

R. 27.642

T.O.
M/174

UNIVERSIDAD DE SEVILLA
FACULTAD DE MEDICINA

UNIVERSIDAD DE SEVILLA
SECRETARIA GENERAL

Queda registrada esta Tesis Doctoral
al folio 149 número 200 del libro
correspondiente.
Sevilla, 12 MAR. 1992
El Jefe del Negociado de Tesis,

Luisa de Affite

**"DETERMINACION INMUNOHISTOQUIMICA
DE RECEPTORES ESTEROIDEOS
EN CANCER OVARICO"**



TESIS DOCTORAL

UNIVERSIDAD DE SEVILLA
Deposito en
de la
de la Biblioteca desde el día
hasta el día
de Sevilla de
EL DIRECTOR DE



MA LUISA MARINO MARTINEZ

SEVILLA, 1992



FACULTAD DE MEDICINA
D.T.O. DE CITOLOGIA E HISTOLOGIA
NORMAL Y PATOLOGICA

41009 SEVILLA

**DON ISICIO ORTEGA MEDINA, PROFESOR TITULAR DEL
DEPARTAMENTO DE CITOLOGIA E HISTOLOGIA NORMAL Y
PATOLOGICA DE LA FACULTAD DE MEDICINA DE LA
UNIVERSIDAD DE SEVILLA,**

CERTIFICA: Que bajo su dirección y en el Departamento de
Citología e Histología Normal y Patológica, ha
sido realizado el trabajo titulado: "DETERMINACION
INMUNOHISTOQUIMICA DE RECEPTORES ESTEROIDEOS
EN EL CANCER OVARICO", por Dña. M^a LUISA MARIÑO
MARTINEZ, para optar al grado de Doctor en Medicina y Cirugía.

Y para que así conste, expide el presente
certificado en Sevilla, a doce de Febrero de mil novecientos noventa
y dos.

A handwritten signature in black ink, which appears to read "Isicio Ortega Medina". The signature is fluid and cursive, with a long horizontal stroke extending to the left.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr Isicio Ortega Medina, por su iniciativa a la hora de plantearnos este trabajo y por su constante labor de dirección, participación, revisión, asesoramiento, apoyo y estímulo en los años que hemos trabajado juntos.

También quiero mencionar expresamente al Dr José C. Utrilla Alcolea, por su paciencia y ayuda en el periodo de aprendizaje de la técnica con la que hemos realizado el estudio.

Hago extensivo mi agradecimiento al Departamento de Histoquímica que dirige el Dr Claudio Montero, con especial mención de D^a M^a Carmen Perez Beviá por prestarme su atención, su tiempo y su experiencia; a la Dr^a M^a Dolores Segura, a Don Manuel Hermida y a M^a José Fajardo por su colaboración amistosa.

Al Dr Eladio Mendoza, por su ayuda desinteresada y sus acertados consejos.

Y a todos los compañeros y amigos que de alguna forma han hecho posible la realización de este trabajo, especialmente a D^a M^a Valle Delgado, D^a Rosario Echevarría y D Manuel Rodriguez.

ABREVIATURAS

DCC: Ensayo del carbón-dextrano

fm: femtomol

HE: Hematoxilina-Eosina

Kd: Constante de disociación

PBS: Tampón fosfato salino

RE: Receptor estrogénico

RE_s: Receptor esteroideo

RPg: Receptor de Progesterona

SDG: Ensayo en gradiente de sacarosa

INDICE

I. <u>INTRODUCCION:</u>	1
1. GENERALIDADES	2
2. EPIDEMIOLOGIA E HISTORIA NATURAL	4
3. TUMORES DEL EPITELIO SUPERFICIAL: CLASIFICACION:	6
3.1 TUMORES SEROSOS	7
3.2 TUMORES MUCINOSOS	9
3.3 TUMORES ENDOMETRIOIDES	10
3.4 TUMORES DE CELULAS CLARAS	11
3.5 TUMOR DE BRENNER	12
3.6 TUMORES MÜLLERIANOS MIXTOS	14
4. PRONOSTICO Y TRATAMIENTO	16
5. HORMONAS ESTEROIDEAS	24
5.1 MECANISMOS DE ACCION HORMONAL	24
A) RECEPTORES ESTROGENICOS	26
B) RECEPTORES DE PROGESTERONA	28
C) TRANSLOCACION DE LOS RECEPTORES AL NUCLEO	28
D) INTERACCION DE LOS COMPLEJOS NUCLEARES CON EL ADN	30
E) EVIDENCIAS DE LA ACTUACION HORMONAL	31
F) MODELO ACTUAL DE ACCION DE LAS HORMONAS ESTEROIDEAS	33
5.2 METODOS DE DETERMINACION DE LOS RECEPTORES ESTEROIDEOS	34
A) METODOS BIOQUIMICOS CLASICOS	34
B) INMUNOENSAYO ENZIMATICO	36
C) METODOS MORFOLOGICOS	37
C.1 METODOS HISTOQUIMICOS	37
C.2 METODOS INMUNOCITOQUIMICOS	38
C.3 OTROS METODOS MORFOLOGICOS	39
6. IMPORTANCIA DE LOS RE Y RPG EN EL CANCER DE OVARIO	40
II. <u>PLANTAMIENTO DEL TEMA</u>	41

