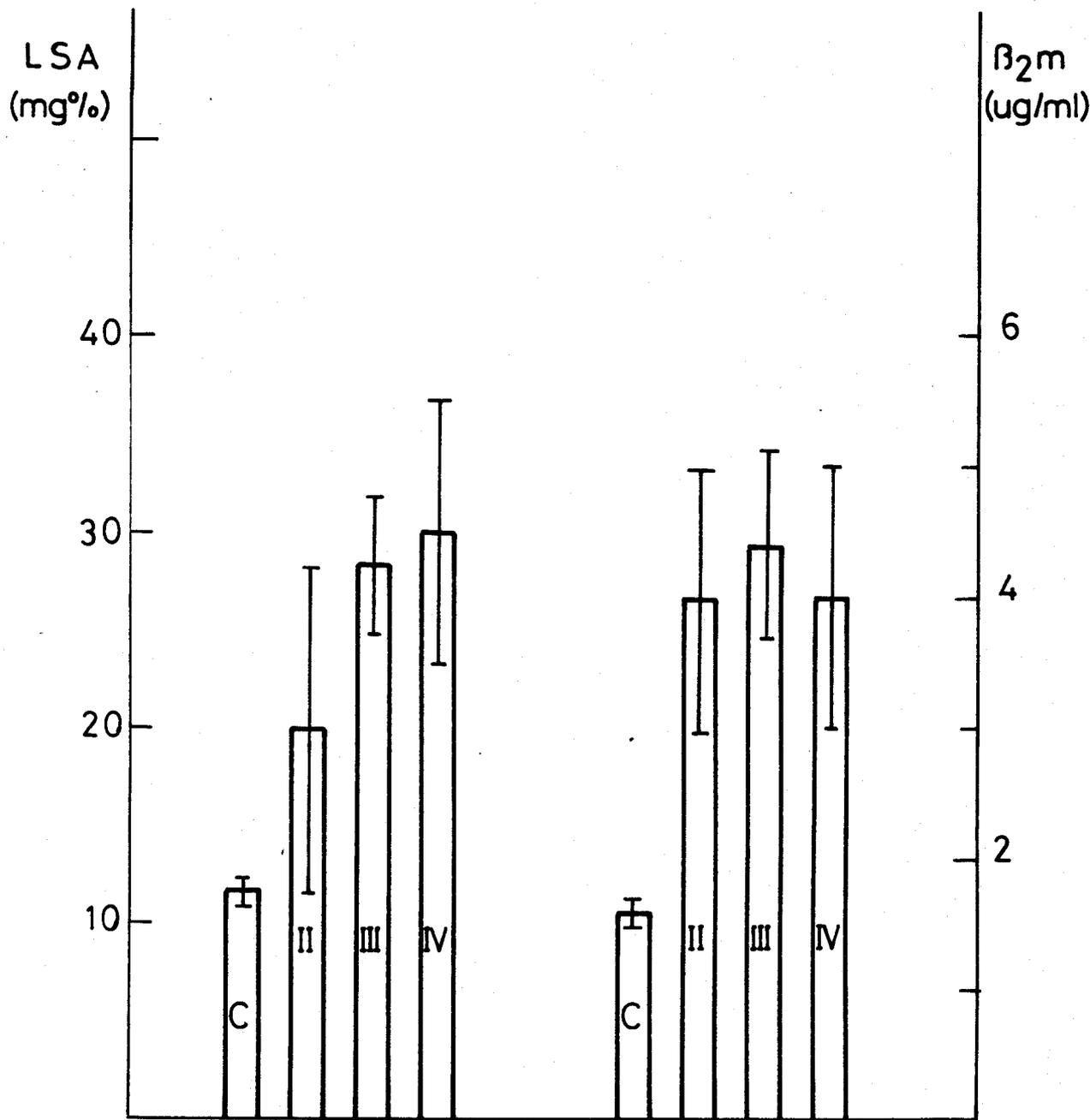


FIGURA 33

Ca. OVARIO

| | | <u>LSA</u> | <u>β2m</u> |
|--------------------|--|------------|-----------------------------|
| <u>ESTADIO I</u> | | | |
| | | - | - |
| <u>ESTADIO II</u> | | | |
| 1 | | 21.80 | 5.2 |
| 2 | | 30.71 | 3.2 |
| 3 | | 27.61 | 3.1 |
| <u>ESTADIO III</u> | | | |
| 1 | | 36.35 | 4.2 |
| 2 | | 31.44 | 4.0 |
| 3 | | 29.57 | 3.3 |
| 4 | | 25.80 | 2.1 |
| <u>ESTADIO IV</u> | | | |
| 1 | | 32.57 | 2.1 |
| 2 | | 25.55 | 4.1 |

| | | n | \bar{x} | D.S. |
|-------------|------------|---|-----------|------|
| ESTADIO I | LSA | - | - | - |
| | β 2m | - | - | - |
| ESTADIO II | LSA | 3 | 26.71 | 3.69 |
| | β 2m | 3 | 3.83 | 0.98 |
| ESTADIO III | LSA | 4 | 30.79 | 3.79 |
| | β 2m | 4 | 3.40 | 0.83 |
| ESTADIO IV | LSA | 2 | 29.06 | 3.51 |
| | β 2m | 2 | 3.08 | 1.01 |

TABLA LI. VALORES DE LSA Y β 2m EN CANCER GASTRICO SEGUN LOS DISTINTOS ESTADIOS DE LA ENFERMEDAD.

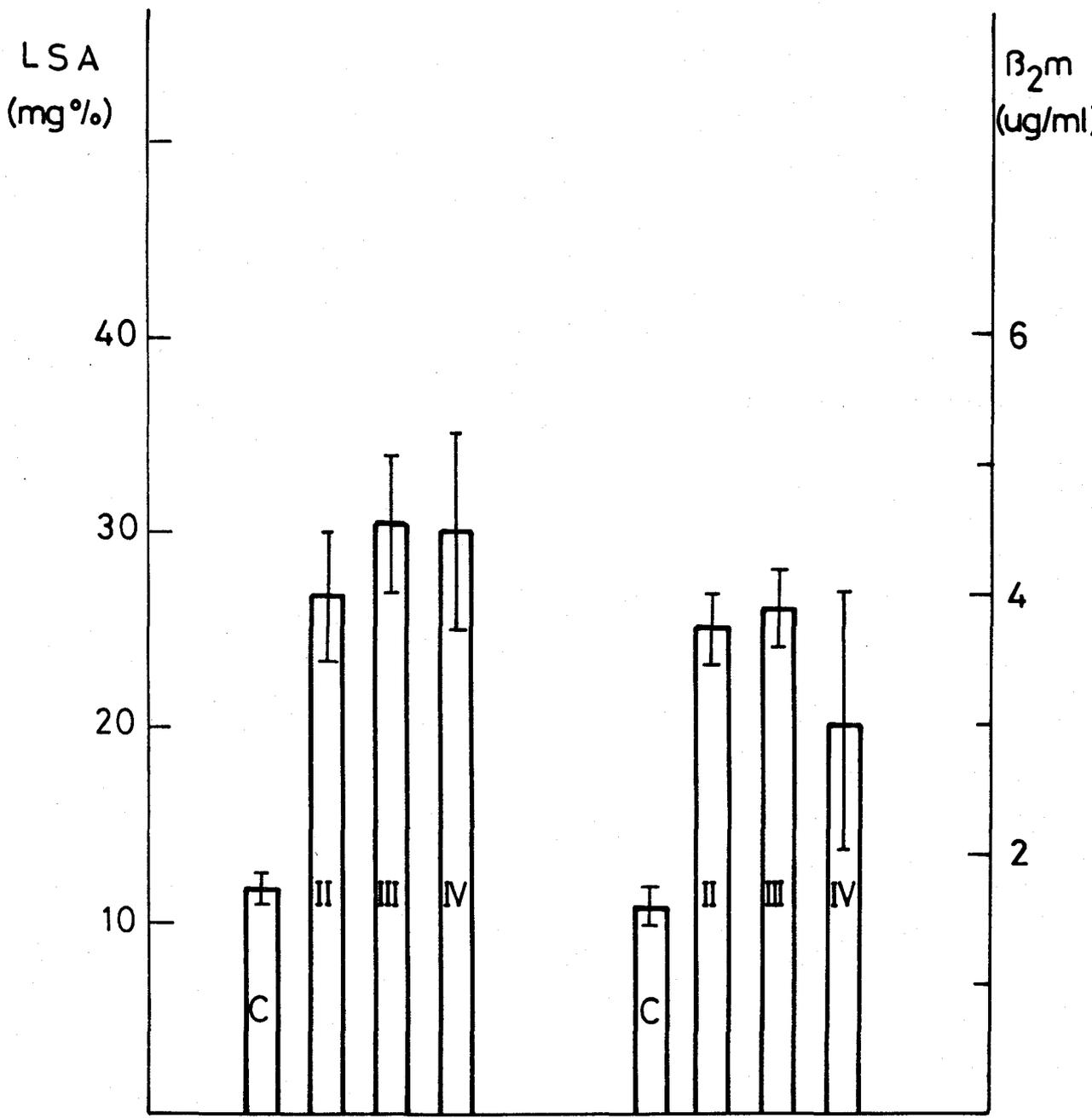


FIGURA 34

Ca. GASTRICO

| | <u>LSA</u> | <u>β2m</u> |
|--------------------|------------|------------|
| <u>ESTADIO I</u> | - | - |
| <u>ESTADIO II</u> | | |
| 1 | 16.20 | 2.6 |
| 2 | 30.57 | 3.5 |
| 3 | 14.51 | 3.4 |
| 4 | 36.20 | 4.2 |
| <u>ESTADIO III</u> | | |
| 1 | 17.20 | 2.9 |
| 2 | 21.80 | 4.2 |
| <u>ESTADIO IV</u> | - | - |

| | | n | \bar{x} | D.S. |
|-------------|-----|---|-----------|------|
| ESTADIO I | LSA | - | - | - |
| | β2m | - | - | - |
| ESTADIO II | LSA | 4 | 24.37 | 9.25 |
| | β2m | 4 | 3.43 | 0.55 |
| ESTADIO III | LSA | 2 | 19.5 | 2.3 |
| | β2m | 2 | 3.55 | 0.64 |
| ESTADIO IV | LSA | - | - | - |
| | β2m | - | - | - |

TABLA LII. VALORES DE LSA Y β2m EN MIELOMAS SEGUN LOS DISTINTOS ESTADIOS DE LA ENFERMEDAD.

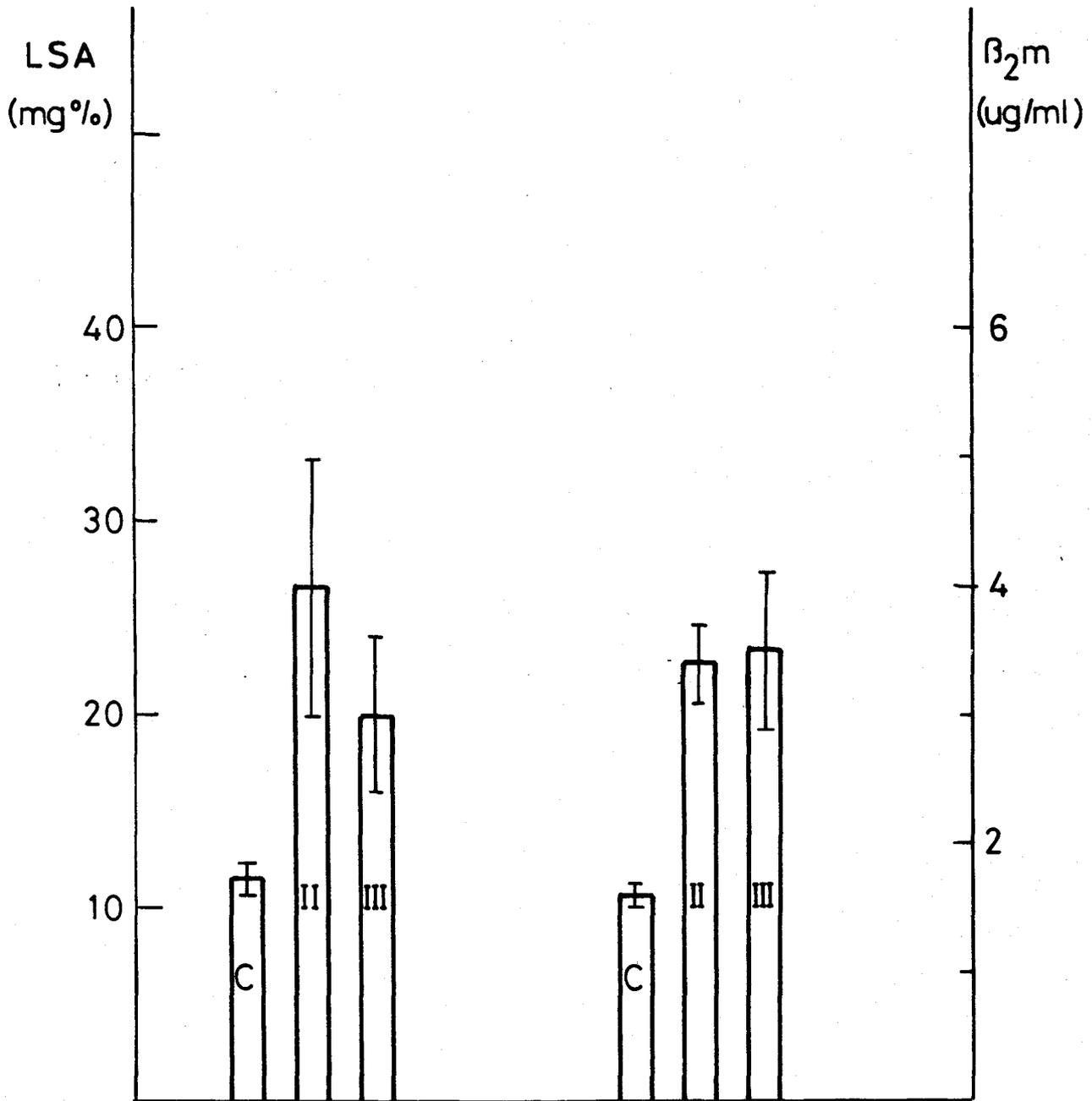


FIGURA 35

MIELOMAS

| | <u>LSA</u> | <u>β2m</u> |
|--------------------|------------|-----------------------------|
| <u>ESTADIO I</u> | - | - |
| <u>ESTADIO II</u> | - | - |
| <u>ESTADIO III</u> | | |
| 1 | 42.51 | 5.4 |
| 2 | 20.95 | 2.5 |
| 3 | 20.63 | 3.3 |
| <u>ESTADIO IV</u> | | |
| 1 | 25.30 | 5.1 |
| 2 | 31.47 | 4.3 |
| 3 | 40.52 | 5.3 |

| | | n | \bar{x} | D.S. |
|-------------|------------|---|-----------|-------|
| ESTADIO I | LSA | - | - | - |
| | β 2m | - | - | - |
| ESTADIO II | LSA | - | - | - |
| | β 2m | - | - | - |
| ESTADIO III | LSA | 3 | 28.03 | 10.23 |
| | β 2m | 3 | 3.73 | 1.23 |
| ESTADIO IV | LSA | 3 | 32.43 | 6.25 |
| | β 2m | 3 | 4.9 | 0.41 |

TABLA LIII. VALORES DE LSA Y β 2m EN CANCER DE PANCREAS SEGUN LOS DISTINTOS ESTADIOS DE LA ENFERMEDAD.

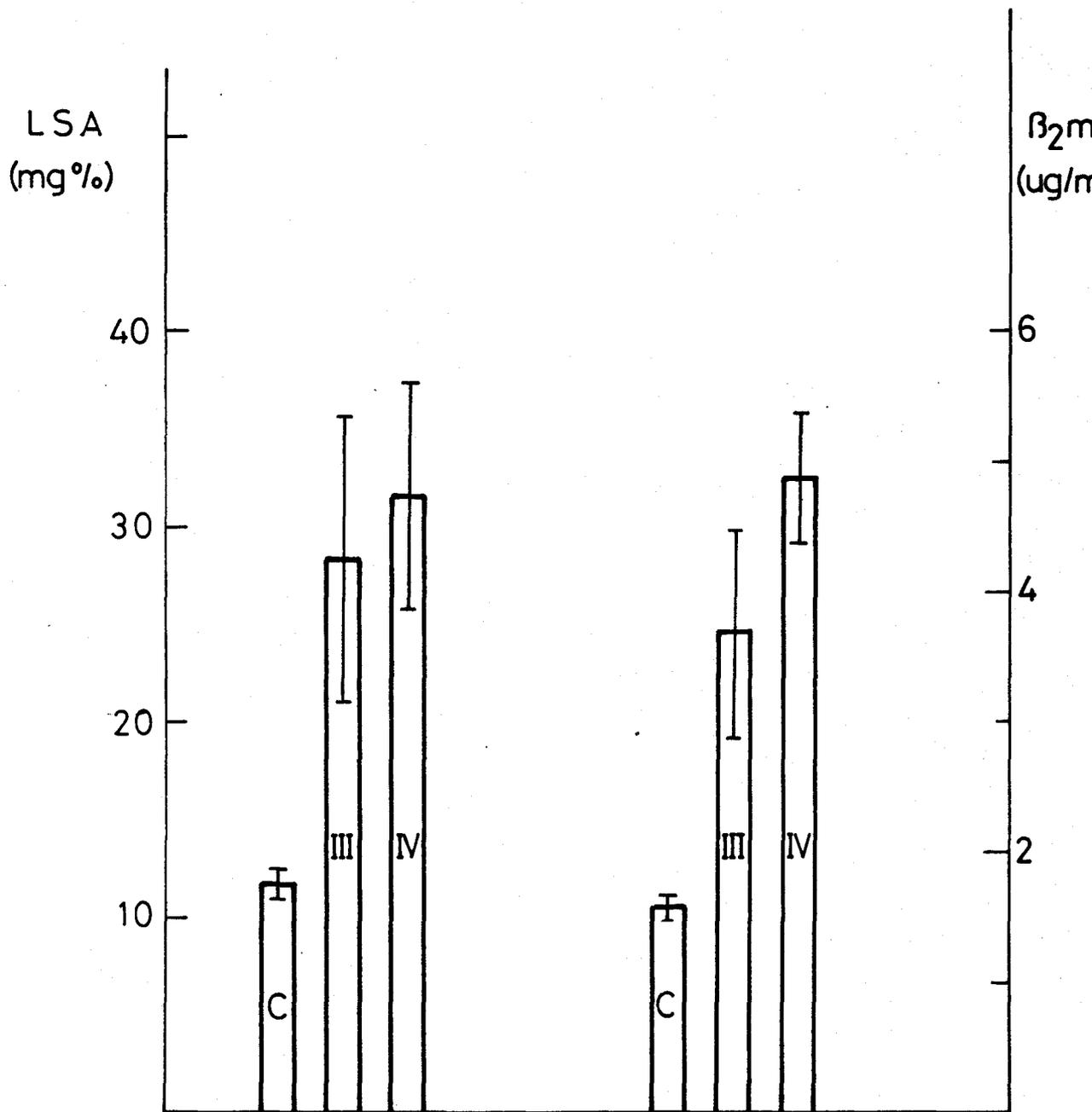


FIGURA 36 Ca. PANCREAS

| | <u>LSA</u> | <u>β_{2m}</u> |
|--------------------|------------|--------------------------------|
| <u>ESTADIO I</u> | - | - |
| <u>ESTADIO II</u> | - | - |
| <u>ESTADIO III</u> | | |
| 1 | 33.70 | 3.8 |
| 2 | 42.61 | 5.6 |
| 3 | 35.88 | 3.9 |
| <u>ESTADIO IV</u> | | |
| 1 | 30.35 | 5.6 |
| 2 | 60.50 | 4.3 |
| 3 | 46.32 | 5.3 |

| | | n | \bar{x} | D.S. |
|-------------|--------------|---|-----------|-------|
| ESTADIO I | LSA | - | - | - |
| | β_{2m} | - | - | - |
| ESTADIO II | LSA | - | - | - |
| | β_{2m} | - | - | - |
| ESTADIO III | LSA | 3 | 3.39 | 3.79 |
| | β_{2m} | 3 | 4.45 | 0.82 |
| ESTADIO IV | LSA | 3 | 45.72 | 12.31 |
| | β_{2m} | 3 | 5.04 | 0.57 |

TABLA LIV. VALORES DE LSA Y β_{2m} EN HEPATOCARCINOMA SEGUN LOS DISTINTOS ESTADIOS DE LA ENFERMEDAD.

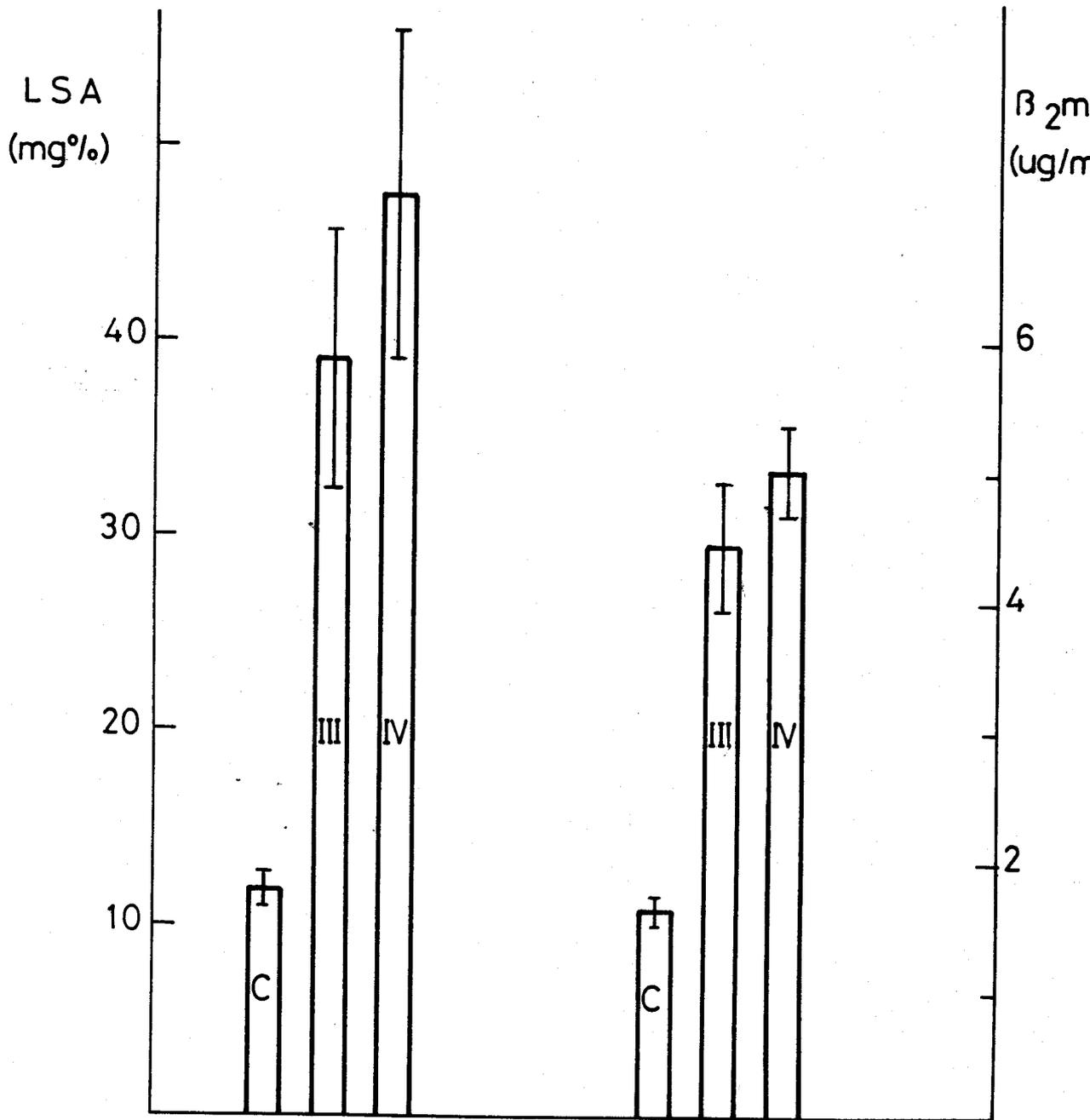


FIGURA 37 HEPATOCARCINOMA

| | <u>LSA</u> | <u>β2m</u> |
|--------------------|------------|-----------------------------|
| <u>ESTADIO I</u> | - | - |
| <u>ESTADIO II</u> | | |
| 1 | 35.64 | 5.3 |
| 2 | 14.56 | 3.2 |
| <u>ESTADIO III</u> | | |
| 1 | 20.35 | 3.2 |
| 2 | 16.58 | 2.0 |
| 3 | 37.85 | 5.5 |
| 4 | 39.57 | 5.4 |
| <u>ESTADIO IV</u> | | |
| 1 | 72.10 | 10.1 |
| 2 | 60.31 | 9.7 |
| 3 | 30.48 | 4.7 |

| | | n | \bar{x} | D.S. |
|-------------|------------|---|-----------|-------|
| ESTADIO I | LSA | - | - | - |
| | β 2m | - | - | - |
| ESTADIO II | LSA | 2 | 25.10 | 10.54 |
| | β 2m | 2 | 4.24 | 1.03 |
| ESTADIO III | LSA | 4 | 28.59 | 10.22 |
| | β 2m | 4 | 4.01 | 1.48 |
| ESTADIO IV | LSA | 3 | 54.29 | 17.51 |
| | β 2m | 3 | 8.15 | 2.45 |

TABLA LV. VALORES DE LSA Y β 2m EN EL CANCER DE MAMA SEGUN LOS DISTINTOS ESTADIOS DE LA ENFERMEDAD.

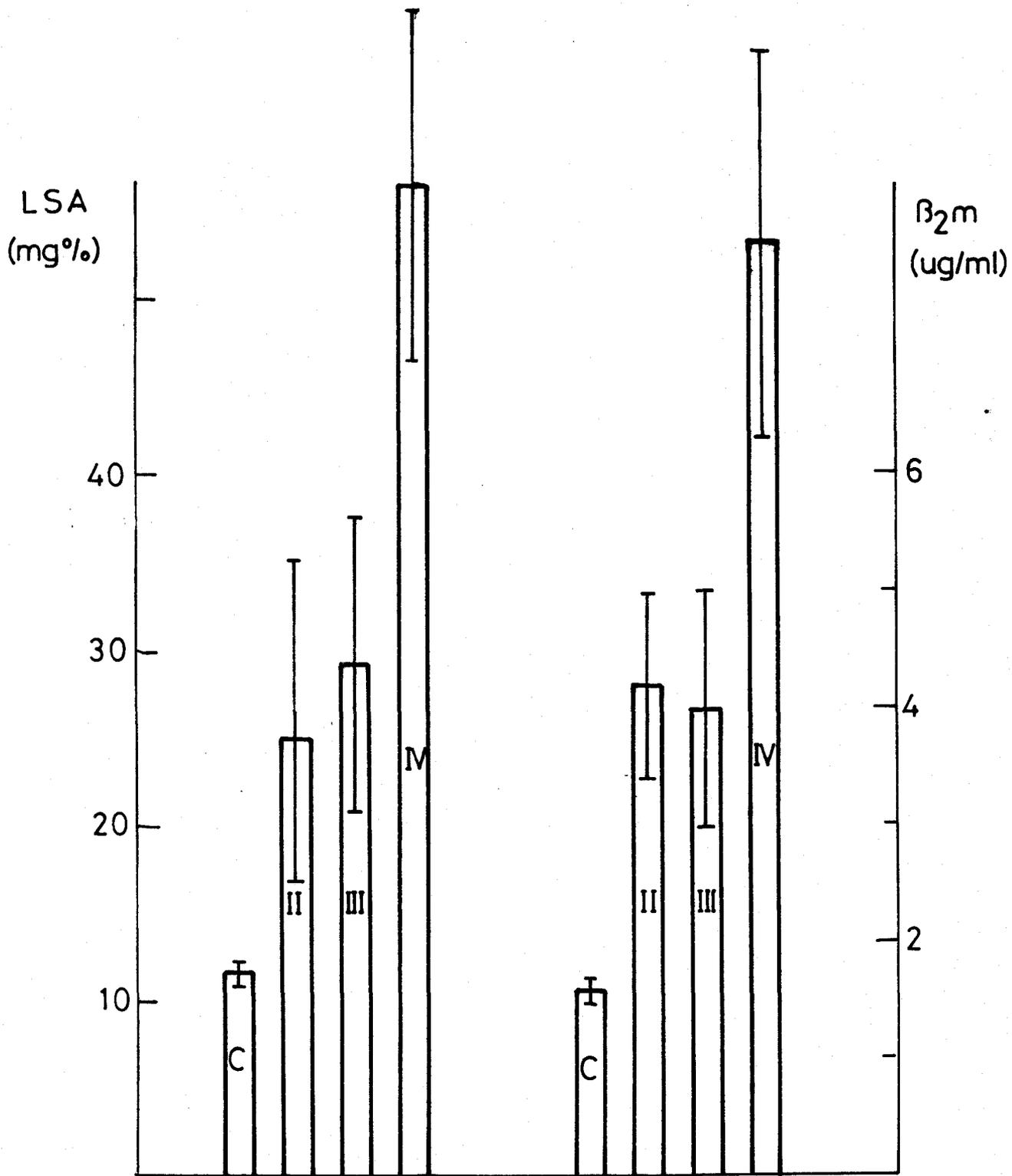


FIGURA 38

Ca. MAMA

| <u>ESTADIO</u> | <u>\bar{X} LSA</u> | <u>D.S.</u> | <u>\bar{X} β2m</u> | <u>ds</u> | <u>n</u> |
|----------------|---------------------------------|-------------|--|-----------|----------|
| I | 22.82 | 3.04 | 1.99 | 0.41 | 9 |
| II | 25.37 | 7.40 | 3.28 | 0.79 | 34 |
| III | 27.62 | 4.52 | 3.60 | 0.72 | 51 |
| IV | 34.16 | 3.42 | 4.44 | 1.71 | 51 |

TABLA LVI. VALORES MEDIOS DE LSA Y β 2m EN LOS DISTINTOS ESTADIOS DE LA PATOLOGIA TUMORAL (TODOS LOS GRUPOS).

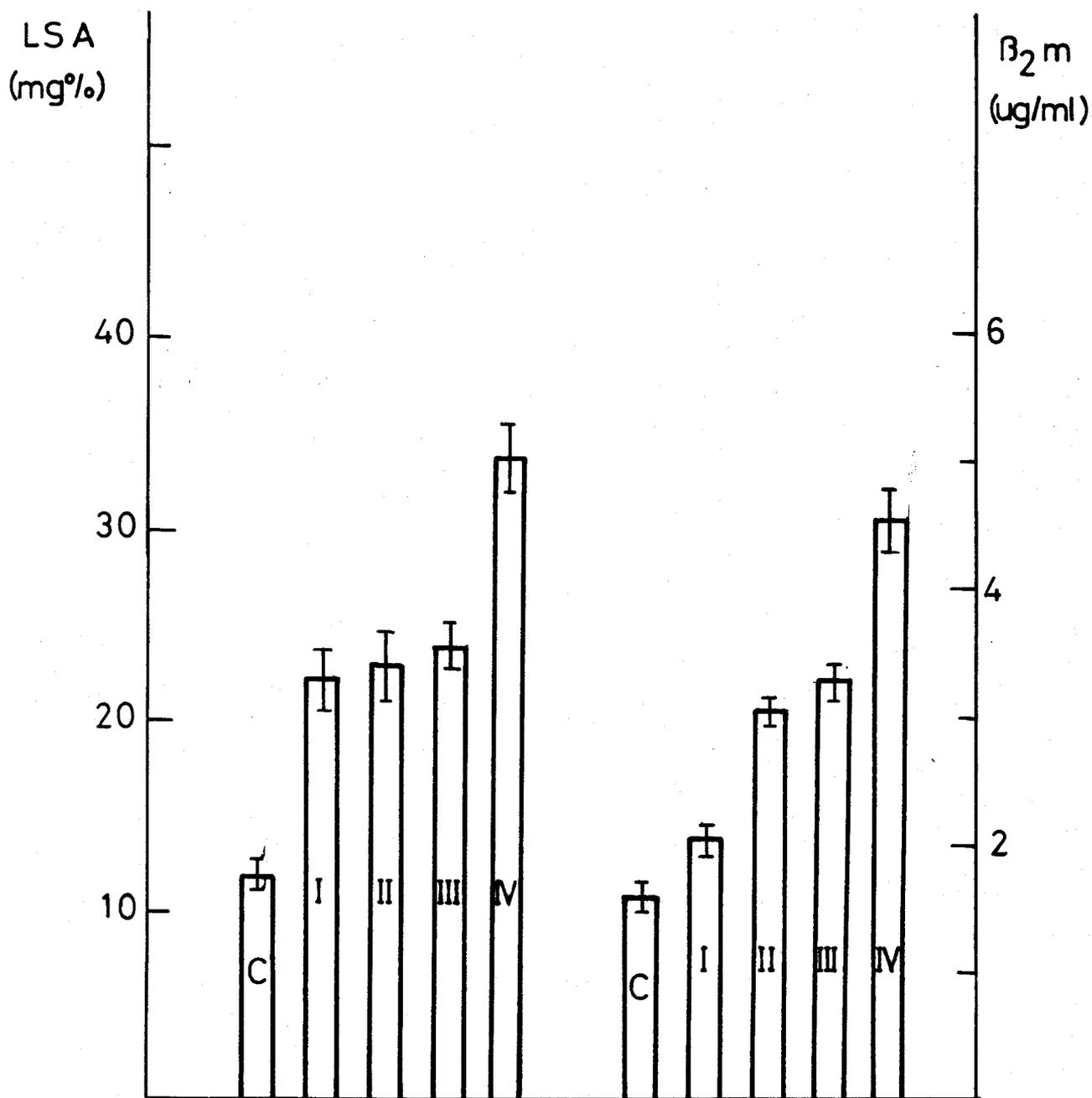


FIGURA 39 LSA y β₂m en distintos estadios

Dado que es frecuente dentro del cáncer de pulmón hacer / una distinción según el grupo histológico agrupando por un lado al epidermoide, adenocarcinoma y células gigantes y por otro lado al "oat-cell" hemos querido comprobar ya que esta patología es la más amplia si existen diferencias estadísticas.

Los resultados quedan reflejados en las Tablas LVII y LVIII en la Tabla LIX podemos comprobar que para el grupo epidermoide obtenemos unas cifras de 28.86 ± 10.36 mgr% para el LSA y de 3.44 ± 1.26 μ gr/ml para la β 2m y para el grupo de oat-cell las cifras son respectivamente de 24.48 ± 10.98 mgr% y 3.54 ± 1.76 μ gr/ml careciendo todas ellas de significación estadística alguna.

| | <u>TIPO HISTOLOGICO</u> | <u>LSA</u> | <u>β2m</u> |
|----|-------------------------|------------|------------|
| 1 | Epidermoide IV | 27.40 | 4.8 |
| 2 | Epidermoide II | 23.15 | 5.2 |
| 3 | Epidermoide IV | 17.40 | 3.2 |
| 4 | Epidermoide IV | 38.24 | 5.0 |
| 5 | Epidermoide IV | 33.40 | 5.3 |
| 6 | Epidermoide III | 33.40 | 3.0 |
| 7 | Epidermoide III | 24.72 | 3.7 |
| 8 | Epidermoide II | 24.70 | 3.8 |
| 9 | Epidermoide IV | 12.27 | 2.9 |
| 10 | Epidermoide III | 43.39 | 5.2 |
| 11 | Epidermoide II | 11.63 | 3.2 |
| 12 | Epidermoide III | 37.30 | 4.8 |
| 13 | Epidermoide IV | 26.70 | 2.6 |
| 14 | Epidermoide III | 39.44 | 7.8 |
| 15 | Epidermoide I | 23.20 | 2.6 |
| 16 | Epidermoide IV | 34.62 | 2.7 |
| 17 | Epidermoide III | 20.20 | 3.2 |
| 18 | Epidermoide IV | 46.53 | 4.2 |
| 19 | Epidermoide IV | 18.32 | 2.0 |
| 20 | Epidermoide II | 19.10 | 2.6 |
| 21 | Epidermoide III | 29.08 | 2.7 |
| 22 | Epidermoide II | 29.77 | 2.4 |
| 23 | Epidermoide II | 21.30 | 2.8 |
| 24 | Epidermoide III | 23.27 | 2.4 |
| 25 | Epidermoide II | 36.35 | 2.8 |

TABLA LVII. VALORES DE LSA Y β2m EN EL CANCER DE PULMON TIPO EPIDERMOIDE.

| | <u>TIPO HISTOLOGICO</u> | <u>LSA</u> | <u>β2m</u> |
|----|-------------------------|------------|------------|
| 26 | Epidermoide III | 43.60 | 3.2 |
| 27 | Epidermoide IV | 47.10 | 2.9 |
| 28 | Epidermoide III | 15.87 | 1.9 |
| 29 | Epidermoide IV | 53.50 | 3.2 |
| 30 | Epidermoide III | 14.30 | 2.0 |
| 31 | Epidermoide II | 25.02 | 2.8 |
| 32 | Epidermoide III | 33.44 | 2.1 |
| 33 | Epidermoide IV | 22.40 | 3.1 |
| 34 | Epidermoide III | 22.98 | 5.2 |
| 35 | Adenocarcinoma III | 25.88 | 4.2 |
| 36 | Adenocarcinoma IV | 32.61 | 2.0 |
| 37 | Células Gigantes II | 44.20 | 4.8 |
| 38 | Células Gigantes I | 20.94 | 2.5 |

TABLA LVII. VALORES DE LSA Y β2m EN EL CANCER DE PULMON TIPO EPIDERMOIDE (CONTINUACION).

| | <u>TIPO HISTOLOGICO</u> | <u>LSA</u> | <u>β2m</u> |
|----|-------------------------|------------|------------|
| 1 | Oat-cell II | 22.63 | 4.7 |
| 2 | Oat-cell III | 34.20 | 6.7 |
| 3 | Oat-cell III | 25.90 | 7.1 |
| 4 | Oat-cell IV | 18.90 | 5.2 |
| 5 | Oat-cell II | 12.50 | 2.2 |
| 6 | Oat-cell IV | 21.2 | 1.9 |
| 7 | Oat-cell IV | 29.30 | 3.2 |
| 8 | Oat-cell II | 28.10 | 3.7 |
| 9 | Oat-cell III | 20.06 | 2.1 |
| 10 | Oat-cell IV | 11.90 | 1.7 |
| 11 | Oat-cell III | 15.50 | 2.2 |
| 12 | Oat-cell III | 24.72 | 2.0 |
| 13 | Oat-cell III | 23.27 | 2.7 |

TABLA LVIII. VALORES DE LSA Y β2m EN EL CANCER DE PULMON TIPO OAT-CELL.

| | <u>EPIDERMOIDE</u> (n = 38) | <u>OAT-CELL</u> (n = 13) | |
|--------------|-----------------------------|--------------------------|----|
| LSA (mgr%) | 28.86 ± 10.36 | 24.48 ± 10.98 | NS |
| β2m (μgr/ml) | 3.44 ± 1.26 | 3.54 ± 1.76 | NS |

TABLA LIX. VALORES MEDIOS DE LSA Y β2m EN EL CANCER DE PULMON SEGUN EL TIPO HISTOLOGICO.

De todos los grupos estudiados, en cinco de ellos (cáncer de pulmón, enfermedad de Hodgkin, melanomas, linfomas y cáncer de recto) hemos realizado un seguimiento a distintos pacientes con el fin de comprobar como variaban las cifras de LSA y $\beta 2m$ con la evolución de la enfermedad, es decir cifras anteriores y posteriores al tratamiento quimioterápico y/o quirúrgico, cifras en las recidivas y cifras en la remisión completa.

En el Cáncer de pulmón, podemos observar como los valores de LSA se encuentran elevados antes del tratamiento (29.97 mgr%) descienden durante el tratamiento (17.83 mgr%), si la enfermedad progresa vuelven a alcanzar los valores iniciales (28.21 mgr%) y bajan a niveles totalmente normales si la enfermedad remite (13.29 mgr%). Similares variaciones aunque no tan ostensibles ocurren con la $\beta 2m$ (Tabla LX y Figura 40).

En el caso de la enfermedad de Hodgkin las variaciones son aún más ostensibles. Los pacientes tienen una media de 38.84 mgr% para el LSA y de 3.30 para la $\beta 2m$ antes del tratamiento y descienden a valores de 15.87 mgr% y 2.09 $\mu\text{gr/ml}$ después del tratamiento. En el caso de presentarse recidivas los aumentos son claros alcanzándose cifras de 41.86 mgr% y 3.68 $\mu\text{gr/ml}$ para LSA y $\beta 2m$, cifras que bajan a los límites de la normalidad en el caso de llegar a remisión completa (Tabla LXI y Figura 41).