III. <u>MATERIAL Y METODOS:</u>	44
1. MATERIAL	45
2. METODO	46
2.1 PROCESADO DE LAS MUESTRAS	46
A) RECOLECCION	46
B) CONGELACION	46
2.2 METODO INMUNOCITOQUIMICO	47
A) DESCRIPCION DEL METODO	47
- PRINCIPIOS BIOLÓGICOS	47
- OBTENCION Y PREPARACION DE LAS MUESTRAS	48
- PROCESO DE FIJACION	50
- PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO	53
- VALORACION DE LA TECNICA	54
3. METODO ESTADISTICO	56
IV. <u>RESULTADOS</u>	57
1. HALLAZGOS CLINICOS	58
2. HALLAZGOS ANATOMOPATOLOGICOS	60
3. TRATAMIENTO Y EVOLUCION	63
4. HALLAZGOS INMUNOCITOQUIMICOS	65
5. RELACION ENTRE EL STATUS DE RECEPTOR Y DIVERSOS PARAMETROS CLINICO-PATOLOGICOS ...	67
5.1 EDAD	67
5.2 ESTADO MENOPAUSICO	69
5.3 TIPO HISTOLOGICO	71
5.4 ESTADIO CLINICO	73
5.5 GRADO DE DIFERENCIACION	75
5.6 SUPERVIVENCIA Y EVOLUCION	77
V. <u>DISCUSION</u>	81
VI. <u>CONCLUSIONES</u>	97
VII. <u>BIBLIOGRAFIA</u>	100
VIII. <u>ICONOGRAFIA</u>	127

I. INTRODUCCION

1. GENERALIDADES:

El cáncer de ovario tiene importancia particular. Aunque es el menos frecuente de las tres formas mayores de cáncer genital en la mujer (cervical, endometrial y ovárico), es el más mortal. El cáncer ovárico ocupa el cuarto lugar entre las causas de muerte por cáncer en mujeres (Silverberg y Holleb, 1974). En parte, esta importancia manifiesta la disminución constante de la mortalidad por cánceres cervical y endometrial en años recientes, pero también significa aumento absoluto de la frecuencia y la mortalidad del cáncer de ovario. Además, las probabilidades de que disminuya la mortalidad por cáncer ovárico no son buenas, por la dificultad en realizar un diagnóstico precoz. No hay una técnica sencilla de selección, como para el carcinoma del cuello uterino; ni hay signos tempranos, como la hemorragia que a menudo ocurre en el carcinoma endometrial.

En el ovario, cualquiera de los tres tipos celulares básicos, el epitelio de la superficie, las células germinales y el estroma, pueden originar neoplasias. Se recordará que el ovario está revestido de epitelio celómico, que tiene la potencialidad de convertirse por diferenciación en células serosas, cilíndricas ciliadas (como las que se observan en las trompas de Falopio) o en células cilíndricas mucosas no ciliadas (como las que se observan en endometrio y endocérvix). El

estroma del ovario consiste en tejido conectivo, que tiene la facultad de transformarse por diferenciación en células tecales, granulosa o luteínicas, y que además posee óvulos que son totipotenciales. A causa de esta disposición de tipos celulares reales y posibles, los tumores ováricos pueden adoptar muchas formas y, en consecuencia, su clasificación ha sido problema desde hace largo tiempo. Aunque la multiplicidad de tipos del cáncer ovárico causa confusión, incluso para el anatomopatólogo, es importante recordar que cuando menos el 75% de estos cánceres son sólo de tres tipos: seroso, mucinoso y endometriode, y que los demás resultan más o menos raros.

2. EPIDEMIOLOGIA E HISTORIA NATURAL:

El carcinoma ovárico constituye el mayor número de fallecimientos de tumores ginecológicos y es la 5ª causa de muerte por carcinoma en la mujer. La incidencia permanece constante, ocurriendo principalmente en pacientes blancas y mayores. La gestación antes de los 25 años y los anticonceptivos orales se han asociado con una disminución del riesgo de padecer carcinoma de ovario (Greene 1984). En un pequeño número de pacientes se ha puesto de manifiesto una predisposición familiar (Heinz 1985).

Los tumores del ovario producen un cuadro clínico poco específico; por ello, su diagnóstico se hace, en un elevado número de casos, en fases avanzadas, cuando las posibilidades quirúrgicas de hacer una extirpación total son escasas. El primer síntoma que la enferma nota es habitualmente el aumento del volumen del vientre. Como el crecimiento del tumor es lento, cuando la mujer nota este aumento de abdomen el tumor suele tener ya algún tiempo de evolución. Por otra parte, en mujeres relativamente obesas se precisa que el tumor alcance un tamaño considerable para que la enferma lo sospeche. En ocasiones aparece ascitis, con lo que el aumento del volumen del vientre se exagera aún más. También pueden aparecer síntomas condicionados por el tamaño del tumor, tales como: sensación de pesadez o presión, rara vez dolor, cuando no

existen accidentes o complicaciones; síntomas urinarios, como polaquiuria, micción imperiosa o incluso retención urinaria; trastornos venosos de los miembros inferiores: edema, varices, hemorroides y si el tumor es muy voluminoso puede incluso ocasionar disnea. Pero, a menudo, los tumores del ovario son totalmente asintomáticos y el diagnóstico se hace en una exploración habitual.

Con frecuencia experimentan complicaciones, como torsión del pedículo, rotura, hemorragia intraperitoneal o intraquística, ascitis, anemia hemolítica, aumento de los productos de degradación del fibrinógeno y diversos cuadros endocrinometabólicos producidos por sustancias fabricadas por las células tumorales.

Las localizaciones más frecuentes de diseminación tumoral son el ovario contralateral, cavidad peritoneal, y ganglios linfáticos pélvicos y paraaórticos. Con la diseminación peritoneal suele haber ascitis y afectación del mesenterio. Una metástasis umbilical puede ser la primera manifestación de la enfermedad (Brustman 1984). El pulmón y la pleura son los lugares más frecuentes de diseminación extraabdominal (Kerr 1985).