Los mismos comentarios pueden hacerse de los melanomas (Tabla LXII y Figura 42), Linfomas (Tabla LXIII y Figura 43) y cáncer de recto (Tabla LXIV y Figura 44). En estos tres últimos grupos los cambios no son tan ostensibles por dos razones, una porque se parten de cifras iniciales que no son tan elevadas como en los casos anteriores y otra porque en estos tres grupos los enfermos se encuentran en estadios muy avanzados (III y IV) y la enfermedad es ya sistémica y no localizada, de todas formas también en las recidivas aparecen aumentos considerables y las cifras vuelven a límites normales en el caso de existir una remisión completa.

| | <u>ANTES TRATAMIENTO</u> | | <u>QUIMIOTERAPIA</u> | | <u>ENF. PROGRESIVA</u> | | <u>REMISION</u> | |
|-----------|--------------------------|------------|----------------------|------------|------------------------|------------|-----------------|------------|
| | <u>LSA</u> | <u>β2m</u> | <u>LSA</u> | <u>β2m</u> | <u>LSA</u> | <u>β2m</u> | <u>LSA</u> | <u>β2m</u> |
| 1 | 17.40 | 3.2 | 16.28 | 2.6 | - | - | - | - |
| 2 | 34.20 | 6.7 | 19.10 | 5.2 | - | - | - | - |
| 3 | 22.63 | 4.7 | 14.25 | 3.0 | - | - | 13.75 | 2.9 |
| 4 | 29.08 | 2.7 | 21.50 | 2.6 | - | - | - | - |
| 5 | 13.20 | 1.7 | 14.20 | 1.6 | 22.40 | 2.5 | - | - |
| 6 | 22.40 | 3.1 | 12.51 | 2.0 | - | - | - | - |
| 7 | 53.50 | 3.2 | 28.49 | 2.6 | 27.30 | 2.9 | - | - |
| 8 | 55.90 | 7.1 | 22.60 | 3.5 | - | - | - | - |
| 9 | 38.24 | 5.0 | 19.71 | 2.9 | 28.63 | 3.2 | - | - |
| 10 | 10.33 | 5.3 | 21.83 | 3.1 | 30.74 | 3.5 | - | - |
| 11 | 24.72 | 3.7 | 13.45 | 2.4 | - | - | 14.90 | 2.3 |
| 12 | 43.49 | 5.2 | 18.65 | 3.0 | 31.25 | 3.8 | - | - |
| 13 | 11.63 | 3.2 | 12.80 | 2.9 | - | - | 12.70 | 2.9 |
| 14 | 26.70 | 2.6 | 17.63 | 2.7 | 28.91 | 2.7 | - | - |
| 15 | 23.20 | 2.6 | 14.50 | 2.5 | - | - | 11.83 | 2.1 |
| \bar{x} | 29.97 | 4.00 | 17.83 | 2.87 | 28.21 | 3.06 | 13.29 | 2.55 |
| ds | 12.85 | 1.53 | 4.35 | 0.76 | 2.91 | 0.52 | 1.15 | 0.36 |

TABLA LX. EVOLUCION DE LOS NIVELES DE LSA Y β2m EN EL TRANSCURSO DE LA ENFERMEDAD. CARCINOMA DE PULMON.

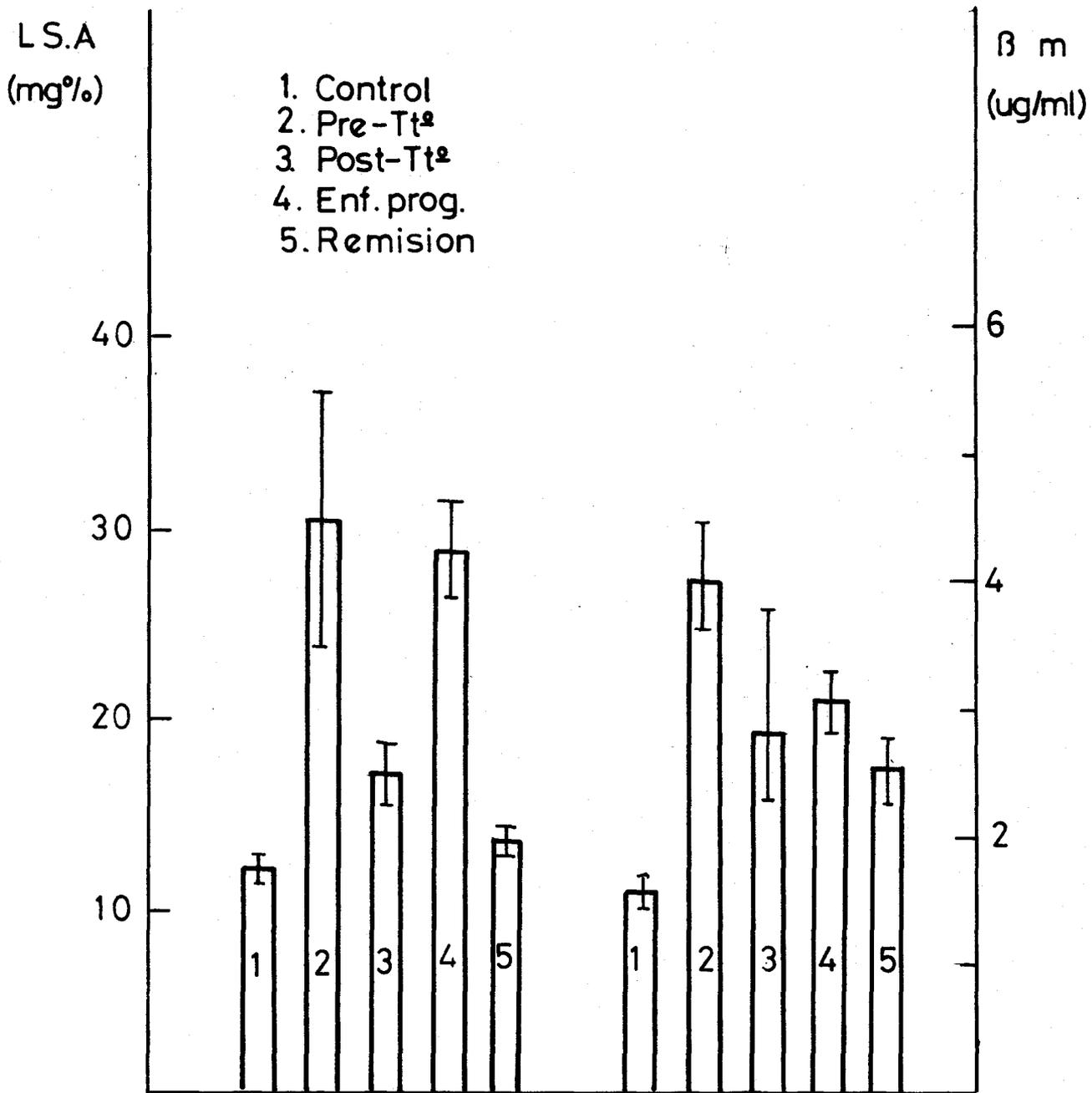


FIGURA 40 Evolucion Ca pulmon

| | <u>ANTES TRATAMIENTO</u> | | <u>DESPUES TRATAMIENTO</u> | | <u>RECIDIVA</u> | | <u>REMISION</u> | |
|-----------|--------------------------|-----------------------------|----------------------------|-----------------------------|-----------------|-----------------------------|-----------------|-----------------------------|
| | <u>LSA</u> | <u>β2m</u> | <u>LSA</u> | <u>β2m</u> | <u>LSA</u> | <u>β2m</u> | <u>LSA</u> | <u>β2m</u> |
| 1 | 55.96 | 4.6 | 18.33 | 2.3 | - | - | 14.65 | 2.0 |
| 2 | 48.62 | 4.2 | 13.05 | 2.0 | - | - | 15.12 | 1.5 |
| 3 | 49.44 | 2.7 | 16.25 | 1.5 | 53.26 | 2.8 | - | - |
| 4 | 47.89 | 3.0 | 16.30 | 1.2 | - | - | 11.93 | 1.4 |
| 5 | 29.08 | 2.3 | 13.08 | 2.8 | 32.57 | 3.5 | 14.83 | 2.8 |
| 6 | 44.20 | 3.2 | 15.12 | 2.1 | - | - | 14.80 | 2.0 |
| 7 | 32.50 | 3.0 | 16.50 | 1.6 | 31.70 | 4.0 | 13.08 | 2.5 |
| 8 | 39.87 | 2.9 | 16.75 | 2.8 | 47.12 | 3.2 | 17.45 | 2.9 |
| 9 | 35.40 | 2.4 | 16.29 | 2.0 | - | - | 16.50 | 1.9 |
| 10 | 26.17 | 1.5 | 15.41 | 1.9 | - | - | 15.41 | 1.3 |
| 11 | 23.65 | 6.9 | 15.90 | 2.6 | 44.63 | 4.9 | - | - |
| 12 | 33.20 | 3.0 | 16.95 | 2.3 | - | - | - | - |
| \bar{x} | 38.84 | 3.30 | 15.87 | 2.09 | 41.86 | 3.68 | 14.86 | 2.03 |
| ds | 9.93 | 1.33 | 1.39 | 0.48 | 8.42 | 0.72 | 1.55 | 0.56 |

TABLA LXI. EVOLUCION DE LOS NIVELES DE LSA Y β 2m EN EL CURSO DE LA ENFERMEDAD (HODGKIN)

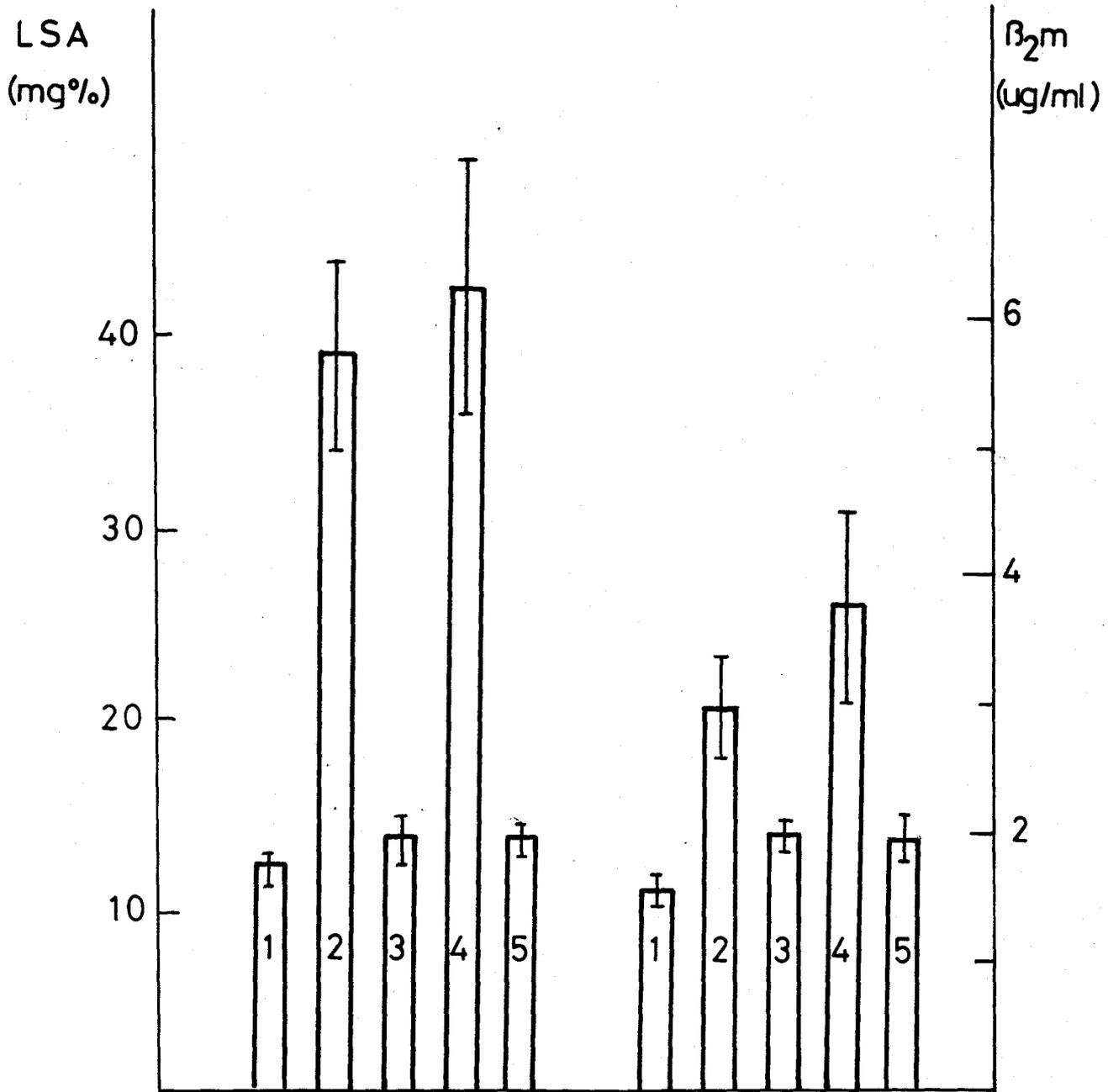


FIGURA 4: Evolucion Hodgkin

| | <u>ANTES TRATAMIENTO</u> | | <u>DESPUES TRATAMIENTO</u> | | <u>RECIDIVA</u> | | <u>REMISION</u> | |
|-----------|--------------------------|-----------------------------|----------------------------|-----------------------------|-----------------|-----------------------------|-----------------|-----------------------------|
| | <u>LSA</u> | <u>β2m</u> | <u>LSA</u> | <u>β2m</u> | <u>LSA</u> | <u>β2m</u> | <u>LSA</u> | <u>β2m</u> |
| 1 | 21.37 | 1.22 | 23.27 | 1.28 | - | - | 18.03 | 1.46 |
| 2 | 17.75 | 1.92 | 18.91 | 1.95 | 23.27 | 2.15 | - | - |
| 3 | 18.32 | 2.30 | 23.27 | 3.15 | 33.45 | 5.36 | - | - |
| 4 | 22.10 | 3.50 | 27.05 | 3.9 | - | - | - | - |
| 5 | 16.87 | 2.08 | 19.78 | 2.08 | - | - | 13.96 | 2.5 |
| 6 | 33.45 | 2.83 | 20.07 | 2.6 | 38.97 | 3.06 | - | - |
| \bar{x} | 21.64 | 2.30 | 22.06 | 2.52 | 31.90 | 3.57 | 16.00 | 1.98 |
| ds | 5.61 | 0.72 | 2.80 | 0.85 | 6.50 | 1.35 | 2.04 | 0.52 |

TABLA LXII. EVOLUCION DE LOS NIVELES DE LSA Y β 2m EN EL CURSO DE LA ENFERMEDAD (MELANOMA)

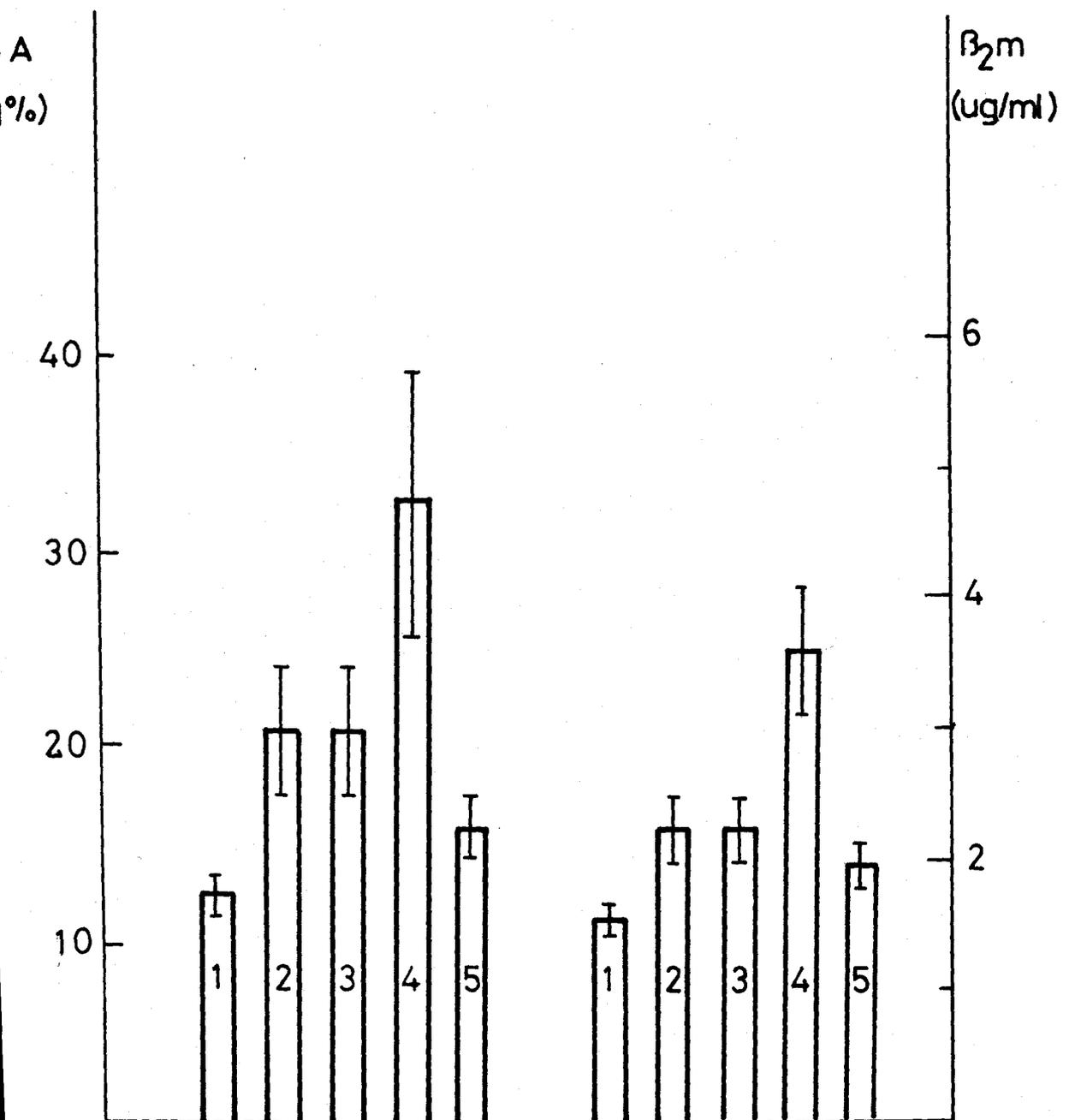


FIGURA 42 Evolucion melanomas

| | <u>ANTES TRATAMIENTO</u> | | <u>DESPUES TRATAMIENTO</u> | | <u>RECIDIVA</u> | | <u>REMISION</u> | |
|-----------|--------------------------|------------------------------|----------------------------|------------------------------|-----------------|------------------------------|-----------------|------------------------------|
| | <u>LSA</u> | <u>$\beta 2m$</u> | <u>LSA</u> | <u>$\beta 2m$</u> | <u>LSA</u> | <u>$\beta 2m$</u> | <u>LSA</u> | <u>$\beta 2m$</u> |
| 1 | 42.17 | 8.4 | 16.4 | 2.4 | - | - | 12.5 | 1.60 |
| 2 | 28.30 | 4.2 | 20.5 | 2.4 | - | - | 12.6 | 1.58 |
| 3 | 34.9 | 8.41 | 28.7 | 4.38 | - | - | - | - |
| 4 | 13.67 | 2.5 | 10.5 | 2.3 | - | - | - | - |
| 5 | 18.91 | 5.18 | 15.6 | 3.5 | - | - | - | - |
| \bar{x} | 27.59 | 5.74 | 18.34 | 3.0 | - | - | 12.55 | 1.60 |
| ds | 10.35 | 2.34 | 6.08 | 0.82 | - | - | 0.05 | 0.05 |

TABLA LXIII. EVOLUCION DE LOS NIVELES DE LSA Y $\beta 2m$ EN EL CURSO DE LA ENFERMEDAD (LINFOMAS).

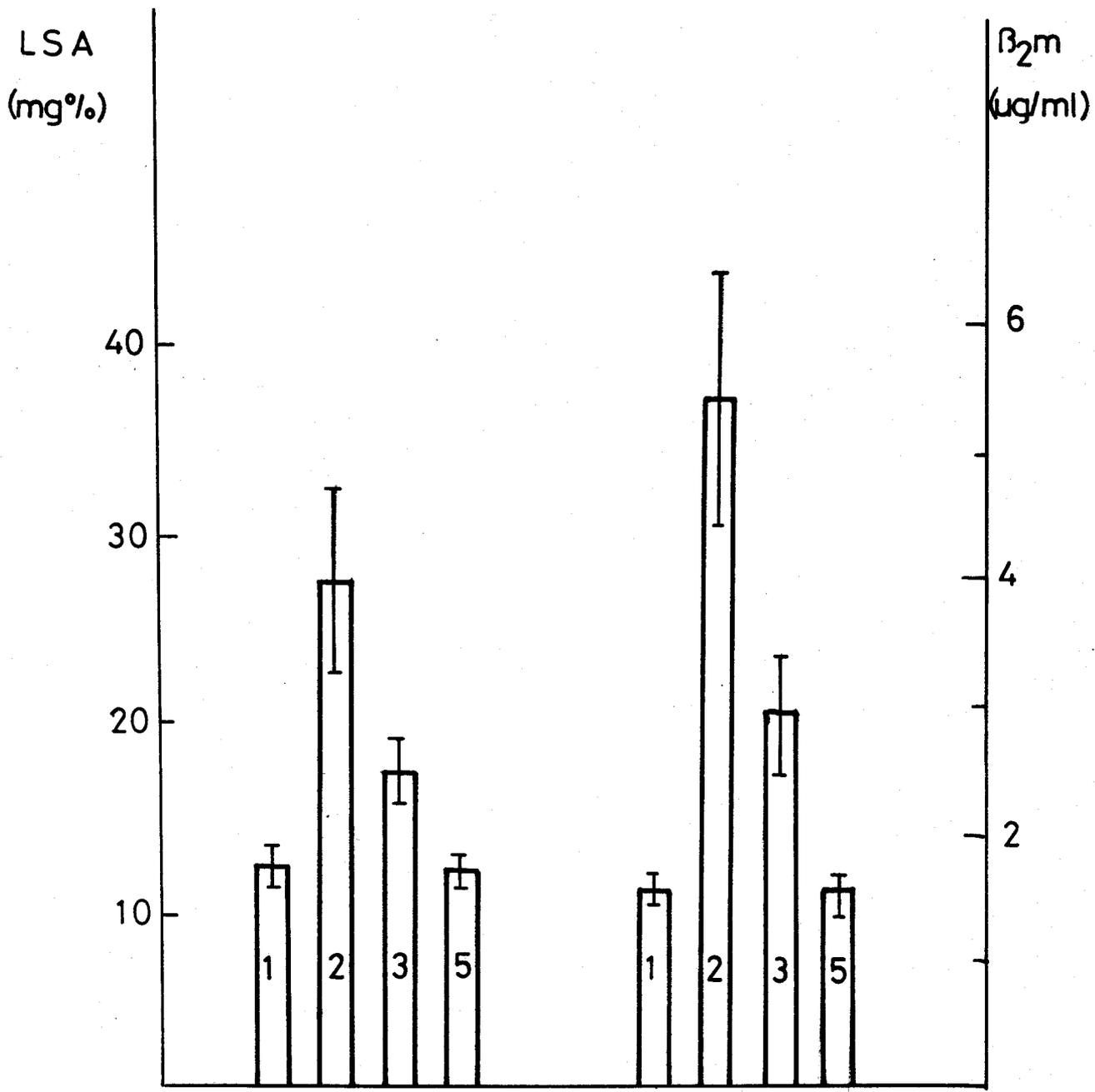


FIGURA 43 Evolucion linfomas

| | <u>ANTES TRATAMIENTO</u> | | <u>DESPUES TRATAMIENTO</u> | | <u>RECIDIVA</u> | | <u>REMISION</u> | |
|-----------|--------------------------|-----------------------------|----------------------------|-----------------------------|-----------------|-----------------------------|-----------------|-----------------------------|
| | <u>LSA</u> | <u>β2m</u> | <u>LSA</u> | <u>β2m</u> | <u>LSA</u> | <u>β2m</u> | <u>LSA</u> | <u>β2m</u> |
| 1 | 15.99 | 1.70 | 16.01 | 2.02 | - | - | - | - |
| 2 | 13.20 | 1.25 | 14.5 | 1.73 | 29.37 | 4.20 | 11.63 | 1.5 |
| 3 | 26.75 | 4.1 | 18.32 | 3.46 | 29.87 | 4.08 | 10.80 | 1.6 |
| 4 | 20.07 | 2.38 | 13.40 | 2.00 | - | - | - | - |
| \bar{x} | 19.00 | 2.38 | 15.65 | 2.30 | 29.57 | 4.1 | 11.43 | 1.5 |
| ds | 5.09 | 1.07 | 1.66 | 0.70 | - | - | - | - |

TABLA LXIV. EVOLUCION DE LOS NIVELES DE LSA Y β 2m EN EL CURSO DE LA ENFERMEDAD (CANCER DE RECTO).

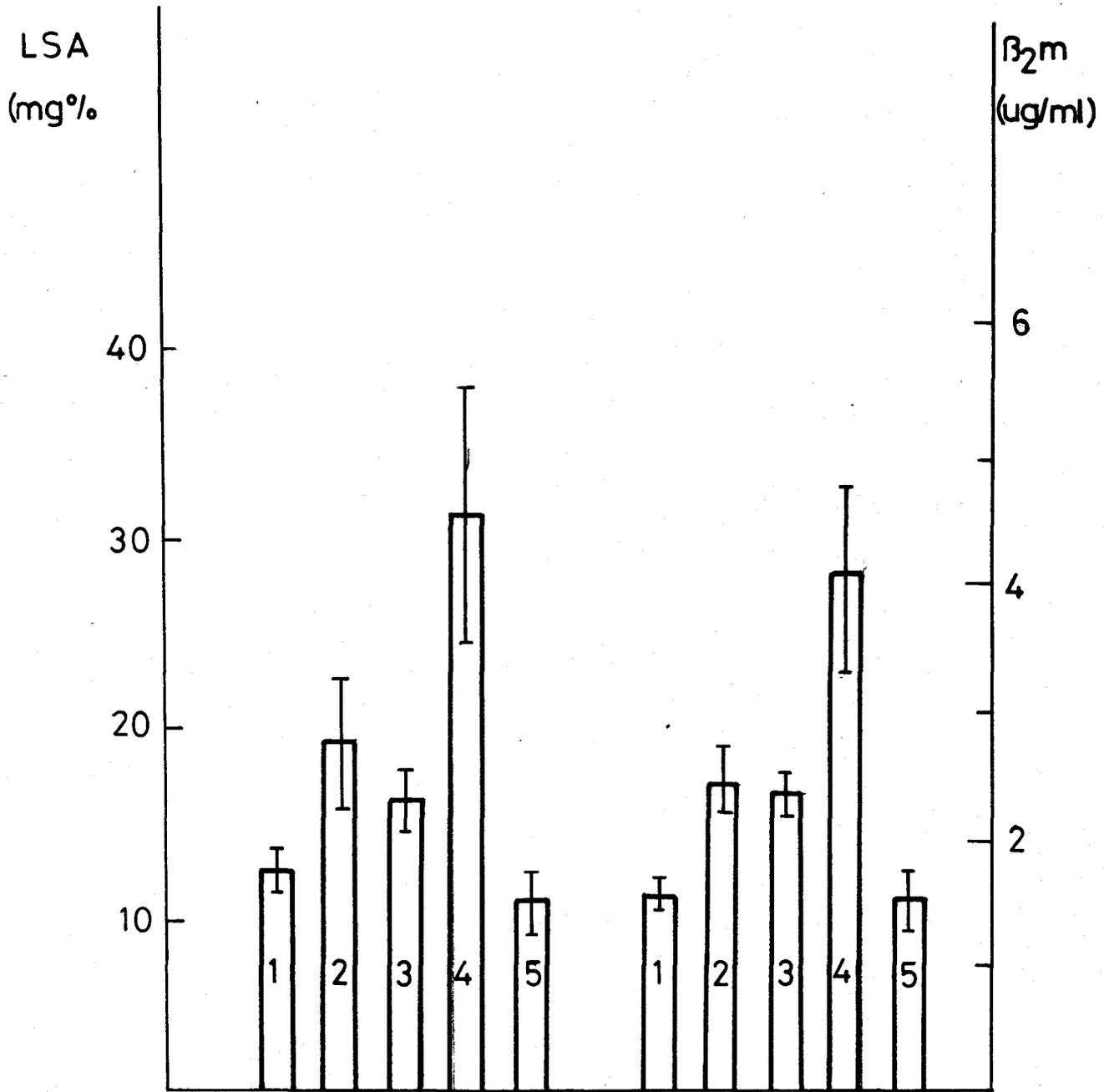


FIGURA 44 Evolucion Ca. recto

Por último estudiamos la correlación existente entre el LSA y la β_2m en todos los pacientes afectados de neoplasias y en los distintos grupos que hemos seleccionados. Los coeficientes de correlación y la significación estadística aparecen en la Tabla LXV.

Podemos observar como los mejores coeficientes de correlación corresponden al cáncer de mama, cáncer de recto, cáncer de páncreas y linfomas, aunque el cáncer de páncreas no posee significación estadística.

Una buena significación pero con un coeficiente de correlación débil se dá en el grupo en general y en el cáncer de pulmón.

El hecho de que no aparezcan mejores coeficientes puede ser debido a que por un lado los dos parámetros estudiados no sirven igualmente según el tipo de cáncer a estudiar, en otro caso el escaso número de la muestra estudiada y en los casos en que los coeficientes son mejores hay que reconocer que los pacientes de ambos grupos (recto y mama) se hallan en estadíos III y IV, estadíos muy avanzados y que dan cifras disparatadamente altas, tanto para el LSA como para la β_2m .

| <u>GRUPO</u> | <u>COEF. CORREL.</u> | <u>p</u> | <u>n</u> |
|------------------|----------------------|----------|----------|
| TODOS | 0.5346 | 0.001 | 156 |
| HODGKIN | 0.4696 | - | 16 |
| CA. PULMON | 0.4860 | 0.001 | 51 |
| LINFOMA | 0.7554 | 0.01 | 11 |
| MELANOMA | 0.3501 | - | 12 |
| LEUCEMIAS | 0.2714 | - | 8 |
| CA. RECTO | 0.9201 | 0.01 | 6 |
| CA. COLON | - 0.1469 | - | 7 |
| CA. OVARIO | 0.4122 | - | 9 |
| CA. GASTRICO | - 0.2275 | - | 9 |
| MIELOMAS | 0.6781 | - | 6 |
| CA. PANCREAS | 0.8076 | - | 6 |
| HEPATOCARCINOMAS | - 0.048 | - | 6 |
| CA. MAMA | 0.9812 | 0.001 | 6 |

TABLA LXV. COEFICIENTES DE CORRELACION Y SIGNIFICACION ESTADISTICA ENTRE EL LSA Y LA β_2m .

VII. DISCUSION

El interés de los investigadores por encontrar una nueva sustancia que pueda ser utilizada como marcador tumoral es un hecho que no ha cesado en los últimos años y que no cesa en la actualidad por la enorme importancia que tiene el hallazgo de / un parámetro que nos delate la existencia de una enfermedad neoplásica.

BARCLAY y cols. (125) en 1972 comprobaron que los individuos que padecían cáncer tenían la fracción (HDL-2) de las lipoproteínas de alta densidad aproximadamente la mitad que los individuos normales, y posteriormente, SKIPSKY (126) estudió mediante cromatografía en capa fina, extractos de HDL-2 procedentes de pacientes con cáncer, observando que existían determinadas sustancias que no estaban presentes en los mismos extractos de individuos normales.

Estas sustancias, resultaron ser complejos de proteínas, lípidos y carbohidratos y fueron designados como neoproteolípidos, encontrándose dos tipos, según que los extractos fueran / procedentes de humanos o de animales con distintos tipos de cáncer.

El mismo autor (127) demostró años más tarde, que las ratas con hepatomas tenían elevados ciertos sialogangliósidos en el suero se comparaba con ratas normales. Estos resultados fueron apoyados por DNISTRAN (128) cuando al estudiar las células de membrana procedentes de hepatomas, vió que contenían elevadas cantidades de gangliósidos en comparación con las células de membrana de un hígado normal, siendo estos resultados asimismo concordantes con el aumento en sangre de los sialogangliósidos en individuos con células tumorales.

A la vista de estos resultados iniciales, sería lógico pensar que la distribución de los gangliósidos, los cambios de los niveles de ácido siálico o del ácido siálico unido a los lípidos y la aparición de otros nuevos compuestos, nos podrían ayudar a clasificar si la depresión inmunológica que se aprecia en pacientes con cáncer puede estar en algún modo relacionada con algunas funciones potenciales de los gangliósidos en las membranas.

Las transformaciones celulares dentro de este tipo de investigación adquirieron importancia al demostrar HAKAMORI (129) que en los fibroblastos de los riñones de hamster se producían cambios en los glicolípidos. En las células transformadas, química o viralmente parece ser que ocurre según ARADY (37) un bloqueo en la síntesis de gangliósidos, y que dicho bloqueo causa una simplificación en la estructura de ellos.

Estos estudios realizados con animales y con células cultivadas y sus esperanzadores resultados fueron los motivos que llevaron a cabo el preguntarse si no podrían ocurrir los mismos cambios en los tumores malignos de los humanos.

Sin embargo dichos cambios no pudieron ser detectados tal y como lo afirma TAO (130) debido a que la composición de los gangliósidos en el riñón humano no es conocida, encontrando tan solo hematosidos.

En vista de esto KERAMEN (131) trató de analizar no solo en contenido de gangliósidos sino también el de ácido neuramínico (NANA) con el fin de observar si existían diferencias en el

contenido de ambos tejidos normales y malignos. El motivo de / incluir al NANA fué debido a que se había observado un descenso del mismo en las células virales transformadas y un aumento en / los carcinomas renales y en las leucemias humanas.

Dicho autor estudió 25 adenocarcinomas gástricos y 2 adenocarcinomas de colon, encontrando en la mayoría de los gástricos y en los 2 de colon un contenido de NANA cuatro veces superior a lo normal, sin embargo, el patrón de gangliósidos parecía normal y estos hallazgos no concuerdan con los datos obtenidos cuando se producen en las células transformaciones de tipo viral o químico.

La dificultad de desarrollar un método para medir los gangliósidos o los sialogangliósidos y que además utilizara pequeñas cantidades de muestra, hizo que KATOPODIS (132) desarrollará el método de la medición del ácido siálico unido a los lípidos (LSA), método utilizado en este trabajo, mejor que la medida directa de los sialogangliósidos.

A partir de ahí surgieron numerosos trabajos en los que / se detectó elevados niveles de LSA, así DNISTRAN (134) estudió el cáncer de mama, DUNZENDORFER (134) el cáncer de próstata y / vejiga, ERBIL (135) el cáncer de colon y recto, y el propio KATOPODIS (136) hizo más extensivo este estudio cubriendo un área de malignidades que incluyen melanomas, cáncer de pulmón, enfermedad de Hodgkin, sarcoma y leucemia mieloide aguda y crónica.

Es evidente que a la aparición de un nuevo método, surjan otros que estudien la especificidad y la sensibilidad del mismo por si solo y comparándolo con otros marcadores tumorales. Así HANSEN (137) lo comparó con la determinación del antígeno carcinoembrionario (CEA). Dicho test es positivo en un 5-10% de los examinados; dependiendo del ensayo utilizado (especificidad del 90-95%) disminuyendo su especificidad al 65% en aquellos pacientes con enfermedades benignas y al 30% en pacientes con alteraciones gastrointestinales benignas.

DNISTRAN (138) comparó también la sensibilidad del LSA y CEA en pacientes con siete tipos diferentes de cáncer; el LSA /

dentro del cáncer de colon estaba elevado en 12 de 18 pacientes y el CEA en 16, sin embargo ninguno de los 12 melanomas estudiados, y solo cinco de los 18 Hodgkin estudiados tuvieron un CEA positivo, mientras que el LSA estaba elevado en 10 melanomas y 17 Hodgkin.

Por otro lado, parece ser que existe una posible relación entre los glicoesfingolípidos y la formación de metástasis en / ciertos tumores experimentales (139). La formación de metástasis es un fenómeno muy complicado y está afectado por muchos / factores como demostraron FIDLER (140) y WEISS (141); aparentemente la adhesión de células malignas y/o la adhesión de células malignas de la médula ósea a células de nloques más distantes / puede ser la clave de la formación de metástasis, según la opinión de NICHOLSON (142), SALISBURY (143), WEISS (144) y el propio NICHOLSON (145). Recientemente, otros autores como ROSEMAN (38), CHIPOWSKY (146) y WEIGAL (147), consideran que algunos / carbohidratos complejos, incluyendo a los esfingolípidos puedan determinar o al menos participar en la adhesión celular. Por / eso, parece bastante lógico pensar que las cantidades de glicoesfingolípidos presentes en las células de superficie de metástasis y tumores experimentales no metastizados deben ser diferentes como ya hemos comentado anteriormente.

La B2m es una proteína de pequeño peso molecular aislada y caracterizada por BERGGARD y BEARN a parti de la orina de pacientes con diversas tubulopatías (60). Sus aplicaciones clínicas / residen en su peculiar metabolismo y propiedades, siendo útil / para el diagnóstico de la insuficiencia renal, localización de / las infecciones urinarias, control de los trasplantes renales, / como índice de maduración fetal, etc,. Con el fin de encontrar nuevos marcadores tumorales, se han llevado a cabo, diversos estudios "in vitro" demostrando que algunas líneas celulares tumorales son capaces de sintetizar y secretar al medio de cultivo / grandes cantidades de Beta-2-microglobulina, superiores a las liberadas por células normales, variando la cuantía de la producción según el tipo de tumor (78,88).

En los primeros estudios realizados y en los que se demostró que los niveles séricos de esta microproteína están elevados en pacientes con enfermedades neoplásicas y que por lo tan-

to podrían ser utilizados como marcador tumoral, indican que en los desórdenes proliferativos de células B (148, 149 y 64) se encuentran los valores más elevados y que en la leucemia linfocítica crónica (150) y en los linfomas malignos (151) parece ser que existe correlación con la masa tumoral.

Son numerosos los trabajos que han tratado de relacionar los niveles de la β_2m con distintas enfermedades neoplásicas y así HAGBERG (151) estudió los linfomas malignos, POULIK (152) / el cáncer del tracto digestivo y el de pulmón; REVILLARD (153) el hepatocarcinoma, HALL (79) estudia el metabolismo renal de esta sustancia, MARTINEZ-VELA (154) las efusiones serosas, KOCH (155) evaluó la posibilidad de utilizar esta sustancia para detectar metástasis en el sistema nervioso central; CHILD (156) / promulgó su uso en la monitorización de los linfomas, el mismo autor (157) utilizó a la β_2m como indicador pronóstico de la / mielomatosis y por último TEASDALE (158) efectuó un extenso estudio en sujetares controles y en pacientes con diversos tipos de cáncer.

Basándonos en todo lo expuesto hasta ahora fue lo que nos motivó el estudio del LSA y la β_2m en pacientes con distintos / tipos de neoplasia con el fin de comprobar si dichos parámetros pueden ser utilizados como marcadores tumorales estudiando al / mismo tiempo si existen diferencias en cuanto al contenido de / ambos, según los estadios de la enfermedad y la respuesta a la terapéutica.

Las distintas patologías encontradas en los enfermos estudiados, infección pulmonar, hepatomegalia, fiebre, herpes, / anemia, epigastralgia, dolores lumbares, TBC, amenorrea y expectoración purulenta no parecen afectar los niveles de LSA.

Por otro lado, los niveles séricos de la β_2m dependen tanto de su producción como de su filtración y catabolización a nivel renal, por lo que si nosotros en nuestro estudio descartamos la existencia de un fallo en la función renal de los sujetos que forman parte de él, descartaremos una de las variables / que influyen sobre el nivel sérico de esta sustancia, y por tanto el aumento de la misma se deberá a una mayor tasa de produc-

ción. Este es por tanto el motivo por el que se han rechazado todos los pacientes que no poseían una buena función renal.

Con respecto al ácido siálico no hemos encontrado diferencias significativas ni con la edad ni con el sexo obteniéndose para el grupo control unas cifras de $13,61 \pm 2,95$ mg% para toda la población y $13,84 \pm 3,14$ mg% para los varones y $13,10 \pm 2,39$ mg% para las hembras.

Nuestras cifras son ligeramente inferiores a las aportadas por KATOPODIS (136) ya que dicho autor dá para el grupo control valores de $17,7$ mg%, y coinciden plenamente con las aportadas por DNISTRIAN (159) que son de $13,8$ mg%.

En cuanto a los valores de β_2m , en el grupo control no encontramos diferencias con respecto al sexo, ya que toda la población arroja unas cifras de $1,74 \pm 0,62$ $\mu\text{g/ml}$ mientras que los varones tienen $1,86 \pm 0,65$ $\mu\text{g/ml}$ y las hembras $1,61 \pm 0,58$ $\mu\text{g/ml}$.

Sin embargo con respecto a la edad si aparecen diferencias estadísticamente significativas entre la población menor de 30 años y aquellos que se encuentran en la década de los 50. El grupo en general tiene unos valores de $1,74 \pm 0,62$ $\mu\text{g/ml}$, el grupo menor de 30 años $1,60 \pm 0,61$ $\mu\text{g/ml}$ y los de la década 50-60 años $2,10 \pm 0,82$ $\mu\text{g/ml}$. Entre estos dos últimos grupos aparece una significación estadística en el límite con una $p < 0.05$.

A pesar de ello no hemos tenido en cuenta esa diferencia porque aunque la hemos encontrado igual que muchos otros autores, lo mismo que ellos opinamos que la cifra de 3 $\mu\text{g/ml}$ debe ser considerada como dintel a partir del cual la β_2m es considerada como anormal o patológica. Por otro lado las cifras encontradas en las distintas patologías estudiadas como ya hemos visto son muy superiores a la de $2,10$ $\mu\text{g/ml}$ que ha sido la más alta encontrada en el grupo control.

Nuestras cifras prácticamente coinciden con las encontradas por CONSTANTINIDES (160) el cual en sujetos sanos donantes de sangre obtuvo una media de $1,5 \pm 0,6$ $\mu\text{g/ml}$.

TEADSALE (158) encontró cifras también prácticamente iguales a las nuestras con una media de $1,87 \pm 0,87 \mu\text{g/ml}$, sin embargo el no utilizó como nosotros en el grupo control a individuos totalmente sanos, sino que utilizó a pacientes con enfermedades benignas. A pesar de ello y a la vista de los resultados podemos afirmar que al parecer las enfermedades benignas no afectan los niveles de $\beta_2\text{m}$.

Con respecto a la influencia de la edad sobre la concentración sérica de la $\beta_2\text{m}$ estos mismos autores encuentran que ésta va aumentando con cada década $0,24 \mu\text{g/ml}$ y nosotros observamos que no existe variación hasta los 40 años que aumenta $0,17 \mu\text{g/ml}$ en la década 40-50 años, y otro aumento de $0,34 \mu\text{g/ml}$ en la década de los 50-60 años permaneciendo a partir de ahí estables los valores de $\beta_2\text{m}$.

Las cifras de $\beta_2\text{m}$ pueden encontrarse alteradas en las enfermedades de tipo inmune (161, 162, 163) en las afecciones hepáticas tales como la hepatitis vírica o cirrosis alcohólica en las que la elevación puede estar en relación con el grado de infiltración leucocitaria del hígado (184) en la enfermedad de Crohn, en la sarcoidosis y en procesos inflamatorios (165, 166) por ello como comentábamos anteriormente el grupo control nuestro estaba formado por personas que no padecían ningún tipo de enfermedad y en base a esto podemos explicar las diferencias encontradas con TEASDALE (158) que utilizó en sus controles pacientes con enfermedad mamaria benigna o enfermedad gastrointestinal asimismo benigna.