3. TUMORES DEL EPITELIO SUPERFICIAL: CLASIFICACION.

Constituyen un 60-70% de todas las neoplasias primarias del ovario y corresponden al 90% del total de las afecciones malignas del ovario. Este grupo de neoplasias deriva del epitelio que normalmente recubre la superficie ovárica y se continúa con el mesotelio que recubre la cavidad peritoneal (Blaustein 1984), aunque entre ambos existen diferencias enzimáticas y biológicas (Clement 1987). Este epitelio puede desarrollar estructuras de diferenciación mülleriana, incluyendo mucosa endocervical, endometrial o tubárica (Russell 1985). Parece que las neoplasias derivan de la porción del epitelio que se ha invaginado para producir glándulas epiteliales superficiales y quistes. La endometriosis ovárica puede dar lugar a estos tumores, pero esto ocurre sólo en contadas ocasiones.

Los tumores del epitelio superficial del ovario se clasifican según el tipo celular en:

1. Tumores serosos.
2. Tumores mucinosos.
3. Tumores endometrioides.
4. Tumores de células claras.
5. Tumores de Brenner.
6. Tumores epiteliales mixtos.



7. Tumores mixtos müllerianos.
8. Tumores indiferenciados.

3.1 TUMORES SEROSOS:

Constituyen el 25% de todos los tumores ováricos. Alrededor del 30-50% son bilaterales. Macroscópicamente se presentan como masas quísticas, generalmente uniloculares, conteniendo un líquido claro. A menudo aparecen formaciones papilares que protuyen en la cavidad, aunque a veces se observan en la superficie. Los tumores más agresivos tienden a ser sólidos e invasivos, con áreas de necrosis y hemorragia.

Microscópicamente, en los tumores mejor diferenciados se observan células cuboidales o columnares que semejan el epitelio tubárico, limitando la pared de los quistes y de las papilas (Fenoglio 1980). Los cuerpos de Psamoma (concreciones cálcicas en láminas concéntricas) aparecen en el 30% de los casos. Existe un espectro morfológico en estos tumores que va desde el cistadenoma seroso benigno; en el cuál los quistes y las papilas están delimitados por una hilera de células, sin atipia; y en el otro extremo el cistadenocarcinoma seroso, caracterizado por atipia nuclear, elevada actividad mitótica, estratificación, complejidad glandular e invasión estromal. Pero en el 15% de los casos, los tumores pertenecen a una categoría intermedia denominada borderline o carcinoma de bajo grado de malignidad, en la que sólo se encuentran algunas de las características de los carcinomas (Colgan 1983), sin

invasión aparente del estroma, teniendo por lo tanto mejor pronóstico.

En algunas neoplasias serosas, el componente fibroblástico estromal es muy prominente, con nódulos sólidos y blancos en una neoplasia quística. Esta variedad (cistadenofibroma) también se puede clasificar como benigna, borderline y maligna (cistadenofibrocarcinoma) (Compton 1970).

Otras neoplasias serosas crecen exofíticamente en la superficie del ovario, sin afectar al tejido subyacente, constituyendo los carcinomas papilares superficiales serosos, la mayoría de los cuales son bilaterales, malignos y frecuentemente presentan diseminación peritoneal (White 1985).

Los tumores ováricos serosos son inmunohistoquímicamente positivos para marcadores epiteliales, tales como keratina y el antígeno epitelial de membrana. También expresan HLA y antígenos de histocompatibilidad (Kabawat 1983). Una cuarta parte de los tumores serosos y endometrioides (pero no los mucinosos) producen amilasa, que puede demostrarse en las células tumorales, en el líquido de los quistes, y algunas veces en sangre periférica (Ueda 1985). La tinción para CEA es negativa (en contraste con los mucinosos) (Charpin 1982). La subunidad B de la HCG se ha detectado en una minoría de los casos (Mohaber 1983). Se han producido varios anticuerpos monoclonales contra los tumores ováricos epiteliales, de los cuales el CA 125 es el más utilizado (Charpin 1982, Ferguson

1984, Koelma 1987). En aproximadamente la mitad de estos tumores se han detectado receptores de estrógenos, progesterona y andrógenos (Al-Timimi 1985, Schwartz 1982), pudiendo tener estas determinaciones cierto valor para predecir la respuesta a la terapia hormonal.

3.2 TUMORES MUCINOSOS:

Son menos frecuentes que los serosos y son bilaterales en sólo 10-20% de los casos. Se pueden dividir en benignos, borderline y malignos. Macroscópicamente son mayores que los serosos y en su mayoría son quísticos y multilobulados. Contienen un material viscoso o mucoide. Las formas malignas contienen áreas sólidas, papilares, necrosis y hemorragia.

Microscópicamente las formas benignas contienen células que semejan la mucosa endocervical (Fenoglio 1975). En algunas ocasiones el epitelio es de tipo intestinal, con células de Paneth, células endocrinas y la producción de enzimas intestinales tales como lipasa, tripsina, amilasa y sucrasa. Se han detectado serotonina, ACTH, gastrina, somatostatina y otras hormonas peptídicas (Aguirre 1984) e incluso se han descrito casos de síndrome de Zollinger-Ellison y de asociación con tumores carcinoides (Robboy 1984). Inmunohistoquímicamente, las células tumorales expresan CEA (los benignos en un 15%, borderline en un 80% y los malignos en un 100%), keratina y antígeno epitelial de membrana, pero no amilasa (Charpin 1982).

La variedad maligna se caracteriza por atipia celular, mayor complejidad de las glándulas, papilas y áreas de invasión estromal.