La experiencia en el Laboratorio y el mejor desarrollo de la técnica, nos ha llevado a perfeccionar ésta en el sentido de alcanzar una mayor especificidad y sensibilidad de los test antes anunciados.

Así, mientras KATOPODIS, con respecto al ácido siálico bajó sus cifras de $22,60 \text{ mg\%}$ (132) a $19,62 \text{ mg\%}$ (136) nuestro equipo ha conseguido asimismo perfeccionar la técnica consiguiendo disminuir las desviaciones, y así mientras al principio obtuvimos (167) cifras superiores a los 23 mg\% , T. VALS (168) posteriormente las baja a $22,98 \text{ mg\%}$ y actualmente hemos conseguido /

las cifras que se aportan en este trabajo (169, 170).

Si tomamos como límite de normalidad el valor medio obtenido más menos dos desviaciones estandar de los 159 individuos del grupo control solo 5 tuvieron valores de LSA superiores a / 19,51 mg% ($X + 2sd$) y 29 los tuvieron inferiores a 7,87 mg% / ($X - 2sd$). De los 5 individuos con cifras superiores todos / fueron varones, no sobrepasando ninguna mujer los valores considerados como normales.

Esto indica que la especificidad del test de LSA es del / 87,4% para la población global, porque como veremos más adelante en algunas patologías llega al 100%. Con respecto a la especificidad para nosotros es del 95% mientras que para KATOPODIS (136) fué del 93% y para T.VALS (168) del 72%.

Con lo que respecta a la $\beta 2m$ vamos a hacer dos distinciones, una la ya antes comentada de que muchos autores toman como dintel máximo la cifra de 3 $\mu g/ml$ a partir del cual los valores se consideran patológicos, y la segunda distinción es la de tomar como tope máximo la cifra de 2,4 $\mu g/ml$ que nos viene dada / en la técnica que nosotros hemos utilizado, cifra que evidentemente al ser más pequeña nos dará una mayor sensibilidad y especificidad.

Si consideramos como tope 3 $\mu g/ml$ un total de 3 individuos controles de los 100 estudiados exceden este valor; lo / que indica que solo el 3% de las personas estudiadas se salen de los límites normales, cifras que son ligeramente inferiores a las aportadas por POULIK (152), que da un 3,92% y muy inferiores a los dados por SAUCO (171) que son de 6,25%.

Evidentemente estos resultados empeoran al bajar los niveles a 2,4 $\mu g/ml$ ya que aqui aparecen 11 individuos con cifras / inferiores a las comentadas anteriormente, de las cuales 8 son varones y 3 son hembras. No podemos hacer comparación con la opinión de estos autores por no haber encontrado las referencias oportunas. A pesar de ello y de aqui en adelante, nosotros tomaremos otros valores ya que lo estimamos oportunos por ser los que nos ofrece la técnica antes estudiada, a pesar de

que el valor medio obtenido ($1,74 \mu\text{g/ml}$) más dos desviaciones / estandar ($1,24$) nos dá un valor de $2,98 \mu\text{g/ml}$ practicamente / idéntica a la que indican otros autores.

Una vez analizados los grupos controles vamos a pasar a / estudiar los distintos grupos estudiados por separado incluyen- do a otro grupo más que abarque a todos los pacientes con enfer- medades neoplásicas.

Los 159 individuos estudiados con distinta patología tie- nen una edad media de $37,32 \pm 12,33$ años, de ellos, 111 son va- rones con una edad media de $38,42 \pm 10,89$ años, y el resto, 48, son hembras con una edad media de $39,89 \pm 12,44$ años. Los valo- res de LSA para dicho grupo son de $29,47 \pm 6,00 \text{ mg\%}$ para el gru- po completo, $28,74 \pm 5,64$ para los varones y $29,75 \pm 8,60 \text{ mg\%}$ / para los hembras. En dicho grupo no aparecen diferencias esta- dísticamente significativas ni con respecto a la edad ni con / respecto al sexo.

Nuestros valores para la población con cáncer en general coincide plenamente con la dada por DNISTRIAN (138) que en 125 individuos con diversos tipos de cáncer obtienen valores de / $28,30 \pm 10,20 \text{ mg\%}$ y con HIRSHAUT (172) que en un exhaustivo es- tudio que incluye a 670 individuos con cáncer da, valores de / $29,80 \pm 8,86 \text{ mg\%}$. Nuestros resultados no solo coinciden con es- estos autores en el grupo patológico, sino que también lo hace en el grupo control, ya que para nosotros los valores de LSA / son de $13,61$ y para DNISTRIAN de $13,8$ (159) y para HIRSHAUT de $14,1 \text{ mg\%}$ (172).

Otros autores como KATOPODIS (136) y MUNJAL (173) dan ci- fras ligeramente superiores. Para el primero en 196 individuos los valores son de $25,8 \text{ mg\%}$ y para el segundo de $21,0 \text{ mg\%}$ y mien- tras que HORGAN (174) da cifras mucho más altas ya que alcanzan valores de $88,70 \pm 52,70 \text{ mg\%}$; en este trabajo habrá que desta- / car con el fin de justificar la enorme diferencia existente en- tre él y los demás, que su grupo es muy pequeño ya que solo in- cluye a 40 individuos, que está hecho en estadíos muy avanzados y que además obtiene unas desviaciones estandar muy grandes en comparación con las demás.

Otros autores como SNYDER (175) y NIGAN (176) han observado también aumento de los niveles de ácido siálico unidos a / otras sustancias del suero en pacientes con cáncer. El ácido / siálico es un componente estructural de muchas glicoproteínas, y en este sentido WERNER (177) estudió con detenimiento la relación existente entre las glicoproteínas y el cáncer; no debemos olvidar en ese sentido que dos de los principales marcadores tumorales el carcinoembrionario y la alfafetoproteína son glicoproteínas.

WINZLER (178) observó que en los pacientes con cáncer existían variaciones estadísticamente significativas en los niveles de ácido siálico unido a las proteínas, pero dicho estudio no / aportó más datos porque los aumentos eran similares a cuando / los pacientes sufrían solo enfermedades inflamatorias.

Con respecto a la β_2m las cifras que obtenemos en el grupo patológico son de $3,96 \pm 1,17 \mu\text{g/ml}$ siendo para los varones de $3,84 \pm 1,11$ y de $3,93 \pm 1,32 \mu\text{g/ml}$ para las hembras.

Dichos resultados coinciden plenamente con lo publicado / por otros autores como POULIK (179), SHUSTER (148) y TEASDALE / (158) que dan cifras que rondan a los $4 \mu\text{g/ml}$.

El estudio de correlación realizado entre el LSA y la β_2m en los pacientes con cáncer refleja un coeficiente pobre de / $0,53$ pero con una alta significación estadística $p < 0,001$.

Ciñéndonos ya a las distintas patologías estudiadas vamos a comenzar por la enfermedad de Hodgkin y el cáncer de pulmón / que son los dos grupos más numerosos incluidos en nuestro estudio.

51 individuos forman el grupo del cáncer de pulmón, 49 varones y dos hembras. La edad media del grupo es de $57,54 \pm 9,67$ años siendo de $58,08 \pm 8,71$ para los varones y $44,50 \pm 26,16$ para las hembras. Los valores de LSA para dicho grupo son de / $27,84 \pm 10,97 \text{ mg\%}$ siendo de $27,78 \pm 11,17$ para los varones y / $29,24 \pm 4,76$ para las hembras. Al igual que ocurrió con el / grupo patológico no existen diferencias significativas entre la

edad y el sexo, pero sí la existe evidentemente cuando se la / compara con el grupo control como vimos en el apartado de resul tados.

La especificidad de la técnica es muy alta del 93% ya que de los 51 individuos estudiados solo 11 dan valores normales de LSA.

Los valores obtenidos por nosotros coinciden plenamente / con los publicados en la literatura, así, KATOPODIS (136) da ci fras de 28,7 mg% en un estudio que incluye a 93 individuos con cáncer de pulmón, DNISTRIAN (138) da cifras de $29,8 \pm 10$ mg% y, MUNJAL (173) en su estudio que incluye a pulmón, colorectal y ma ma obtiene los valores más altos con cifras de 31,8 mg%; las / otras dos patologías dan valores inferiores, pero cuando él lo compara con otro marcador tumoral como el CEA, el cáncer de pul món ocupa el segundo lugar, tras el colorectal, y RAYNES (180) da cifras de $28,2 \pm 11,4$. Para este autor el test de LSA no es lo suficientemente bueno para la detección del cáncer de pulmón esa es la opinión de otros autores pero muchos de ellos como / DNISTRIAN (138) opinan que la combinación de LSA y el CEA es / enormemente útil en el cáncer de pulmón.

Dentro de la patología del cáncer de pulmón es normal ha- cer la distinción entre adenocarcinoma oat-cell y epidermoide. Un solo trabajo hemos encontrado en la literatura y se debe a / DNISTRIAN (159) para él los adenocarcinomas dan valores de LSA de 25,8 mg% mientras que las oat-cell la dan de 27,8 mg%; y los epidermoides 25,1; dichas cifras no se diferencian estadística- mente ni entre sí, ni con el grupo de cáncer de pulmón en gene- ral que en dicho trabajo es de 27,0 mg%

Cifras similares obtenemos nosotros ya que en 34 epider- / moides obtenemos un valor de $28,86 \pm 10,36$ mg% en 4 adenocarci- nomas cifras de $29,25 \pm 12,48$ y en 13 oat-cell valores de - / $24,48 \pm 10,98$ cifras que no son estadísticamente significativas ni entre sí, ni con respecto al grupo de cáncer de pulmón en ge neral.

La β_2m dentro del cáncer de pulmón nos da unos valores de $3,46 \pm 1,42$ $\mu g/ml$ siendo para los varones de $3,48 \pm 1,43$ y de /

3,10 ± 1,56 para las hembras. La sensibilidad es asimismo muy alta, del 96% ya que solo 10 pacientes obtuvieron valores normales.

En vista de lo comentado anteriormente con respecto a los adenocarcinomas, oat-cell y célula escamosa, dado que las cifras son practicamente iguales hemos estudiado a los cánceres de pulmón como si fueran un solo conjunto al igual que han hecho otros autores (152).

En el estudio hecho por POULIK (152) no especifican los niveles medios de β_2m sino que indican solamente cuantos pacientes tienen cifras por encima de 3 $\mu g/ml$. POULIK realiza dos grupos no especificando si se ha seguido algún criterio para formarlas o simplemente han sido formadas al azar; el primer grupo compuesto por 25 individuos, 16 tuvieron cifras superiores a los 3 $\mu g/ml$ lo que supone un 64% de positivos, mientras que el segundo grupo que repetimos ignoramos de que se trata consta de 24 cánceres de pulmón y sólo 4 tienen cifras superiores a los 3 $\mu g/ml$ lo que supone un 16,7% de positividad.

En nuestro caso de 51 individuos estudiados como comentábamos antes, 41 dieron cifras por encima de los 3 $\mu g/ml$ lo que indica una positividad muy alta del 80%. POULIK no explica en que estadios se encuentran los enfermos estudiados y podría darse la circunstancia, especialmente en el segundo grupo, que la mayoría de las neoplasias pulmonares estuvieran poco evolucionadas, lo que explicaría la falta de positividad.

En cuanto a la correlación de los dos parámetros estudiados el coeficiente fue bajo de 0,48 y la significación estadística alta con una $p < 0,001$.

16 pacientes con enfermedad de Hodgkin incluimos en este estudio de los cuales 13 son varones y 3 hembras. Las cifras obtenidas para cada uno de ellos con respecto a la edad fueron de 35,37 ± 14,25, 37,69 ± 14,68 y 25,33 ± 6,65 años respectivamente.

Los valores de LSA obtenidos fueron al igual que encontra

ron otros autores, los más altos; en nuestro caso, solo fueron / superados por el hepatocarcinoma y el cáncer de mama como veremos más adelante, pero hay que tener en cuenta que el número de individuos estudiados en estos dos últimos casos fué sensible- / mente inferior a los Hodgkins. El grupo de Hodgkin dió unos va- / lores de LSA de $37,56 \pm 14,81$ mg% siendo de $35,28 \pm 15,59$ para los varones y de $47,42 \pm 2,81$ para las hembras. No hemos podi- / do precisar si existen diferencias significativas con respecto al sexo, al incluirse en el estudio solo a 3 hembras.

Estos resultados se encuentran por encima de los hallados por otros autores, y así KATOPODIS (136) en 51 pacientes con / Hodgkin, encuentra cifras de 29,7 mg%, HIRSHAUT (172) en 45 pa- / cientes encuentra cifras de 31 mg% y DNISTRIAN (138) en 18 pa- / cientes cifras de 34,2 mg%.

Es curioso como se ve a lo largo de este estudio la enorme coincidencia que se dan entre nuestras cifras y las de DNIS- / TRIAN (138), dicha coincidencia creemos que esta relacionada no solo porque el método a seguir es el mismo exactamente, sino / también porque los valores obtenidos para el grupo control son idénticos a los nuestros, mientras que otros autores los dan / más altos.

Para dicho autor la determinación de LSA en la enfermedad de Hodgkin es un test seguro y fidedigno y esa opinión es com- / partida por otros autores y por nosotros mismos. HIRSHAUT (172) destaca la enorme sensibilidad del método pues de 45 pacientes estudiados, 42 tuvieron cifras patológicas, lo que indica que / la positividad del test es del 93%.

En nuestro caso la positividad es del 100% pues ningún in- / dividuo de los 16 estudiados, ni varones ni hembras dieron ci- / fras normales y resultados análogos encuentra KATOPODIS (136) / ya que cuando compara el CEA con el LSA encuentra que el CEA es- / tá aumentado solo en 5 de los 18 Hodgkins, mientras que el LSA está aumentado en 17 de los 18 pacientes, lo que dá una positi- / vidad del 95%.

En nuestra opinión quizás ésta sea una de las patologías donde más adecuada está la determinación del LSA ya que los va-

lores distan mucho de las cifras normales y como veremos posteriormente sirven para el seguimiento y control terapéutico de / la misma.

Valores no tan elevados se encuentran para la β_2m ; el grupo da cifras de $3,22 \pm 1,47 \mu\text{g/ml}$ siendo de $3,18 \pm 1,61$ para los varones y $3,36 \pm 0,76 \mu\text{g/ml}$ para las hembras.

Estos resultados que en principio pueden ser desalentadores, coinciden con lo encontrado por otros autores, y así CHILD (156) en un trabajo realizado sobre 215 pacientes con enfermedad de Hodgkin encuentra una positividad del 47% sobre valores de $3 \mu\text{g/ml}$. Cuando CHILD estudió los casos viéndolos bajo el / punto de vista de casos favorables o desfavorables, encontraron que la β_2m sérica está elevada en el 78% de los casos considerados desfavorables.

LEONI (181) estudian a 71 pacientes y encuentran que en / los estadios I y II las cifras de β_2m son practicamente normales, mientras que en los estadios III y IV alcanzan valores de $3,10 \pm 0,5$.

CONSTANTINIDES (160) en 20 pacientes con Hodgkin encuentran cifras medias de $2,9 \pm 1,3 \mu\text{g/ml}$; HAGBERG (151) en 40 pacientes observan que la β_2m está elevada en el 65% de ellos con una cifra media superior a la obtenida por nosotros y los otros autores mencionados, ya que alcanza una media de $4,3 \mu\text{g/ml}$.

Hay que tener presente que una cosa es que den positivas las diferencias con el grupo control y otra cosa es que los valores se salgan del límite de la normalidad. En el caso de la enfermedad de Hodgkin las diferencias entre los valores de β_2m con el grupo control son estadísticamente significativas, pero hemos partido de la base de que los valores normales hasta $3 \mu\text{g/ml}$ y la media en este caso es de $3,2 \mu\text{g/ml}$, justamente lo contrario a lo que ocurrió con el LSA, y esto hace que la correlación sea mala con un coeficiente de 0,46 y sin significación estadística.

El siguiente grupo corresponde a los linfomas. El grupo

está formado por 11 individuos 7 varones y 4 hembras con edades de $51,54 \pm 14,78$ para el grupo entero $46,71 \pm 13,59$ para los varones y $60,00 \pm 14,46$ para las hembras.

Las cifras obtenidas para el LSA son también muy altas como ocurría en la enfermedad de Hodgkin con valores de $32,10 \pm 11,53$ mg% repartidas en $30,15 \pm 8,78$ para varones y $35,51 \pm 16,28$ para las hembras.

Los comentarios que se pueden hacer referentes a los linfomas son prácticamente iguales a los realizados con la enfermedad de Hodgkin. Para DNISTRIAN (138) los valores que se alcanzan dentro de esta patología son de $28,70 \pm 11,0$ mg% y al igual que opinaba para el Hodgkin el test de LSA es un marcador confiable, seguro y fidedigno.

De los 11 individuos estudiados solo dos tuvieron valores normales de LSA, lo que indica que la positividad es también muy alta, del 81%.

Con respecto a la β_2m aquí sí se alcanzan valores francamente patológicos con cifras de $6,26 \pm 2,9$ $\mu\text{g/ml}$ para el grupo en general $6,12 \pm 2,68$ $\mu\text{g/ml}$ para los varones y $6,50 \pm 3,70$ $\mu\text{g/ml}$ para las hembras. La positividad aquí es más alta que para el LSA ya que de los 11 individuos, solo 1 tuvo cifras normales de β_2m ; la positividad es por tanto del 90%.

Estos resultados se encuentran muy por encima de los publicados en la literatura y así, CHILD (156) en 171 individuos encuentran una positividad tan solo del 60%, LEONI (181) en 65 pacientes encuentra unos valores de $4,7 \pm 2,1$ $\mu\text{g/ml}$. CONSTANTINIDES (160) en 27 pacientes encuentra cifras similares a nosotros con valores de $6,0 \pm 3,6$ $\mu\text{g/ml}$ pero con una positividad menor ya que solo es del 59%, y por último HAGBERG (151) en 149 pacientes obtiene valores de $4,1$ $\mu\text{g/ml}$.

El hecho de que se alcancen valores muy altos para el LSA y asimismo muy altos para la β_2m hace que al efectuar el estudio de correlación se encuentre un coeficiente bastante aceptable de 0,76 con una significación estadística de $p < 0,01$.

De los 12 melanomas estudiados 10 eran varones con una edad de $56,70 \pm 13,45$ años y 2 eran hembras con una edad media de $70,00 \pm 1,41$ años. La edad media del grupo en general fué de $58,92 \pm 13,23$ años.

Los valores de LSA obtenidos fueron directamente altos con cifras de $20,75 \pm 4,49$ mg% para un grupo completo $20,98 \pm 4,83$ mg% para los varones y $14,63 \pm 3,08$ mg% para las hembras. Estas cifras son ligeramente inferiores a las obtenidas por KATOPODIS (136) que son de 25,0 y por DNISTRAN (138) que son de $26,9 \pm 7,2$.

La positividad es también baja del 50% ya que 6 individuos tuvieron cifras normales. En vista de estos resultados no podemos estar de acuerdo con dichos autores ya que según DNISTRAN el test del LSA es extremadamente útil en los linfomas Hodgkin, leucemias y melanomas y nuestros resultados son francamente pobres. Tampoco estamos de acuerdo con KATOPODIS ya que él encuentra una sensibilidad muy alta unos de 12 melanomas, 10 tienen resultados patológicos, lo que hace una positividad del 83% y nosotros la obtenemos tan solo al 50%.

No encontramos motivos para aplicar esta anomalía, pues, ni siquiera podemos argumentar que el número de pacientes estudiados sea bajo ya que nosotros incluimos 12 melanomas el mismo número incluye KATOPODIS y 13 estudia DNISTRAN.

Algo similar nos ocurre con la β_2m para la que obtenemos unas cifras de $1,92 \pm 0,67$ $\mu\text{g/ml}$ para el grupo en general $2,03 \pm 0,69$ para los varones y $1,40 \pm 0,14$ para las hembras. Dichas cifras son como se ve totalmente normales.

La positividad en este caso es muy baja y de los 12 individuos estudiados 10 dan valores normales, lo que indica que es del 12%.

Es evidente que resultados tan pobres para el LSA como para la β_2m ofrezcan un pésimo coeficiente de correlación de 0,35 y sin significación estadística.

Hemos incluido en el presente estudio a 8 pacientes con leucemia de los cuales 3 son varones y 5 son hembras; la edad media del grupo es de $48,37 \pm 26,52$ años correspondiendo a los varones una edad de $73,33 \pm 13,42$ años y a las hembras de $33,40 \pm 19,83$ años. Existe una notable diferencia de edad entre los varones y las hembras pero dicho valor no lo vamos a tener en cuenta porque ya argumentamos anteriormente que la edad no afecta a las determinaciones del LSA.

Los valores medios de LSA para el grupo fueron de $31,08 \pm 12,53$ mg% siendo de $25,02 \pm 3,25$ para los varones y $34,71 \pm 15,02$ mg% para las hembras. La positividad fué muy alta del 87,5% ya que de los ocho pacientes estudiados, solo uno dió cifras de LSA.

Nuestros valores coinciden exactamente con KATOPODIS (136) que en 81 pacientes con leucemias, encuentra valores de $32,0$ mg% y con DNISTRAN (138) que en 21 pacientes con leucemias encuentra cifras de $30,5 \pm 9,5$ mg%. La positividad del test es también prácticamente la misma ya que KATOPODIS dice que es del 90%. Opinamos al igual que estos dos autores mencionados que dentro de las patologías estudiadas el test de LSA es muy útil en el caso de las leucemias por encontrarse valores muy altos. No estamos por tanto de acuerdo con LIPTON (182), el cual estudió a pacientes con carcinomas de pulmón, gastrointestinales, ginecológicos y linfomas, opina que la existencia de metástasis avanzadas produce valores muy altos, pero que en los pacientes con leucemias los valores eran poco elevados debido probablemente a que se produce un bloqueo de maduración y un exceso de precursores normales de células medulares, mientras que los tumores sólidos representan una proliferación de células transformadas que emiten una glicoproteína de superficie.

En cuanto a la β_2m las cifras que obtenemos son asimismo muy altas de $5,22 \pm 2,6$ $\mu\text{g/ml}$ para el grupo en general, $5,76 \pm 3,88$ $\mu\text{g/ml}$ para los varones y $4,90 \pm 2,01$ $\mu\text{g/ml}$ para las hembras. La positividad fué la misma que para el LSA, del 87,5% ya que de los 8 pacientes solo uno dió cifras normales.

Nuestras cifras de β_2m están de acuerdo con las aportadas por CONSTANTINIDES (160) que en 40 pacientes con leucemia en-

cuentran valores de $4,8 \pm 2,3 \mu\text{g/ml}$ con una positividad del 74% y están ligeramente elevadas con lo que respecta a las aportadas por LEONI (181) que en un estudio sobre 62 pacientes encuentra valores de $3,2 \pm 1,7 \mu\text{g/ml}$.

La correlación existente tiene un coeficiente muy bajo de 0,27 y no existe significación estadística.

Los carcinomas de recto, colon y gástrico vamos a analizarlos conjuntamente; están formados por población de 6, 7 y 9 individuos respectivamente, siendo las medias de las edades para los pacientes de carcinoma de recto de $61,00 \pm 9,21$ años, $62,33 \pm 12,74$ años para los varones y $59,66 \pm 6,65$ años para las hembras, los pacientes con carcinoma de colon tienen una edad media de $60,57 \pm 7,13$ años, los varones de $60,66 \pm 11,50$ y las hembras de $60,50 \pm 3,69$ y por último los pacientes con carcinoma gástrico tienen una media de edad de $58,77 \pm 11,65$ años, $60,00 \pm 12,22$ años para los varones y $54,50 \pm 12,02$ para las hembras.

Las cifras de LSA obtenida para esos grupos son los siguientes: en el cáncer de recto $22,94 \pm 7,70 \text{ mg\%}$, $23,94 \pm 6,88$ para los varones y $21,95 \pm 9,82$ para las hembras, en el cáncer de colon la media fué de $24,66 \pm 8,09 \mu\text{g/ml}$, $26,90 \pm 11,21$ para los varones y $22,98 \pm 6,19 \mu\text{g/ml}$ para las hembras y por último los pacientes con carcinoma gástrico arrojaron cifras de $29,04 \pm 4,35 \text{ mg\%}$ para el grupo en general, $29,57 \pm 3,76 \text{ mg\%}$ para los varones y $27,18 \pm 7,61 \text{ mg\%}$ para las hembras.

La positividad en el cáncer de recto fué del 67% de 6 enfermos, dos tuvieron cifras normales en el cáncer de colon fué del 71% de 7 pacientes, dos tuvieron cifras normales y del carcinoma gástrico fué del 100% ya que ningún paciente de los nueve analizados dió cifras normales.

A pesar de esta alta positividad alcanzada no opinamos que el test del LSA sea muy apto para identificar a pacientes con estas patologías, ya que las cifras exceden poco de los 20 mg%.

Cifras similares a las encontradas por nosotros encuen-
 tran otros autores MUNJAL (173) da para el cáncer de colon valo-
 res de 20,0 mg%, las cifras más bajas en los tres tipos de cán-
 cer estudiados por él y sin embargo en dicha patología es donde
 obtiene los mayores valores del test CEA con cifras de 162,5 /
 µg/ml. A conclusiones similares llega KATOPODIS (136) que dá /
 cifras de 25,4 para el carcinoma colorectal con una positividad
 que oscila entre el 49 y el 78% y DNISTRIAN (138) que dá cifras
 de $25,6 \pm 8,1$ en 18 pacientes estudiados; este autor concluye /
 diciendo que el test del LSA es muy pobre para la patología co-
 lorectal ya que se obtienen valores poco aumentados, y por tan-
 to sería más lógico utilizar el test del CEA como opinaba MUN-
 JAL ya que los valores de ésta última técnica son más altos, /
 sin embargo en su estudio uno de los pacientes con carcinoma de
 colon tuvo valores normales de CEA y un LSA muy aumentado, por
 lo que aconseja que dentro de esta patología lo mejor es la com-
 binación de ambos test.

Para la 82m obtenemos los siguientes valores; en el carci-
 noma de recto $2,75 \pm 1,12$ µg/ml, $3,06 \pm 1,23$ para los varones y
 $2,43 \pm 1,15$ para las hembras; en el cáncer de colon $3,02 \pm 1,28$
 µg/ml siendo de $3,36 \pm 1,93$ para los varones y $2,77 \pm 0,75$ µg/
 ml para las hembras y por último en el carcinoma gástrico las /
 cifras de $3,47 \pm 1,01$ µg/ml, $3,42 \pm 0,74$ µg/ml para los varones
 y $3,65 \pm 2,19$ µg/ml para las hembras.

La positividad fué del 67% en el cáncer de recto 71% en /
 el cáncer de colon y del 77% en el carcinoma gástrico. La posi-
 tividad encontrada por POULIK (152) en neoplasias malignas del
 tracto gastrointestinal oscila entre el 50 y el 79%, positiv- /
 dad muy similar a la encontrada por nosotros. Las cifras encon-
 tradas por TEASDALE (158) son también muy similares a las nues-
 tras, ya que él en 20 pacientes con carcinoma colorectal halla
 valores de $2,65 \pm 1,35$ µg/ml.

En el carcinoma de recto aparece una magnífica correla- /
 ción con un coeficiente de 0,92 y una significación de $p < 0,01$
 pero este dato no cambia en absoluto nuestra opinión sobre la /
 utilidad de los test dentro de esta patología. En el carcinoma
 de colon y en el gástrico los coeficientes de correlación fuerón

muy bajos con valores de $-0,14$ y $0,22$ respectivamente y sin significación estadística.

Nueve mujeres con cáncer de ovario son incluidas en este grupo siendo su media de edad de $57,44 \pm 14,60$ años; los valores de LSA de $26,33 \pm 6,84$ mg% y los de LSA de $4,16 \pm 1,43$ μ g/ml. La positividad fué del 88% en ambos casos ya que de las / nueve mujeres solo una dió valores normales.

STRATTON (183) estudia en 133 pacientes el LSA y el CA125 encontrando una baja positividad para el primero de solo un 32% y mejor para el segundo del 74% no encontrando correlación alguna entre dichos parámetros.

KIKUCHI (184) en 74 mujeres encuentra para la $\beta 2m$ una positividad del 57% con cifras que no aclara ya que solo dice que se encuentran por encima de los 3 μ g/ml. La correlación que no nosotros encontramos es muy mala con un coeficiente de 0,41 y sin significación estadística.

Los seis pacientes con mielomas estudiados eran cuatro varones y dos hembras, siendo las edades respectivas de $61,83 \pm 7,98$, $58,50 \pm 7,76$ y $68,50 \pm 2,12$ años. Los valores de LSA fueron de $22,74 \pm 8,76$, $26,19 \pm 8,91$ y $15,85 \pm 1,90$ mg% y los de / $\beta 2m$ de $3,48 \pm 0,66$, $3,65 \pm 0,75$ y $3,15 \pm 0,33$ μ g/ml. La positividad en el caso del LSA fué del 50% y para la $\beta 2m$ del 100%.

LEONI (181) encuentra en este tipo de pacientes unas ci-fras de $\beta 2m$ muy elevadas de 5,34 μ g/ml pero con una gran desviación estadística, ya que ésta alcanza el valor de 4,99 μ g/ml no encontrando diferencia significativa entre los grupos de pacientes y el grupo control, debido a la gran dispersión de los valores obtenidos en los enfermos; sin embargo sí encuentra una estrecha relación entre la masa tumoral y las tasas de $\beta 2m$.

CHILD (157) en 129 individuos con mieloma encuentra que / el nivel pretratamiento de la $\beta 2m$ tiene una estrecha relación / con la supervivencia del individuo, de tal modo que aquellos / que tienen una cifra de 3 μ g/ml o menor tienen unas mayores posibilidades de supervivencia. Este hecho no ha sido constatado

por nosotros.

NORFOLK (64) estudia en este sentido a 36 pacientes con / mieloma múltiple y separa a los individuos en dos grupos según tengan cifras de β_2m superior o inferior a 4 $\mu\text{g/ml}$ encontrando que la supervivencia en el grupo de β_2m mayor de 4 $\mu\text{g/ml}$ es de 15 meses mientras que en el otro es de 46 meses, concluyendo / que la determinación de la β_2m es más simple y menos problemática que los sistemas de estadiaje existentes y que las determinaciones de paraproteínas, y que puede aplicarse particularmente a la estratificación y subsecuente monitorización de pacientes con mielomatosis.

La correlación entre el LSA y la β_2m fue aceptable con un coeficiente de 0,68 pero sin significación estadística.

Seis individuos con hepatocarcinomas y otros 6 con cáncer de páncreas incluimos en este estudio. Las edades fueron de / $62,33 \pm 10,28$ para el grupo de cáncer de páncreas siendo de / $64,66 \pm 14,46$ para los varones y $60,00 \pm 6,24$ para las hembras; en el hepatocarcinoma la edad media fue de $47,83 \pm 16,30$ años y todos los individuos eran varones.

Las cifras obtenidas para el LSA fueron de $30,23 \pm 9,60$ / $\text{mg}\%$ en el cáncer de páncreas con valores de $25,90 \pm 5,28$ $\text{mg}\%$ para los varones y $34,55 \pm 12,09$ $\text{mg}\%$ para las hembras y de $41,56 \pm 10,97$ para el hepatocarcinoma. En cuanto a la β_2m las cifras fueron de $4,31 \pm 1,19$ $\mu\text{g/ml}$, $3,96 \pm 1,13$ $\mu\text{g/ml}$ y $4,66 \pm 1,18$ $\mu\text{g/ml}$ para el carcinoma de páncreas en general, varones y hembras y de $4,75 \pm 0,84$ para el hepatocarcinoma. La positividad en ambas patologías y en ambos casos fué del 100%.

Las afecciones hepáticas traen consigo elevación de la tasa de β_2m y dicha elevación puede estar en relación con el grado de infiltración leucocitaria del hígado (185). REVILLARD / (66) encuentra que los individuos con hepatitis vírica aguda / tienen cifras de $3,86 \pm 2,06$ $\mu\text{g/ml}$, que en la hepatitis crónica las cifras son de $4,07 \pm 1,39$ $\mu\text{g/ml}$, en la cirrosis hepática de $4,12 \pm 2,16$ $\mu\text{g/ml}$ y por último en la cirrosis biliar primaria /

de $3,83 \pm 1,36 \mu\text{g/ml}$ por lo cual los valores obtenidos por nosotros pueden estar altos debido a la afectación hepática de estos pacientes.

En el cáncer de páncreas la correlación es muy mala con un coeficiente de $-0,048$ y todo lo contrario ocurre con el hepatocarcinoma donde el coeficiente es de $0,80$ aunque en ambos casos no existe significación estadística.

Por último estudiamos a 9 mujeres con cáncer de mama con una edad media de $51,33 \pm 8,5$ años, unas cifras de LSA de $36,38 \pm 19,43 \text{ mg\%}$ de unas cifras de $\beta 2\text{m}$ de $5,45 \pm 2,79$. La positividad para el LSA y la 2m fué del 77 y del 88% respectivamente.

Nuestras cifras de LSA son bastantes superiores a las halladas por KATOPODIS y DNISTRIAN que obtienen valores de $24,3$ y $22,2 \pm 7,3 \text{ mg\%}$ respectivamente. De todas las patologías estudiadas por KATOPODIS el cáncer de mama es el que ofrece resultados más bajos hecho que no ocurre en nuestro estudio y lo mismo opina DNISTRIAN. La explicación podría encontrarse en los distintos estadios de los pacientes, pero los autores mencionados no hacen referencia a ello. Para GINSBOURG (186) la positividad del test de LSA en el cáncer de mama fué similar al nuestro del 73% encontrando dicho autor una fuerte correlación ($p < 0,005$) entre los niveles elevados de LSA y la presencia de células heterotrópicas.

Las cifras de $\beta 2\text{m}$ encontradas por TEASDALE (158) son más bajas a las encontradas por nosotros ya que son de $2,58 \mu\text{g/ml}$ aunque dicho autor encuentra diferencias al estudiar a los pacientes por estadios y así, mientras en el estadio I la media de las cifras de $\beta 2\text{m}$ es de $2,13 \mu\text{g/ml}$ esta cifra se eleva a $3,38 \mu\text{g/ml}$ en el estadio IV. Tampoco encuentra KIMBER (187) diferencias entre los distintos estadios y opina que la mejor utilidad del test reside en la respuesta al tratamiento ya que si este es efectivo las cifras retornan a la normalidad.

Por último en esta patología es donde encontramos una mejor correlación con un coeficiente de $0,98$ y una alta significación estadística ($p < 0,001$).

Cuando agrupamos los resultados obtenidos para todas las patologías estudiadas según el estadio en que se encuentra la enfermedad, observamos al igual que opinan otros autores como DNISTRIAN (138), KATOPODIS (136), MUNJAL (173), TEASDALE (158) etc., que ni los valores de LSA ni los de β_2m se correlacionan con el estadio de la enfermedad. Lo único que parece estar claro es que dentro de determinadas patologías, la aparición de la enfermedad trae consigo un aumento brusco de los valores de LSA y β_2m .

Si agrupamos todos los valores correspondientes a los distintos estadios sin tener en cuenta la enfermedad, observamos (Figura 39) como con respecto al LSA, en los pacientes en estadio I existe un incremento brusco con respecto a las cifras del grupo control y que estas cifras ascienden ligeramente en los estadios II y III para incrementarse nuevamente y de una forma brusca en el estadio IV.

En cuanto a la β_2m parece ser que el inicio de la enfermedad no causa grandes aumentos en cuanto a la cuantificación de esa globulina, sí aparece ya un aumento más brusco del estadio I al II, se mantiene prácticamente del II al III y se vuelve a producir otro gran aumento en el estadio IV.

Como dijimos anteriormente, desde el punto de vista clínico, la distinción entre un estadio y otro vienen definidos en términos claros, pero desde el punto de vista bioquímico, la presencia de una enfermedad neoplásica hace que se incrementen los valores de LSA y β_2m en mayor o menor cantidad, pero ese incremento no parece estar relacionado con el tamaño de la masa tumoral.

Los tumores malignos crecen in situ y se caracterizan por una alteración sustancial de sus patrones glicosfingolípidos cuando se les compara con los tumores progenitores (188) por eso podríamos preguntarnos si debe existir una correlación entre la conducta metastásica de los tumores y el perfil glicosfingolípido.

DNISTRIAN (133) estudió el LSA en pacientes con enferme-/

dad cancerosa maligna en diferentes estadios, llegando a la conclusión de que en los estadios iniciales la cantidad de falsos positivos es muy elevada, de forma que hay trastornos benignos en los que las cifras eran más elevadas que en la enfermedad mamaria cancerosa, por el contrario cuando más avanzado era el estadio en el que se encontraba el tumor más fiabilidad tenía el test. Estos hallazgos son perfectamente compatible con lo ha-//llado por nosotros ya que los valores más altos se encuentran / siempre en el estadio IV.

De forma similar HOGAN-RYAN (189) mostraron una asociación débilmente positiva con el estadio en que se encontraba el cáncer de mama, siendo esta correlación más fiable que cuando se practicaba el test del CEA o la velocidad de eritrosedimentación.

En cuanto a la β 2m, HAGBERG (151) observó que los valores de este parámetro en pacientes afectos de linfomas de Hodgkin y linfomas no Hodgkiano eran superiores a los del grupo control / pero a su vez los valores en los estadios I y II eran claramente inferiores a los hallados para los estadios III y IV.

En 16 pacientes con cáncer de pulmón, 12 con enfermedad de Hodgkin, 6 con melanomas, 5 con linfomas y 4 con cáncer de / recto hemos realizado un seguimiento de la enfermedad con el / fin de comprobar como variaban las cifras del LSA y β 2m con la evolución de la enfermedad, realizando determinaciones anteriores y posteriores al tratamiento quimioterápico y/o quirúrgico, en recidivas y en remisión completa.

Se observa que en la enfermedad de Hodgkin, y en el cán-/cer de pulmón, aparecen cifras de LSA muy elevadas al detectarse la enfermedad, que dichas cifras se hacen practicamente normales tras el tratamiento que vuelven a aumentar a cifras aún / mayores en el caso de presentarse una recidiva y que bajan a valores normales cuando el paciente se encuentra en remisión completa. En cuanto a los valores de β 2m el proceso es el mismo / pero los incrementos son menores.

Los mismos comentarios podrían hacerse con respecto a las

otras patologías en las que hemos realizado un seguimiento, es decir melanomas, linfomas y cáncer de recto. Sin embargo en estos casos los cambios no son tan ostensibles, posiblemente debido a varias razones, una, porque la población estudiada era mucho menor, otra porque los valores iniciales de aparición de la enfermedad son mucho más bajos que en los casos anteriores y por tanto más próximos a los del grupo control y la última porque / en estos tres últimos grupos los enfermos se encontraban en estadios muy avanzados III y IV y la enfermedad ya es sistemática y no localizada; de todas formas, también en las recidivas se / producen aumentos y dichas cifras se vuelven normales en el caso de existir una remisión completa.

Por tanto opinamos que dentro del cáncer de pulmón y especialmente en la enfermedad de Hodgkin el test del LSA puede / ser utilizado como diagnóstico, seguimiento y control terapéutico de la misma.

Como conclusión final con respecto al LSA podríamos decir que desgraciadamente no nos encontramos entre un marcador tumoral primario, pero que valores elevados de este parámetro deben llamar nuestra atención acerca de la posible presencia de una / enfermedad neoplásica, su empleo se puede hacer rutinariamente y en el caso de observarse una positividad, utilizar otros marcadores más específicos.

VIII. CONCLUSIONES

1. Existen diferencias estadísticamente significativas cuando comparamos los valores medios obtenidos para el grupo / control con otro grupo formado por todas las enfermedades neoplásicas estudiadas tanto para el LSA como para la $\beta 2m$. Los / valores obtenidos fueron de 13,61 mg% frente a 29,47 mg% en el caso del LSA y de 1,73 $\mu g/ml$ frente a 3,96 $\mu g/ml$ en el de la $\beta 2m$.

2. Cuando se comparan los valores medios de LSA del / grupo control con los valores medios obtenidos para cada una / de las enfermedades neoplásicas estudiadas aparecen diferen- / cias estadísticamente significativas. Igual ocurre con la $\beta 2m$ excepto en los melanomas y en los cánceres de recto y colon.

3. No se observan diferencias estadísticamente signifi- / cativas con respecto al sexo, tanto para el test del LSA como pa- / ra la $\beta 2m$. Con respecto a la edad y para el LSA tampoco exis- / ten diferencias pero sí las hay en el test de la $\beta 2m$ al compa- / rar a los menores de 30 con los de la década de los 50.

4. Positividad por encima del 75% para el LSA se en- / cuentran en las siguientes patologías: Cáncer de mama (77%), /

linfomas (81%), leucemias (88%), Cáncer de ovario (88%), cáncer de pulmón (93%) enfermedad de Hodgkin, carcinoma gástrico, carcinoma de páncreas y hepatocarcinoma (100%). Para el grupo en general la positividad fué del 87,4%.

5. Con respecto a la $\beta 2m$ y por encima del 75% de positividad se encuentran carcinoma gástrico 77%, cáncer de pulmón 80%, cáncer de ovario y cáncer de mama 88%, linfomas 90%, y / cáncer de páncreas, hepatocarcinoma y mieloma 100%. Para el / grupo en general fué del 89%.

6. El test del LSA es muy indicativo en las siguientes patologías, hepatocarcinomas, enfermedad de Hodgkin, carcinoma de mama y linfomas, pudiéndose opinar lo mismo del test de la $\beta 2m$ con la exclusión de la enfermedad de Hodgkin y la inclusión de las leucemias.

7. Existen unas magníficas correlaciones entre el LSA y la $\beta 2m$ en las siguientes patologías y con los siguientes coeficientes: linfomas 0,75, hepatocarcinoma 0,80, cáncer de recto 0,92 y cáncer de mama 0,98.

8. Cifras por encima de 25 mg% para el LSA y de 3,5 / $\mu g/ml$ para la $\beta 2m$ son indicadores de la existencia de una enfermedad neoplásica independientemente de que pueda existir / alguna otra patología.