Los tumores borderline se caracterizan por una ausencia de invasión del estroma y un epitelio atípico de un grosor menor a cuatro células (Czernobilsky 1983). Ocasionalmente se han encontrado en los tumores mucinosos focos o nódulos sarcoma-like, de sarcoma, y carcinoma anaplásico.

Los tumores mucinosos tienden a implantarse e invadir tejidos vecinos, constituyendo junto con los tumores apendiculares las causas más frecuentes del pseudomixoma peritonei (Michael 1987). Las metástasis a distancia son poco frecuentes.

3.3 TUMORES ENDOMETRIOIDES:

Constituyen del 10 al 25% de los carcinomas ováricos primarios (Long 1964). En el 10 al 20% de los casos se demuestra endometriosis coexistente (Mostoufizadeh 1980), y algunos de estos tumores se pueden originar sobre focos de endometriosis, pero la mayoría se originan de novo del epitelio superficial del ovario.

Macroscópicamente se presentan como masas quísticas con áreas sólidas y contenido hemorrágico. Microscópicamente el tumor asemeja un carcinoma endometrial (Czernobilsky 1980).

Alrededor del 10% se acompañan de células estromales luteinizadas. En ocasiones se demuestra por inmunohistoquímica CEA y lactógeno placentario humano (Casper 1984). Ultraestructuralmente, las dos características más destacadas son las colecciones paranucleares de microfilamentos y los nucleolos con apariencia de cesta.

Se han descrito tumores endometrioides de tipo benigno, atípico (proliferante) y borderline (Roth 1981). En la categoría atípica los cambios epiteliales son equivalentes a aquellos de hiperplasia endometrial atípica. La ooforectomía es generalmente curativa para todas estas formas.

El pronóstico de estos tumores es bastante mejor que el de los serosos y mucinosos, aunque la mayoría son bien diferenciados y se encuentran en estadio I (Czernobilsky 1982).

Algunas pacientes presentan hiperplasia endometrial o un adenocarcinoma endometrial simultáneo, a menudo bien diferenciado y superficial; en ocasiones con metaplasia escamosa (adenoacantoma) (Zaino 1984).

3.4 TUMORES DE CELULAS CLARAS:

Son tumores quísticos, de células grandes, con citoplasma claro, con glucógeno, mucina y grasa y pueden contener glóbulos hialinos diastasa resistentes, PAS-positivos y negativos para alfa-fetoproteína (Klemi 1982).

Estos tumores fueron incluidos en la clasificación original de Shiller como mesonefomas (derivados de conductos mesonéfricos) (Schiller 1939), pero posteriormente se demostró que son de tipo epitelial, y especialmente relacionados con la variedad endometriode, de la que hoy se consideran una variante (Scully 1967).

Ocurre en pacientes de 40 ó 50 años, con una incidencia de bilateralidad de menos del 10% y un supervivencia a los 5 años de 37 a 47% (Czernobilsky 1970, Norris 1971).

Las variedades benigna y borderline son muy raras; los borderline presentan proliferación epitelial y atipia en ausencia de invasión estromal reconocible (Roth 1984).

3.5 TUMOR DE BRENNER:

Constituye entre el 1 y el 2% de todas las neoplasias ováricas (Silverberg 1971). La edad media de presentación es de 50 años. Algunos casos se acompañan de signos de hiperestrogenismo, como metrorragia por hiperplasia endometrial en una mujer postmenopáusica. El ritmo de crecimiento es lento y la ascitis rara. Su tamaño es variable y suelen ser unilaterales. Semejan fibromas o tecomas, excepto por la presencia frecuente de áreas quísticas rellenas de líquido viscoso. Microscópicamente están formados por nidos sólidos y quísticos de células epiteliales semejando apitelio transicional (Klemi 1982), y rodeados por abundante componente estromal de naturaleza densa

y fibroblástica. Los citoplasmas celulares son claros, inmunoreactivos para keratina (en contraste con los de las células del tumor de la granulosa) (Ganjei 1983) y puede contener glucógeno, mucina y CEA (también presente en la luz de los quistes) (Shevchuk 1980), y lípidos (Clement 1978). Estos últimos se encuentran en grandes cantidades en las células estromales en los casos que se acompañan de hiperestronismo. En el 39% de los casos existen células argirófilas que son positivas para cromogranina y serotonina, y son similares a las del urotelio (Aguirre 1986). Roth y cols (Roth 1985) describieron el tumor de Brenner metaplásico en el que las formaciones quísticas son prominentes y se acompañan de cambios mucinosos floridos. Cuando el tumor semeja un carcinoma de células transicionales de bajo grado (grados I o II) se denominan tumor de Brenner proliferante (Roth 1985). Cuando este patrón se asocia con un mayor grado de atipia (grado III de carcinoma de células transicionales) pero la invasión estromal no se puede demostrar, sugieren los términos de borderline o de bajo potencial de malignidad (Roth 1985). Todas estas variedades tienen un curso clínico benigno tras la ovariectomía.

Las neoplasias citológicamente malignas asociadas con invasión estromal son denominadas tumores de Brenner malignos. En la literatura hay pocos casos descritos, algunos bilaterales (Hallgrimsson 1972, Miles 1972, Seldenrijk 1986).

Los tumores de Brenner pueden asociarse con cistadenomas mucinosos, con struma ovarii (Moon 1976) y con tumores de células transicionales de la vejiga urinaria.

Aunque su histogénesis permanece controvertida, la mayoría de los autores están a favor de un origen del epitelio superficial o de los quistes derivados de él, a través de un proceso de metaplasia de células transicionales (Shevchuck 1980). La continuidad que se ha demostrado entre los nidos epiteliales del tumor de Brenner y la superficie ovárica apoyan este concepto.