9. Existe un aumento débilmente significativo cuando / se correlacionan los valores de LSA y $\beta 2m$ con el estadio de la enfermedad y siempre estos valores están muy por encima de los hallados para el grupo control siendo las diferencias entre éstos, estadísticamente significativas.

10. En seguimientos realizados a pacientes con cáncer / de pulmón, recto, linfomas, melanomas y enfermedad de Hodgkin se ha observado unas disminuciones drásticas de las cifras de LSA tras la resección del tumor o tras la utilización de citostáticos en los casos que se ha conseguido una reducción ostensible de la masa tumoral o se ha obtenido una remisión completa. Dichos valores se incrementan por encima de las cifras

iniciales en el caso de presentarse una recidiva.

11. Los cambios observados en estos mismos pacientes / con lo que respecta a la β_2m siguen una evolución idéntica pero sus variaciones no son tan ostensibles.

12. En la enfermedad de Hodgkin, la determinación de LSA puede ser utilizada como diagnóstico, seguimiento y control terapéutico de la misma, no ocurriendo así con la determinación de la β_2m .

Como resumen podríamos decir que la pequeña cantidad de muestra requerida, el bajo costo y el relativo poco tiempo necesario para la determinación hace que el test de LSA deba ser utilizado como rutinario en aquellos pacientes en los que la clínica haga sospechar la presencia de una enfermedad neoplásica. En el caso de aparecer valores elevados la probabilidad / de existencia de dicha enfermedad es muy alta y en este caso / deberá acudir a otro tipo de pruebas o a la determinación de otros marcadores tumorales.

IX. BIBLIOGRAFIA

1. SEURA VARELA, A., PALMEIRA TROITIÑO, J., MILLAN NUÑEZ CORTES, J. y GARCIA-BLANCO SACEDO, P. Test de laboratorio en el diagnóstico del Cáncer. Marcadores biológicos del Cáncer. Rev. Clin. Esp. 166, 1-2, 1-5. 1982.
2. BAGSHAVE, H.D., SEARLE, F. Tumor markers. Asay Med. Biochem. 3: 25-73. 1977.
3. MOLINA, R., BALLESTA, A.M. Utilidad Clínica de los marcadores tumorales. Lab. 200, 4: 43-54. 1986.
4. MINTON, J.P., MARTIN, E.W. The use of serial CEA determinations to predicts recurrence of Colon cancer and when to do a second. look operations. Cancer, 42: 1422-1427. 1978.
5. STATLAND, B.E. y WINKEL, P: Neoplasia en Química Clínica. Técnicas de Laboratorio. Fisiopatología. Método de análisis por L.A. Kaplen y A.J. Pesca. pp. 1048-1064. Buenos Aires. Panamerica (Ed). 1986.
6. SAGER, R: Explorations on the origin of cancer. Focus. Harvard U. 2/3: 1-3. 1983.

7. TOBAR, L., and GAD, A: Screening for breast cancer: The / Swedish trial. Radiology 138: 219-222. 1981.
8. CHLENSCHLAGER, G., BERGER, I. Immunologische und Biochemische. Diagnostik maligner tumoren. GJT Lab. Med., 7: 36-41. 1984.
9. MANUAL FOR STAGING OF CANCER, 1978. American Joint Committees for cancer staging and End. Result Reporting. Chicago 1978.
10. SUGARBAKER, P.H., DUNNICK, N.R. y E.V. SUGARBAKER. Diagnóstico y estadio. pp. 242 -246, en: Cáncer. Principio y Práctica de Oncología por Vincent T. De Vita Jr., S. Hellman, A. Rosemberg. Tomo I. Barcelona Editorial Salvat. 1984.
11. RUBIN, P.: Statement of the clinical oncologic problem. In: Clinical Oncology: a multidisciplinary approach. Philis Rubin editors. American Cancer Society Inv., pp: 2-19. 1983.
12. WINKEL, P., BENTZON, M.W., STATLAND, B.E. et al: Predicting recurrence in patients with breast cancer from cumulative laboratory results: a new technique for the application of time serie analysis. Clin. Chem. 28: 2057-2067. 1982.
13. RAVRY, M., MOERTEL, C.G., SCHUTT, A.J. et al: Usefulness of serial serum carcinoembryonic antigen (CEA) determinations during anticancer therapy or lang-term follow-up of gastro intestinal carcinoma. Cancer, 34: 1230-1234. 1974.
14. COOMBES, R.C. and NEVILLE, A.M. Significance of tumor-index-substances in management. In Stoll, B.A., editor: Secondary Spread in breast Cancer. Chicago 1978. William Heinemann Medical Brooks.
15. STATLAND, B.E.: The challenge of cancer testing. Diagnostic Med. 4: 2-8. 1981.
16. HERBERMAN, R.B: Immunodiagnostic for cancer testing. A look at the future. Antibiotic. Chemother. 26: 38. 1979.

17. ZIEGENBEIN, R. Tumor Markers. Gustav-Fischer-Verlag Stuttgart. 1982.
18. KLEE, G.G., GO, V.C.W.: Laboratory Report. Serum tumor Markers. Mayo Clin. Proc. 57, 129-131. 1982.
19. WAGENER, C.: Diagnostic sensitivity, diagnostic specificity and predictive value of the determinations of tumor marker. Institut für Klinische Biochemie der Universität / Bonn. D. 5.300. Bonn IGFR. J. Clin. Chem. Clin. Biochem, 22: 12, 069-979. 1984.
20. HIRNAULT, Y., KATOPODIS, N., PINOLA, C., SPECTOR, K., GODBOLD, J., SCHOTTENFELD, D., STOCK, C.C.: LSA test result / in children with sarcoma and their families. LSA values have prognostic significance. Proc. Am. Assoc. Cancer. Res. 23: 504-509. 1983.
21. COROMINAS VILLARDEL, A. Bioquímica de los Lípidos. pp. 8-33. En: Los Lípidos, laboratorio y Clínica. Ed. Toray S.A. Barcelona. 1973.
22. CABEZAS, J.A.: Gangliosidos Scientific. American Investigación y Ciencia, 86-95. 1984.
23. HAKOMORI, S.: Glicoesfingolípidos. Investigación y Ciencia. 14-24. 1987.
24. THUDICHUM, J.L., O'BRIEN, J.S., STERN, M.B., and LANDIN, B. H. Generalized gangliosidosis. Amer. J. Dis. Child. 109, 338-341. 1965.
25. YOGESWARAN, G.: Cell surface glycolipids and glycoproteins in malignant transformation. Adv. Cancer Res. 38, -289-350. 1983.
26. KLEND, E.: Über die gangliosides line vena grupp-von Zuckerhaltigen gehirn - Lipiden. Z. Physiol. Chem. 273-276. 1942.

27. HARPER, H.A., RODWELL, V.W., MAYES, P.A. et al. Lípidos, en: Manual de Química Fisiológica. pp. 124-139. Editorial. El manual moderno. Mexico. 1980.
28. SVENNERHOLM, L.: The gangliosidosis. J. Lipid Res. 5, 145. 1964.
29. SVENNERHOLM, L.: The nomenclature of Lipid IUPAC-IUB Commission on Biochemical Nomenclature (CBN). Eur. J. Biochem, 79: 11-21. 1977.
30. IUPAC-IUB. Commission on Biochemical Nomenclature. Nomenclature of Lipids. Lipids, 12: 455-463. 1977.
31. KLENK, E., HOF, L., GEORGIAS, L.: Zur kenntnis der gehirnganglioside. Hoppe Seylers. Physiol. Chem., 348: 146-166 1967.
32. FOLCH, J., LEES, M., SLOANE-STANLEY, G.H. A simple method for the purification of total lipids from animal tissues. J. Biol. Chem. 226: 497-509. 1957.
33. LEDEEN, R.W. and YU, R.K.: Gangliosides: Structure, isolation and analysis. Method Enzymol, 83: 139-191. 1982.
34. NILSSON, O., BREZICKA, F.T., HELMGREN SOVENSON, S., SVENNERHOLM, L., YNGUASON, F., and LINDHOLM, L.: Detection of a Ganglioside Antigen Associated with small cell lung carcinomas using monoclonal antibodies directed against fucosyl-GM₁. Cancer. Res, 46: 1403-1407. 1986.
35. FREEDMAN, P., NILSSON, O., TOYAT, J.L. and SVENNERHOLM, L. Separation of gangliosides an a new type of anion exchange resin. Biochem. Biophys. Acta. 618: 42-52. 1980.
36. HAKOMORI, S.: Glycosphingolípidos in cellular interaction differentiation and oncogenesis. Ann. Rev. Biochem. 50, 733-764. 1981.
37. BRADY, R.O. and FISLUMAN, P.H.: Biosynthesis of glycolipids

- in virus transformed cell. *Biochem. Biophys. Acta.* 355: / 121-148. 1974.
38. ROSSEMAN, S.: The synthesis of Complex carbohydrates by / multiglycosyltransferase systems and them potential func- / tion in intercellular adhesion. *Chem. Phys, Lipids.* 5: 270-297. 1970.
39. WARREN, L., and GLICK, M.C.: Membranes of animal cells II. The metabolism and turnover of the surface membrana. *J.Cell Biol.* 37: 729-746. 1968.
40. HAKOMORI, S., KANNAGI, R.: Glycosphingolipids as tumour- / associated and differentiation markers, *J. Meth. Cancer / Inst.* 71: 231-251. 1983.
41. TETTEAMANTI, G., VENEZANDO, B., CESTAVO, B., y PRETI, A.: Brain neuraminidases and gangliosides advances in experi- mental medicine and biology. Vol. 71. Ed. by Portacelli. Plenum. Press. 1976.
42. ROSSEMAN, S.: Sugars of the cell membranes. In: Weissman, G., Claiborne, R. eds. *Cells membranes. Biochemistry, cell biology and pathology.* New York: HP Publ. 55-64. 1975.
43. ANDO, S., YU, R.K., VENO, K.: Gangliosides of human, cat and rabbits spinal cords and cord inyelin. *J. Lipid. Res.* 19: 863-871. 1978.
44. RAHMAN, H., HILBIG, R., GEISER; F.: Brain gangliosides in monotrecues, marsupials and placentals: phylogenetic and - thermoregulatory aspects-camp. *Biochem, Physiol.* 83, 1: / 151-7. 1986.
45. GATT, S. The gangliosides. *Method in Enzimology.* Ed. J.A. Lowestein vol. 14, pp. 134. Academic Press. New York. 1969.
46. BURTON, R.H., y COLL, L.: Gangliosides and acetylcholine of the central neurons system. *BBA,* 84: 441-451. 1964.

47. CAPUTTO, R., RAHMANN, H., AJMORE, C. et al., Possible functional role of Brain gangliosides in adaptative neuronal - processes. In Neuronal transmission. Learning and Memory. Raven Press. New York. pp. 159-177. 1983.
48. BREMER, E.G., SCHLESSINGER, J. and HAKOMORI, S.: Ganglioside-mediated modulation of cell growth. Specific effects of GM₃ on tyrosine phosphorylation of the epidermal growth factor receptor. J. Biol. Chem. 261, 5: 2434-2440. 1986.
49. NAGAI, Y., IWAMORI, M. Brain and thymus gangliosides; -/ their molecular diversity and its biological implications and a dynamic annular model for their function in cell surface membranes. Mol Cell Biochem, 29: 81-90. 1980.
50. KOHLER, G., y MILSTEIN, C.: Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. Nature (Lond) 256: 495-497. 1975.
51. HAKOMORI, S., NUDELMAN, E., LEVERY, S.B. and PATTERSON, C. M.: Human cancer-associated gangliosides defined by a monoclonal antibody (IB9) directed to sialosyl α 2-6 galactosyl residue: a preliminary note Biochem. Biophys. Res. Commun. 113: 791-798. 1983.
52. KANNAGI, R., LEVERY, S.B., NUDELMAN, E. and HAKOMORI, S.: A series of human erythrocyte glycosphingolipids reacting - to the monoclonal SSEA-1. J. Biol. Chem. 257: 14865-14874. 1982.
53. FUKUSHI, Y., ABE, L., NUDELMAN, E., LEVERY, S. et al. Novel fucolipids of human adenocarcinoma: Disialosyl Le^a antigen (III⁴ Fuc III⁶ Neu AcIV³ Neu AcIc₄) of human colonic adenocarcinoma and the monoclonal antibody (FH7) defining this structure. J. Biol. Chem. 261, 12: 5487-5495. 1986.
54. MAGNANI, J.L., NILSSON, B., BROCKHAUS, M., ZOPF, D., STEPLEWIKI, Z., KOPROWKI, H. and GINSBURG, V.A. A monoclonal antibody defined antigen associated with gastrointestinal cancer is a ganglioside containing sialylated lacto fuco-

- pentatose II. J. Biol. Chem. 257: 14365-14369. 1982.
55. HOUGHTON, A.N., REAL, F.X., OLD, L.J. et al.: Phenotypic heterogeneity of melanoma. Relation to the differentiation program of melanoma cells. J. Exp. Med. 1; 165, 3: 812-29. 1987.
56. NUDELMAN, E., HAKOMORI, S., KANNAGI, R., LEVERY, S.B., YEH H.Y., HELLSTROM, K.E. and HELLSTROM, I. Characterization - of a human melanoma-associated ganglioside antigen defined by a monoclonal antibody, 4, 2. J. Biol. Chem. 257: 12752-12756. 1982.
57. SHARON, N.: Lectinas. Investigación y Ciencia. Scientific American, 11, 197: 90-100.
58. LINPK, W.W. Los distintos grupos de proteínas plasmáticas Cap. I., en: Proteínas plasmáticas pp. 1-90, de J. Gbass. Ed. Jims. Varcelona. 1967.
59. TISELIUS; A.: A new apparatus for electrophoresis: analysis of colloidal mixtures. Trans. Faraday Soc. 33: 524-529. 1937.
60. BERGGARD, I., and BEARN, A.G.: Isolation and properties of a low molecular weight Beta-2-globulin occurring in human biological fluids. J. Biol. Chem. 243: 4095. 1968.
61. CUNNINGHAM, B.A., y BERGGARD, I.: Structure, evolution and significance of Beta-2-microglobulin. Transplant. Rev. 21: 3-14. 1974.
62. PETERSON, P.A., RASK, L., y OSBERG; L.: β 2-microglobulin and the major histocompatibility complex. Adv. Cancer. Res. 24: 115-163. 1977.
63. BOSCH, J.A., RUIBAL; M., VILLARDEL, G. et al. La Beta 2 microglobulina sérica en pacientes con tumores sólidos y del sistema hematopoyético. Rev. Esp. Oncología. 31: 21-25. 1984.

64. NORFOLK, D., CHILD, J.A., COOPER, E.H., KERRUISH, S., y WARD, A.M.: Serum β 2 microglobulin in myelomatosis: potencial value in stratification and monitoring. *Br.J. Cancer.* 42: 510-515. 1980.
65. BOSCH, J.A., RUIBAL, M., y MONNE, J.: La Beta-2microglobulin. *Med. Clin. Barcelona.* 76: 73-76. 1981.
66. REVILLARD, P.J.: Significance of Beta-2-microglobulin in liver disease. *Vox. Sang.* 38: 339-342. 1980.
67. EVRIN, P.E., WIBELL, L. The serum levels and urinary excretion of Beta-2-microglobulin in apparently healthy subjects. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 29: 69-79. 1972.
68. JONASSON, L.E., EVRIN, P.E., WIBELL, L. Content of Beta-2-microglobulin and albumin in human amniotic fluid a study of normal pregnancies and pregnancies complicated by haemolytic disease. *Acta. Obst. Gynec. Scand.* 53: 49. 1974.
69. SMITHIES, O., and POULIK; M.D.: Initacion of protein Synthesis at an unusual position in an immunoglobulin gene / science. 175: 187-195. 1972.
70. PETERSON, P.A., CUNNIGHAM, B.A., BERGGARD, I. and EDELMAN, G.M: Beta-2-microglobulin: a free immunoglobulin *Proc. Neth. Acad. Sci. U.S.A.* 69: 1697. 1972.
71. CUNNIGHAM, B.A., WANG, J.L., BERGGARD, I. and PETERSON. P. A.: A complete amino acid sequence of β 2 microglobulin. *Biochemistry.* 12: 4811. 1973.
72. NILSSON, K., EVRIN, P.E., BERGGARD, I., POUTEN, J: Involvement of lymphoid and non-lymphoid cell in the production of beta 2 microglobulin a homologue of the constant demains of IgG. *Nature,* 244: 44. 1973.
73. STROMINGER, J.L., CRESSWELL, P., GREY, H., HUMPHREYS, R.H., HANN, D., McCUNE, J., PARCHAM, P., ROBB, R., SANDERSON, A. R., SPRINGER, T.A., TERHORST, C., TURNER, M.J. The immuno-

- globulin-like structure of human histocompatibility anti-/
gens. *Transplant. Rev.* 21: 126. 1974.
74. PETERSON, P.A., RASK, L., LINDBLOOM, J.B.: Highly purified papain-solubilized HLA antigens contain Beta 2 microglobulin. *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)*. 71: 35. 1974.
75. SAURY, D., GOODFESLOW, P., BODMEN, W.F., CRUMPTON, M.J. Evidence against a dimeric structure for membrane bound HLA antigeno. *Nature*. 258: 240. 1975.
76. ROBERT; M., VINCENT, C., REVILLARD, J.P.: Presence of HLA antigen and beta-2-microglobulin in tubular proteinuria. *Transplantation*. 18: 89. 1974.
77. KIN, K., KASAHARA, T., ITOH, Y., SAKUKABAYASHI, I., KANAI, T., MONTE, M.: Beta 2 microglobulin production by highly purified human T and B lymphocytes in cell culture stimulated with various mitogens. *Immunology*, 36: 47. 1979.
78. EVRIN, P.E., NILSSON, K.: Beta 2 microglobulin production in vitro by human hematopoietic, mesenchimal and epithelial cells. *J. Immunol.* 112: 137. 1974.
79. HALL, P.W., RICANATI, E.S., VACCA, C.V., y CHUNG-PARK, M.: Renal metabolism of beta 2 microglobulin. *Vox-Sang.* 38: / 343-347. 1980.
80. KARLSSON, F.A., SEGE, K., BEAUDUIN, M.: Turnover studies of beta 2 microglobulin in normal persons and in patients with increased serum levels of the protein. *En Phadebac / Diagnostic Communications 3*. Pharmacia Diagnostics AB. Upsala Sweden. 31-48. 1978.
81. VINCENT, C., PORET, N., REVILLARD, J.P.: Plasma beta 2 microglobulin turnover in renal insufficiency. *Acta. Clin. Belg.* 35: 2-13. 1980.
82. BERNIER, G.M.: Beta-2-microglobulin: Structure, function and significance. *Vox. Sang.* 38: 323-327. 1980.

83. BERNIER, G.M., y FANGER; M.W.: Synthesis of Beta-2-microglobulin in stimulated lymphocytes. J. Immunol. 109: 407. 1972.
84. HUTTEROTH, T.H., CLEVE, H., LITWIN, D.S. and POULIK, M.D. The relationship between Beta 2 microglobulin and immunoglobulin in cultured human limphoid cell lines. J. Esp. Med. 137: 838. 1973.
85. NILSSON, K., EVRIN, P.E., and WELSH, I.: Production of - Beta 2 microglobulin by normal and malignant human cell lines and peripheral lymphocytes. Transplant. Rev. 21: 53. 1974.
86. EVRIN, P.E., PETERSON, P.A., WILDE, L., BERGGARD, J.: Radiomunoassay of Beta-2-microglobulin in human biological fluids. Schand J. Clin. Lab. Invest. 28: 439. 1971.
87. FABER, H.E., KUCHERLAPATI, R.S., POULIK, M.D., RUDDLE, F. H. and SMITHIES, O.: Beta 2 microglobulin, locus on chromosome 15. Somatic. Cell. Genet. 2: 141. 1976.
88. POULIK, M.D. and BLOOM, A.D.: Beta 2 microglobulin production and secretion by lymphocytes in culture. J. Immunol. 110: 1430. 1973.
89. TANIGAKI, N., NAKAMURO, K., APPELLA; E., POULIK, M.D. and PRESSMAN, D.: Identity of HLA common portion fragment and human Beta 2 microglobulin. Biochem, Biophys, Ress. Commun, 55: 1234. 1973.
90. POULIK, M.D. and MOTWANI, N. Demostration of a Beta 2 microglobulin on membrana of B-lymphocytes. Clin. Res. 20: 795. 1972.
91. POULIK, M.D.: Presence of Beta 2 microglobulin on B and T cells and lymphocytotoxicity of anti- 2-microglobulin sera. Immunol. Commun. 2: 403. 1973.
92. FANGER, M.W., and BERNIER, G.M. Subpopulations of human -

- lymphocytes defined by Beta 2 microglobulin. *J. Immunol.* 111: 609. 1973.
93. EVRIN, P.E. and PERTOFT.: Beta 2 microglobulin in human - Cells. *J. Immunol.* 111: 1147. 1973.
94. DORVAL, G., WELSH, K.I. and WIGZELL, H. Labellard Staphylococcus protein A is an immunological probe of cell surface marker. *Scand. J. Immunol.* 3: 405. 1974.
95. PLESSNER; T.: Affinity Chromatography of Beta 2 microglobulin from human lymphocytes on Concavalin A sheparose. *Scand. J. Immunol.* 5: 1097. 1976.
96. FELLOUS, M., COLLE; A., y TONELLE, C. The expresion of Beta 2 microglobulin on human spermatozoo. *Europ. J. Immunol* 6: 21. 1976.
97. GOVERNA, M. and BIGUZZI, S. Beta 2 microglobulin distribution in human normal tissues. *Europ. J. Immunol.* 6: 830. 1976.
98. GREY, H.M., KOBAYASHI, R.T., COLEMAN, S.M., POULIK, M.D., GRESSWELL, P., SPRINGER, T., TURNER, M. and STROMINGER, J.L.: The small subunit of HLA antigens is Beta 2 microglobulin. *J. Exp. Med.* 138: 1608. 1973.
99. CORTNEY, M.A., SAWIN, L.L. and WEISS, D.D. Tubular protein absorption in the rat. *J. Clin. Invest.* 49: 1. 1970.
100. EVRIN, P.E. and WIBELL, L: The serum levels and urinary excretion of Beta 2 microglobulin in apparently healthy - subjects. *J. Clin. Lab. Invest.* 29: 69. 1972.
101. HEMMINGSEN, L. and SKOARUP, P. The 24 h. excretion of / plasma protein in the urine of apparently healthy subjects. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 35: 347. 1975.
102. WIBELL, L., EVRIN, P.E. and BERGGARD, I. Serum Beta 2 microglobulin in renal disease. *Nephron.* 10: 320. 1973.