3.6 TUMORES MULLERIANOS MIXTOS

Las características macro y microscópicas son similares a las de los tumores müllerianos mixtos uterinos. Existe una variedad homóloga (con estroma maligno no específico) y una variedad heteróloga (con elementos malignos heterólogos, tales como cartilago, hueso y músculo estriado) (Dictor 1981). El componente carcinomatoso puede ser seroso, endometriode, escamoso o de células claras. Son frecuentes los gránulos hialinos de alfa-1 antitripsina en el citoplasma celular (Dictor 1982). El pronóstico es fatal, especialmente para la variedad heteróloga (Dehner 1971). El criterio pronóstico más fiable es el estadio inicial del tumor (Morrow 1984). El diagnóstico diferencial más importante hay que hacerlo con el teratoma inmaduro.

La mayoría ocurren en pacientes posmenopáusicas, a menudo con historia de baja paridad.

El adenocarcinoma mülleriano, descrito como una variedad de bajo grado de tumor mülleriano mixto, y más frecuente en el endometrio y cérvix, también puede ocurrir en el ovario (Clement 1978).

4. PRONOSTICO Y TRATAMIENTO:

El pronóstico es muy pobre debido a su rápido crecimiento y al retraso en la aparición de los primeros síntomas. La supervivencia es del 35% a los 5 años, 28% a los 10 años y del 15% a los 25 años (Malkasian 1984). El factor pronóstico más importante es la extensión del tumor fuera del ovario, expresado por el estadio clínico. La ascitis por sí sola es un signo pronóstico desfavorable (Demopoulos 1984).

El pronóstico está más relacionado con el grado microscópico de diferenciación que con el tipo celular (Malkasian 1984). La incidencia de recidivas es casi nula para los tumores borderline mucinosos y endometrioides, y alrededor del 20% para los serosos borderline o tumores seromucinosos. El pronóstico para los tumores borderline es relativamente bueno, incluso cuando hay afectación de la cavidad peritoneal. Entre los carcinomas, el grado de diferenciación tumoral se relaciona con la supervivencia (Sorbe 1982). Las pacientes jóvenes presentan mejor pronóstico, pero probablemente se deba a que hay un mayor porcentaje de tumores borderline, de tumores en estadio I y de tumores bien diferenciados (Beller 1983). Esto también ocurre en los tumores serosos con cuerpos de Psamoma. El análisis de DNA con citometría de flujo ha demostrado que los tumores aneuploides tienen un comportamiento mucho más agresivo que los diploides (Feitcher 1984).

El primer tratamiento que se realiza en la práctica es el quirúrgico. Los tumores benignos se tratan con cirugía conservadora (salpingooforectomía unilateral). La mayoría de los tumores borderline en pacientes jóvenes se pueden tratar conservadoramente con un seguimiento adecuado. Los carcinomas requieren salpingooforectomía bilateral con histerectomía total, con la excepción posible de los cistadenocarcinomas grado I para los cuales en pacientes jóvenes es factible un tratamiento conservador. El papel de la linfadenectomía pélvica permanece en controversia (Burghardt 1986).

Es importante examinar cuidadosamente la cavidad peritoneal y tomar biopsias selectivas para establecer el estadio y el tratamiento posterior (Young 1987). Este estadiaje quirúrgico incluye muestras de la superficie peritoneal abdominal y pélvica, diafragma, epiplon y nódulos linfáticos pélvicos y paraaórticos (Helewa 1986). Si existe ascitis, hay que examinar el líquido citológicamente, si no, se deben hacer lavados peritoneales (Barber 1984). El tratamiento coadyuvante (radio o quimioterapia) es importante para los tumores en estadio I de alto-grado citológico, para tumores acompañados de ascitis o para estadios III mínimos (Dembo 1984).

Las operaciones de "second look" se practican en pacientes tratadas por cirugía y quimioterapia que están clínicamente libres de enfermedad para determinar el pronóstico y decidir si la quimioterapia se debe continuar, cambiar o abandonar. El procedimiento incluye inspección visual directa de la cavidad

abdominal, citología de lavados peritoneales y múltiples biopsias de peritoneo, epiplon y nódulos linfáticos. Tumor residual se ha encontrado en el examen anatómo-patológico en alrededor del 40% de las pacientes (Miller 1986).

El papel principal de la citología reside en la identificación de células malignas en la cavidad peritoneal. Esta técnica se practica en la cirugía inicial y en el "second look". Los carcinomas serosos y endometrioides son positivos con mayor frecuencia que los otros tipos, y los de alto grado de malignidad son más positivos que los de bajo grado (Yoshimura 1984). Las pacientes con líquidos positivos tienen un peor pronóstico que las que tienen líquidos negativos (Yoshimura 1984). Uno de los patrones más frecuentes de diseminación del carcinoma ovárico es la extensión a la superficie peritoneal. Suelen comenzar en la superficie diafragmática y epiplon. Las vísceras abdominales se afectan por invasión directa desde el peritoneo adjunto, pero son más frecuentes alrededor del tumor primario. Los implantes peritoneales están presentes en el 16 al 47% de los tumores serosos borderline y se asocian con una mortalidad del 20 al 30% (Bell 1987).