103. WIDE, L. and THOREN, L. Increased urinary clearance for - albumin, Beta 2 microglobulin, insulin and lutenizing hormone following surgical or accidental trauma. Scand. J. - Clin. Lab. Invest. 30: 275. 1972.
104. HALL, P.W., VASILJEVIC, M.: Beta 2 microglobulin excretion as a index of renal tubular disorder with special referen- ce to endemic Balcan nephropathy. J. Lab. Clin. Med. 81: - 897. 1973.
105. MEGENSEN, L.E., VITTINGUES, E., SOLLING, K.: Increased / urinary excretion of albumin, lighth chains and beta 2 mi- / croglobulin after intravenous arginine administration in / normal man. Lancet, 2: 581. 1975.
106. SCHARDJUN, G., STATION VAN EPS, W., SWAAB, A.J.G., KGER, J. C., PERSIJN, J.P. Urinary Beta 2 microglobulin in upper - and lower urinary tracts infections. Lancet. 1: 805. 1979.
107. NAKAMURO; K., TANIGAKI, N. and PRESSMAN, D.: Multiple com- mon properties of human Beta 2 microglobulin and the common portion fragment derived from HLA antigen molecules. Proc. Nath. Acad. Sci. USA. 70: 2863. 1973.
108. SPRINGER, T.A. and STROMINGER, J.L.: Detergent-soluble HLA antigens contain hydrophobic, region at the COOH-terminus and a penultimate hydrophobic region. Proc. Acad. Sci. USA. 73: 2481. 1976.
109. TAYLOR, R.B., DUFFS, W.P.H., RAFF, M.C. and DEPETRIS, S. Redistribution and pinocytosis of lymphocyte surface immu- noglobulin molecules induced by anti-immunoglobulin antibo- dy. Nature. New Biol. (London). 233: 225. 1971.
110. BERNOCO, D., CULLEN, S., SADALLER, G., TRINCHIERI, R. and CEPPELLINI, R. in Histocompatibility testing, Dansset. J. and Colvenbari, J. Eds. Mumksgaard. Copenhagen 527. 1973.
111. POULIK, M.D., BERNOCO, M., BERNOCO, D. and CEPPELLINI, R. Aggregation of HLA-antigens at the lymphocyte surface indu

- ced by antiserum to β 2-microglobulin. *Science* 182, 1352. 1973.
112. NEAPORT-SAUTEN, C., BISMUTH, A., KOVRILSKY, I.M. and MANUEL, Y. Relationship between HL-A antigens and β 2-microglobulin as studied by immunofluorescence on the Lymphocyte membranes. *J. Exp. Med.* 139. 957. 1974.
113. OSTBERG, L., LINDBLOM, J.B. and PETERSON, P.A. Subunit structure of HLA antigens on the cell surface. *Nature*: / (London) 249. 463. 1974.
114. BACH, M.L., HUANG, S.W., HANG, R. and POULIK, M.D. β 2-microglobulin: association with Lymphocyte receptors. *Science*, 182, 1350. 1973.
115. POULIK, M.D. and GOLD, P. β 2-microglobulin: Methods / and clinical applications. *Grit. Rev. in Clin. Lab. Sci.* April. 225-245. 1979.
116. SOLHEIM, B.G. Association between the β 2m/HLA molecules and membrane structures responsible for lymphocyte activation. *Transplant. Rev.*, 21, 35. 1974.
117. RINGDEN, O., PETERSON, V., and MOLLER, E. Triggering of Lymphocytes by antibodies against β 2-microglobulin. *Immunol Commun*, 5, 553. 1976.
118. CARWAY, T.P. and POULIK. Chemotactic activity of β 2-microglobulin. *Fed. Proc. Fed. Am. Soc. Exp. Biol.* 35: / 515. 1976.
119. ANUNDI, H., RASK, L., OSTBERG, L. and PETERSON, P.A. The subunit structure of thymus leukemia antigens. *Biochemistry*, 14, 5046, 1975.
120. VITETTA, Z.S., UHR, J.W., and BOYCE, E.A.: Isolation / and characterization of H-2 and TL-alloantigens from surface of mouse lymphocytes. *Cell. Immunol.* 4, 187. 1972.

121. YAMASHIDA, U., LOGDBERG, L., BERGGARD, L. and SHEVACH, E.M. The activation of guinea pig T Lymphocytes by anti β 2-microglobulin serum. *J. Immun.* 122, 1427. 1979.
122. ROBB, R.J. and STROMINGER, J.L. Rapid purification of / detergent-solubilized HL-A antigen by affinity chromatography employing anti β 2-microglobulin serum. *J. Biol. Chem.* 251, 5427. 1976.
123. GROSSER, N. and THOMPSON, D.M.P. Cell-mediated anti-tumor immunity in breast cancer patients evaluated by antigen induced leukocyte adherence inhibition in test tubes. *Cancer, Res.* 35, 2571. 1975.
124. SVERHOLM, L. Quantitative stimulation of sialic acid acalorinetuc resozanie hychochloric and method. *Biochem. Biophys. Acta*, 24, 604-611. 1957.
125. BARCLAY, M., SKINSKI, V.P., TEREBUS-KEKISH, O., GREEN, E. M., KAUFFMAN, R.J. and STOCK, C.C. Effects of cancer / upon high-density and other lipoproteins. *Cancer Res.* 30: 2420-2431. 1970.
126. SKIPSKI, V.P., BARCLAY, M., ARCHIBALD, F.M., LYNCH, T.P. and STOCK, C.C. A new proteolipid apparently associated with cancer. *Res. Soc. Exp. Biol. Med.* 136: 1261-1264. 1971.
127. SKIPSKI, V.P., KATOPODIS, N., PRENDERGAST, J.S. and STOCK C.C. Gangliosides in bloom serum of normal rats and Morris hepatoma 5123 tc-bearing rats. *Biochem Biophys. Res. Commun* 67: 1122-1127. 1975.
128. DINISTRAN, A.M., SKIPSKI, V.P., BARCLAY, M., ESSNER, E.S. and STOCK, C.C. Gangliosides of plasma membranes from / normal rats liver and Morris hepatoma. *Biochem. Biophys Res. Comm.* 64: 367-375. 1973.
129. HAKOMORI, S.I. Structure and organization of cell surface glycolipids dependency and cell growth and malignant

- transformation. *Biochim. Biophys. Acta.* 417, 55-89. 1975.
130. TAO, R.V., SWEeley, C.C. Occurrence of hematoside in human plasma. *Biochim. Biophys. Acta.* 218, 373. 1972.
131. KERAMEN, A., LEMPINEN, M., PURO, R. Ganglioside pattern and neuraminic acid content of human gastric and colonic carcinoma. *Clin. Chim. Acta.* 70, 103-112. 1976.
132. KATOPODIS, N., STOCK, C.C. Improved method to determine lipid bound sialic acid in plasma serum. *Res. Commun. / Chem. Pathol. Pharmacol.* 30: 171-180. 1978
133. DNISTRAN, A.M., SCHWARTZ, M.K., KATOPODIS, N., FRACCHIC A.A. and STOCK, C.C. Serum lipid-bound sialic acid as a marker in breast cancer. *Cancer*, 50, 1815-1819. 1982.
134. DUNZENDORFER, V., KATOPODIS; N., DNISTRAN, A.M., STOCK, C.C., SCHWARTZ, M.K. and WHITMORE, W.F. Plasma lipid / bound sialic acid in patients with prostate and bladder cancer. *Invest. Urology.* 19, 194-196. 1981.
135. ERBIL, K.M., JONES; J.D. and KLEE, G.G. Use and limitations of serum total and lipid bound sialic acid concentration as a marker for colorectal cancer. *Cancer* 55, 404-409. 1985.
136. KATOPODIS, N., HIRSHAUT, Y., GELLER, N.L., STOCK, C.H. Lipid-associated sialic acid test for the detection of human cancer. *Cancer Research.* 42, 5270-5275. 1982.
137. HANSEN, H.J., SNYDER, J.J., MILLER, E., VANDEVOOZDE, J.P. MILLER, O.V., HINES, L.R., and BURNS, J.J. Carcinoembryonic antigen (CEA) assay a laboratory adjunct in the diagnosis and management of cancer. *Hum. Patol.* 139-147. 1974.
138. DNISTRAN, A.M., SCHWARTZ, H.K. Plasma lipid-bound sialic and carcinoembryonic antigen in cancer patients. *Clin. Chem.* 27, 1737-1738. 1981.

139. SKIPSKI, V.P., GITTERMAN, CH.O., PRENDERGAST, J.S., BE-/
TITYEN, K., LEE, G. LUELLS and STOCK, C.C. Possible re-
lationship between glycosphingolipids and the formation
of metastasis in certain human experimental tumor. J. /
Nath. Cancer. Inst. 65, 2: 249-256. 1980.
140. FIDDLER, J,J. Mechanism of Cancer invasion and metasta-
sis. In: Becker, F.F. ed, A comprehensive treatise. Vol.
4, New York. Plenum. Press, 101-131. 1978.
141. WEISS, L. Introduction. In: Weissl ed. Fundamental as-/
pects of metastasis Amsterdam. North-Holland, 1-5. 1976.
142. NICHOLSON, G.L. and WINKELHAKE, J.L. Organ specificity
of blood-borne tumor metastasis by cell adhesion? Nature.
255. 230-232. 1973.
143. SALISBURY, A.J. The significance of the circulating can-
cer cells. Cancer Treat. Rev. 2: 55-72. 1975.
144. WEISS, L. The role of the cell periphery in metastasis.
In. J. Radiot. Oncol. 1: 97-99. 1971.
145. NICHOLSON, G.L., BIROLWELL, C.R., BRONSON, L.W. and RO-/
BBINS, J.C. Cellular interaction in the metastatic pro-
cess. In: Marchesi V. Ed. Membranes and neoplasia. New -
approaches and strategies. Nwe York, Liss, 237-244. 1976.
146. CHIPOWSKY, S., LEE, Y.C. and ROSEMAN, S. Adhesion of /
cultured fibroblast to insoluble analogues of cell-surfa-
ce carbohydrates. Proc. Nath. Acad. Sci. USA. 70: 2309-
2312. 1973.
147. WEIGAL, P.H., SCHWELL, LEE., Y.C. and ROSEMAN, S. Speci-
fic adhesion of rat hepatocytes to betegalactosides.
Lind. Red to polycylamida cells. J. Biol. Chem. 253: 300-
333. 1978.
148. SCHUSTER, J., GOLD, P., POULIK, M.D. "Beta 2 microglobu-
lin levels in cancerous and other diseases states". Clin.

Chim. Acta. 67: 307-313. 1976.

149. SPATI, B., COOPER, E.H., CHILD, J.A. "Beta 2 microglobulin in Lymphoproliferative disorders". *Lancet*, 2: 897-898. 1978.
150. SIMONSSON, B., WIBELL, L., NILSON, K. "Beta 2 microglobulin in chronic lymphocytic leukemia". *Scand. J. Haematol.* 24: 174-180. 1980.
151. HAGBERG, H., KILLANDER, A., SIMONSSON, B. "Serum Beta-2 microglobulin in malignant lymphoma". *Cancer*, 51: 2220--2225. 1983.
152. POULIK, H.D., PERRY, D.J., SEKINE, T. "Statistical analysis of Beta 2 microglobulin level in sera of lung and GI tract cancer patients". *Vox. Sang.* 38: 328-333. 1980.
153. REVILLARD; J.P., VINCENT, C. "La Beta 2 microglobuline" *Nouv. Press. Med.* 5: 2707. 1976.
154. MARTINEZ-VELA, A., GATELL, J.M., SEGURA, F., HEIMAN, C. "Diagnostic value of tumoral markers in serous effusions" *Cancer* 50, 1783-1788. 1982.
155. KOCH, T.R., LICHTENFELD, K.M., WIERNIK, P.H. "Detection of central nervous system metastasis with cerebrospinal fluid Beta 2 microglobulin". *Cancer* 52: 101-104. 1983.
156. CHILD; J.A., SPATI, B., ILLINGWORTH, S., BARKAR, D. "Serum Beta 2 microglobulin and C-reactive-protein in the / monitoring of lymphomas". *Cancer* 45: 318-326. 1980.
157. CHILD, J.A., CRAWFORD, S.M., NORFOLK, D.R. "Evaluation of serum Beta 2 microglobulin as a prognostic indicator in myelomatosis". *Br. J. Cancer* 47: 114-714. 1983.
158. TEASDALE, C., MANDER, A.M., FIFIELD, R., KEYSER, J.V. "Serum Beta 2 microglobulin in controls and cancer patients". *Clin. Chim. Beta*, 78: 135-143. 1977.

159. DNISTRAN, A.M., SMITH, C., SCHWARTZ, D. and SCHWARTZ, M. K. Lipid-bound sialic acid as a marker in lung cancer. Clin. Chem. 31: 6-982. 1985.
160. CONSTANTINIDES, I.P., PATHOULIS, C., KARVOUNTZI, G., PAPADOPOULOS, P. "Serum Beta 2 microglobulin in malignant Lymphoproliferative disorders". Cancer 55: 2384-2389. 1985.
161. KARLSSON, F.A., WIBELL, L., EVRIN, P.E. "Beta 2 microglobulin in clinical medicine". Scand. J. Clin. Lab. Invest. 40 (Suppl. 154), 27. 1980.
162. CURRY, R., THOEN, J., SHELBORNE, CH., GANDERNAC, G., MESSNER, R. "Antibodies to and elevations Beta 2 microglobulin in the serum of ankylosing spondylitis patients". Arthrit. Rheum. 25: 375. 1982.
163. FALUS, A., MILK, A., PERMIN, H. "High serum Beta 2 microglobulin levels and circulating immune complexes containing Beta 2 microglobulin and Beta 2 microglobulin antibodies in Felty's syndrome". Arthrit. Rheum. 26. 721. 1983.
164. WEISSEL, M., SCHERAK, O., FRITZSCHE, H., KOLARZ, G. "Serum Beta 2 microglobulin and SLE". Arthrit, Rheum. 19: / 968. 1976.
165. MORNEX, J.F., REVILLARD, J.P., VINCENT, C., DETEIX, P. "Elevated serum Beta 2 microglobulin levels and Clq-binding immune complexes in sarcoidosis. Biomed. Expr. 37: 210. 1979.
166. DESCOS, L., ANDRE, L., BEORCHIC, S., VINCENT, C., REVILLARD, J.P. "Serum Beta 2 microglobulin: a new marker / of activity in chronic disease". New Engl. J. Med. 301: 440. 1979.
167. JUSTO, E., VALS, M.T., DE LA IGLESIA, R., y FABIANI, F. El ácido siálico unido a los lípidos del plasma o suero

- como marcador tumoral (estudio prospectivo). *Ann. Med. / Int. Supl.* III. 58. 1986.
168. VALS, M.T. El ácido siálico unido a lípidos como marcador tumoral. Tesis Doctoral. Universidad de Sevilla. 1986.
169. DE LA IGLESIA, R., FABIANI, F., RAMIREZ, I., VALS, M.T., JUSTO, E. y GARRIDO, M. Lípidos asociados a ácido siálico sao um tumoral cancro do pulmao?. *Atheroma*, 12: 40-43. 1987.
170. FABIANI, F., DE LA IGLESIA, R., RAMIREZ, I., VALS, M.T. and JUSTO, E. Determination of sialic acid linked with lipids in Hodgkin's disease follow-up on the disease and response to therapy. *Quim. Clin.* 5, 3: 234. 1986.
171. SAUCO, J.J. La Beta 2 microglobulina como marcador tumoral. Tesis Doctoral. Universidad de Sevilla. 1986.
172. HIRSHAUT, V., KATOPODIS, N., STOCK, C.C. Serum plasma / lipid bound sialic acid determinations in malignant disease. *Proc. Am. Assoc. Cancer. Res.* 22: 186. 1981.
173. MUNJAL, D.D., RICKEN, J. and PRITCHARD, J. Combined measurement and significance of lipid bound sialic acid and carcinoembryonic antigen in detection of human cancer. *Diagn. Immunol.* 2: 36-43. 1984.
174. HORGAN, I.E. Total and lipid-bound sialic acid levels in sera from patients with cancer. *Clin. Chim. Acta.* 118: 327-331. 1982.
175. SNYDER, S., ASHWELL, G. Quantitation of specific serum glycoproteins in malignancy. *Clin. Chem. Acta.* 34: 449-455. 1971.
176. NIGAN, V.N., CANTERO, A. Polisacharides in cancer glycoproteins and glicolipids. *Adv. Cancer Res.* 17: 1-80. 1973.

177. WERNER, I., ODIN, L. On the presence of sialic acid in certain glycoproteins and in gangliosides. *Acta. Soc. / Med. Upsal.* 57: 230-241. 1952.
178. WINZLER, R.J. Determination of serum glycoproteins. *Methods. Biochem. Anal.* 2: 279-311. 1958.
179. POULIK, M.D. "Beta 2 microglobulin". In Herberman. *Compendium of assay for immunodiagnosis of human cancer.* pp. 107-111. Elsevier. North. Holland. Amsterdam. 1979.
180. RAYNES, J.G. Serum concentrations of lipid-bound sialic acid and acute phase proteins in patients with cancer / and non-malignant disease. *Biomedicine. Pharmacotherapy.* 37: 136-138. 1983.
181. LEONI, P., SPROVIERI, G., RECCHIONI, A., ORRICO, G., OLIVIERI, A. "Beta 2 microglobulin nei disordini linfoproliferative". *Clin. Med.* 64: 315. 1983.
182. LIPTON, A., HARVEY, A., DE LONG, S., ALLEGRA, J., WHITE, D., ALLEGRA, M., DAVIDSON, E. A glycoproteins and human cancer circulating levels in cancer serum. *Cancer (phila).* 43: 1766-1771. 1979.
183. STRATTO, J.A., RETTENMAIER, M.A. and PHILIPS, H.B. Relationship of serum CA 125 and lipid associated sialic / acid tumor associated antigen levels to the disease status of patients with gynecologic malignancies. *Obstet. / Gynecol.* 71: 20-26. 1988.
184. KIKUCHI, Y., KIZAWA, I., KOYAMA, E., KATO, K. "Significance of serum tumor markers in patients with carcinoma of the ovary". *Obstet Gynecol.* 63: 561-566. 1984.
185. HALLGREN, R. "Serum Beta 2 microglobulin in liver disease". *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 33: 441. 1979.
186. GINSBOURG, M., MOSSET, M., MISSET, J.L. and MOTHE, G. Relationship between proliferative activity of bone marrow

micrometastasis and plasmatic levels of a new cancer marker. Lipid Associated Sialic Acid (LASA) in human breast cancer. Biomed. Pharmacother 40: 388-391. 1986.

187. KIMBER, C.L., STOMSKI, F.C., and BLUNDEN, R.W. Cancer / of the breast and betasup 2 microglobulin. Pathology. 19 1, 67-70. 1987.
188. RICHARDSON, C.L., BAKER, S.R., MORRE, J.J., KEENAN, T.W. Glycophyngolipid synthesis and tumoragenesis. A role for the golgi apparatus in the origin of specific receptor / molecules of the mammalian cell surfage. Biochim. Bio- / phys. Acta. 417: 175-186. 1975.
189. HOGAN-RYAN, A., FENNELLY, S.I., JONES, J. CAN LEVELL, B. DUFFY, M.J. Serum sialic acid and CEA concentrations in human breast cancer. Br. J. Cancer, 41: 587-592. 1980.

UNIVERSIDAD DE SEVILLA

Reunido el Tribunal integrado por los abajo firmantes en el día de la fecha, para juzgar la Tesis Doctoral de D. Reyer de la Iglesia Huente titulada Estudo co-pectivo de la pira y del acido salico unido a los lipidos del plasma en un mercado. fu... acordó otorgarle la calificación de APTO CUM LAUDE

Sevilla,

de

7 Julio

19 89

El Vocal,

El Vocal,

El Vocal,

El Presidente

El Secretario,

El Doctorado;