Es difícil valorar la utilidad de la radioterapia como coadyuvante de la cirugía en el tratamiento del cáncer ovárico. Es claramente imposible documentar cualquier utilidad del tratamiento externo en la enfermedad en etapa I, a pesar del hecho de que se ha utilizado ampliamente para ello en las últimas décadas. Sabemos que en el cáncer ovárico en etapa I

el índice de fracaso terapéutico es de un 40% cuando se utiliza la cirugía sola. Dicho de otra forma, en el 40% de las pacientes con enfermedad en etapa I manifiesta, en la intervención quirúrgica el tumor se encuentra más allá del ovario. Ya que la mayoría de los tumores epiteliales invaden sobre todo las superficies peritoneales y avanzan a través de las vías linfáticas que drenan la cavidad peritoneal, siempre ha sido interesante suponer que los coloides o las suspensiones de isótopos radiactivos emisores de rayos gamma serían útiles como coadyuvantes de la cirugía en pacientes sin una lesión residual notable. Los agentes que se han utilizado tradicionalmente son el oro y el fósforo radiactivo. Ambos irradian con gran intensidad áreas amplias pero muy superficialmente. Como se trata de partículas captadas por los linfáticos peritoneales también irradian estos conductos. Por desgracia, no hay estudios aleatorios actuales que estén estandarizados tanto para la etapa como el grado del tumor. La información que existe sugiere una mejoría de la supervivencia de cinco años en la enfermedad en etapa I. Clark y col (Clark 1973), utilizando fósforo radiactivo, obtuvieron más de un 90% de supervivencia de cinco años. Decker y col (Decker 1973) indicaron que el oro radiactivo administrado después de la cirugía mejoró la supervivencia en pacientes con tumores que se rompieron durante la operación.

La radioterapia externa coadyuvante tiene al parecer cierta utilidad en la enfermedad en etapa II, ya que en diversas series (Clark 1973, Barr 1970) aparentemente mejoró

la supervivencia de cinco años. Sin embargo, las cifras en cada serie son muy pequeñas y los resultados deben aceptarse con gran escepticismo.

La radioterapia postoperatoria de la enfermedad en estadio III tiene una historia más confusa. Los problemas para radiar la totalidad de la cavidad peritoneal son asombrosos. Entre los tejidos más sensibles figuran la mucosa gastrointestinal y la médula ósea. Además hace falta proteger al hígado y los riñones contra las dosis mayores de 3.000 y 2.300 rads. Todavía hace falta comprobar si esta modalidad modifica en alguna forma la supervivencia en la enfermedad y esta técnica pierde popularidad rápidamente.

Los fármacos de la quimioterapia se han utilizado desde la década de los años de 1950 para tratar el carcinoma ovárico. La mayor parte de este tiempo, el grupo esencial de fármacos para el tratamiento lo han constituido los agentes alquilantes. Estos fármacos son vigorosos reactivos y alquilan substancias nucleofílicas y moléculas biológicamente importantes como el fosfato, amino, sulfhidrilo, hidroxilo, imidazol y los grupos carboxilo. Al parecer, su principal efecto citotóxico es directo sobre el DNA y puede reflejar la capacidad de los agentes para ligar transversalmente porciones de DNA. El daño al DNA tiene como resultado anormalidades en la elaboración del RNA y, en consecuencia, finalmente en la síntesis de proteínas. Sus efectos terapéuticos y la mayoría de sus manifestaciones tóxicas se basan en la capacidad de los fármacos para interve-

nir en la mitosis y división celular normales en todos los tejidos de proliferación rápida.

A diferencia de los agentes alquilantes polifuncionales, los antimetabolitos suelen tener un sitio específico de acción bioquímica. Los análogos del ácido fólico, de los cuales el metotrexato es un ejemplo importante, parecen actuar al inhibir por competencia la reducción del folato. Este sistema enzimático es básico para la conversión del ácido fólico en dihidrofolato y tetrahidrofolato. El ácido tetrahidrofólico es una coenzima importante para la transferencia metabólica de una unidad de carbono. La transferencia de unidades aisladas de carbono o transmetilación contribuye en la biosíntesis del ácido nucleico, un componente esencial del DNA y del ácido inosínico, el precursor de los nucleótidos del RNA que contienen adenina y guanina. En consecuencia, mediante la inhibición por competencia en un sitio específico, el fármaco afecta todos los sistemas de producción y síntesis de la célula. Los análogos de la pirimidina y la purina se convierten enzimáticamente en el ribonucleótido correspondiente y, por último, manifiestan sus efectos al alterar la síntesis de DNA y RNA.

Los antibióticos, más específicamente la actinomicina D, difieren de manera importante en su mecanismo de acción. Al parecer, la citotoxicidad depende de su capacidad para reaccionar con el DNA. La unión del DNA con la actinomicina D interviene en la síntesis del RNA y, en consecuencia, en la de

las proteínas y la replicación adicional del DNA. La adriamicina es otro antibiótico que actúa de forma similar. La bleomicina es un antibiótico muy interesante y constituye el nombre genérico de un grupo de antibióticos aislados de una capa de *Streptomyces*. Se ha señalado que este nuevo fármaco anticanceroso tiene gran actividad contra una amplia variedad de cánceres epiteliales, en especial los escamosos. El hecho más importante de este quimioterápico, es que su toxicidad en la médula ósea es relativamente baja y la principal se relaciona con la piel y el sistema respiratorio.

Tanto la vincristina como la vinblastina se extraen de la *Vincarrosa*, una flor común llamada pervinca. No se conoce el mecanismo exacto de acción de estos fármacos, pero al parecer detienen la metafase en las células de los tumores del hombre y se consideran venenos para el huso. Los estudios mediante cultivos de tejidos sugieren una intervención en las vías metabólicas del ácido glutámico, el ciclo del ácido cítrico y la urea. La vincristina es muy neurotóxica, pero su toxicidad para la médula ósea es muy baja.

Los progestacionales se utilizan principalmente en el carcinoma endometrial y su utilidad se basa en que el endometrio suele responder a estos agentes. La respuesta en la célula endometrial normal se caracteriza por diferenciación y el cese de la actividad mitótica. Se ha encontrado que son de relativamente escasa utilidad en el tratamiento del carcinoma ovárico,

excepto en el endometriode, variedad en la que se están realizando varios estudios.

Es obvio que para mejorar el bajo porcentaje de curaciones del carcinoma ovárico avanzado, es necesario utilizar una terapéutica coadyuvante, además de la cirugía. Aunque la radioterapia externa es un método paliativo importante en el tratamiento del carcinoma ovárico en casos seleccionados, la mayoría de las pruebas actuales sugieren que sólo desempeñan un pequeño papel en el método combinado para tratar el carcinoma ovárico. La quimioterapia coadyuvante es tan eficaz como la radioterapia y causa menos complicaciones. En la actualidad, utilizando el máximo esfuerzo quirúrgico para reducir el volumen del tumor y la quimioterapia múltiple muy eficaz, estamos observando a varias pacientes con remisión clínica prolongada que podría equivaler a curación.

La coexistencia con carcinoma uterino es poco frecuente, pudiendo tratarse de tumores similares o diferentes (Eifel 1982). Este fenómeno pudiera deberse a metástasis de un tumor endometrial en un ovario, tratarse de dos tumores independientes o metástasis de un cáncer de ovario en el endometrio. La tercera posibilidad es la menos probable. La primera teoría se apoya por la bilateralidad, multifocalidad, afectación tubárica, miometrial o vascular de un tumor endometrial (Eifel 1982). La mayoría de los tumores endometrioides sumultáneos suelen ser independientes y su pronóstico es excelente.

5. HORMONAS ESTEROIDEAS:

Las hormonas en general están implicadas en diversos aspectos de la génesis y crecimiento del cáncer. Es probable que éstas preparen a los tejidos diana de tal forma que pueda tener lugar la carcinogénesis, pero en ningún caso son los carcinógenos inmediatos. En algunos cánceres, tales como los de mama, próstata y endometrio, el medio hormonal es uno de los determinantes de la velocidad de crecimiento tumoral, de modo que los cambios en este ambiente hormonal pueden alterar dicho parámetro. No obstante es difícil delimitar el papel preciso de cada hormona, ya que aparte de tener acción por sí misma, puede también regular la secreción y la actividad de otras hormonas.

5.1. MECANISMOS DE ACCION HORMONAL :

Después de la secreción de las hormonas esteroideas en sus tejidos de origen, todas ellas se unen a una o más proteínas ligadoras plasmáticas, principalmente la albúmina sérica, la globulina ligadora de corticosteroides o transcortina (corticosteroid-binding globulin: CBG) y globulina ligadora de hormonas sexuales (sex-binding globulin: SHBG) (Westphal 1971). Así, más del 98% de los esteroides sexuales, el 90% del cortisol circulante y el 50% de la aldosterona están unidos a proteínas plasmáticas. Esta unión no parece jugar un papel

importante en el mecanismo de acción de las mismas, es la hormona libre la fracción biológicamente activa (Westphal 1971). Parecen asumir un papel importante en la biodisponibilidad de los esteroides para sus tejidos efectores, ya que suministrarían un reservorio de hormona ligada y limitan las fluctuaciones de los niveles de esteroides libres (McCarty 1977).

La entrada de las hormonas sexuales en las células diana se puede producir por varios mecanismos, normalmente se produce por difusión pasiva (McCarty 1977). En ciertas células parece que existe algún tipo de transporte facilitado (Baulieu 1975). Se ha sugerido la posibilidad de que se unan a alguna estructura celular como el retículo endoplásmico y/o la cara interna de la membrana plasmática (Little 1975), sufriendo cambios metabólicos que producirían una modulación de la disponibilidad de los esteroides para unirse a su receptor específico (McCarty 1977).

Las hormonas esteroideas se acumulan intracelularmente gracias a su unión a proteínas intracelulares específicas, los "receptores esteroideos" (RE_s), aunque también hay cierta unión con proteínas intracelulares no específicas (McCarty 1977). Ambos tipos se distinguen por sus propiedades de sedimentación y por el ligamiento competitivo con análogos de afinidad y especificidad similares (McCarty 1977).

Las propiedades físicas de los RE_s deben ser consideradas desde los siguientes aspectos:

- a) Su afinidad de ligamiento (Wittliff 1978).
- b) El número de moléculas o sitios de unión por célula (Wittliff 1984).
- c) Su especificidad esteroidea (Wittliff 1978).
- d) Su especificidad tisular (Feil 1972).
- e) Evidencia de una correlación cuantitativa con una respuesta biológica identificable (Anderson 1975).
- f) Fenómenos de saturación, cuando el RE_s representa un número finito de lugares de ligamiento (Gordner 1973).

Todos los RE_s parecen compartir un número de propiedades moleculares generales. La más importante es la alteración en la constante de sedimentación con cambios en la fuerza iónica (Wittliff 1978). Además, todos los RE_s estudiados son precipitables por sulfato de protamina (Steggles 1970). Finalmente, todos los complejos receptor-esteroide parecen sufrir una activación dependiente de la temperatura (Jensen 1975), necesario para su translocación desde el citoplasma al núcleo.

A) RECEPTORES ESTROGENICOS:

La unión de la hormona estrogénica a su receptor específico intracelular llamado Estrofilina (DeSombre 1980), aunque no es covalente, es sumamente fuerte y presenta una elevada afinidad caracterizada por su constante de disociación (kd), que oscila de 10^{-9} M a 10^{-10} M (Wittliff 1976). Esta fuerte

unión hace que la hormona una vez ligada no se intercambie fácilmente.

La aplicación de métodos de centrifugación en gradiente de sacarosa (Toft 1966), constituye un medio valioso no sólo para detectar la unión de hormonas estrogénicas a sus proteínas receptoras, sino para estudiar el comportamiento de la estrofilina, proteína que exhibe diversas formas moleculares cuyos perfiles de sedimentación son 8S y 4S (Toft 1972), fundamentalmente. Los complejos hormona-receptor incluidos en medios de elevada fuerza iónica, o tras un calentamiento pueden sufrir roturas proteolíticas.

En el citoplasma de las células de los tejidos diana existen, además de las proteínas receptoras específicas, otras que no lo son. En general pueden distinguirse tres tipos de sitios ligadores de dichas hormonas: los lugares de unión tipo I, II y III. El receptor estrofilina es el ligador de tipo I; tiene la más alta afinidad de los sitios ligadores pero también la menor capacidad de unión, con una K_d para el estradiol de 10^{-10} M. El tipo II (Panko 1981) presenta una K_d que oscila de 10^{-9} M a 10^{-7} M de estradiol (Chamness 1980). Son fundamentalmente proteínas citoplásmicas, aunque también se han encontrado en el núcleo (Markaverich 1979). El tipo III comprende moléculas solubles como la albúmina y también moléculas probablemente asociadas con las membranas. Son de baja afinidad por el estradiol, pero con una capacidad colectiva muy grande; son las más abundantes. Hacia una concentración de 10^{-7} M de

estradiol el ligamiento comienza a ser sustancial (Chamnes 1980).

B) RECEPTORES DE PROGESTERONA:

La Progesterona presente en los tejidos efectores se liga a las proteínas receptoras específicas, llamadas progestofilinas, que pueden caracterizarse por su K_d y por sus perfiles de sedimentación. Esta interacción es muy específica y de elevada afinidad, con una k_d que oscila entre 10^{-8} M y 10^{-10} M de progesterona (Lessey 1983, Wittliff 1978). En gradientes de sacarosa los complejos hormona-receptor muestran perfiles de sedimentación en la fracción 4S, 6S y 8S (Wittliff 1978). El perfil de sedimentación en la fracción 4S ofrece un pico amplio y heterogéneo que por medio de la cromatografía de intercambio iónico se ha separado al menos en dos componentes: A y B, que se presentan generalmente en proporción equimolar (Lessey 1983). Ambas proteínas muestran propiedades moleculares ligeramente diferentes, sin embargo la cinética y la especificidad del ligamiento son virtualmente idénticos.

C) TRANSLOCACION DE LOS RECEPTORES AL NUCLEO:

Las principales clases de hormonas esteroideas actúan según un mecanismo constituido por dos etapas (Gorski 1968, Jensen 1968). La primera de ellas consiste en la interacción específica y de alta afinidad de la hormona con el receptor libre en el citoplasma. La segunda etapa comprende la activa-

ción termodependiente del complejo hormona-receptor y su traslocación al núcleo (Jensen 1975, Wittliff 1978).

Las propiedades del complejo hormona-receptor son diferentes a las que presenta el receptor libre. Los perfiles de sedimentación de las fracciones nucleares ofrecen una fracción 5S-5, 4S (Jensen 1975, McCarty 1977), si bien la k_d se mantiene en los niveles ya conocidos (Kon 1982). El cambio del perfil de sedimentación sugiere que el receptor, al interaccionar en el citoplasma con la hormona, sufre un cambio alostérico de conformación (McCarty 1977), aumentando su capacidad y afinidad para unirse a las proteínas nucleares específicas, acumulándose los complejos hormona-receptor en el núcleo de la célula.

El paso desde el compartimiento citoplásmico al nuclear supondría un transporte facilitado a través de la membrana nuclear y una especificidad del receptor para ligarse a sitios concretos de la cromatina (McCarty 1977).

El complejo 5S se distingue del 4S en dos importantes características; una es la capacidad de unirse fuertemente a núcleos aislados o a preparaciones de cromatina procedentes de tejidos y tumores hormonodependientes, y otra, la capacidad de aumentar la síntesis de ARN de dichos núcleos (Kon 1982). La traslocación al núcleo del complejo está relacionada con la respuesta a estas hormonas esteroideas.

El proceso de traslocación nuclear parece ser termodependiente (25°C - 37°C) (Jensen 1975, Wittliff 1978); aunque también puede tener lugar, en muy escasa proporción, a baja temperatura (4°C) (DeSombre 1975). La transformación desde la forma nativa (4S-8S) hasta la forma nuclear (4,5S-5,5S) se conoce como "activación del complejo receptor" y constituye un paso esencial para la acción de las hormonas esteroideas (Feherty 1970). Se ha demostrado que cuando los niveles de hormona esteroidea son bajos, los RE están localizados preferentemente en el citoplasma; al elevarse estos niveles hormonales, se observa una mayor concentración del receptor en el núcleo, que causa una deplección temporal del receptor citoplasmático (O'Malley 1976); esto concuerda con su migración o traslocación al núcleo.

D) INTERACCION DE LOS COMPLEJOS NUCLEARES CON EL ADN:

Una vez en el núcleo, los complejos hormona-receptor activados interaccionan con la cromatina, en los denominados "sitios aceptores" e inician la síntesis de diversos ARNm específicos y, por consiguiente, de determinadas proteínas (Kon 1982). La importancia del ADN en la reacción se demuestra porque tras el tratamiento de los núcleos con las enzimas que lo degradan, no se produce la unión de los complejos esteroideos-receptor. El análisis de los sitios aceptores muestra que están constituidos por una proteína no histónica, con peso molecular que oscila entre 12.000-17.000 daltons (Sartwell 1977), y que presenta una elevada afinidad por el ADN. Se ha

estimado que existen unas 27.000 moléculas por núcleo (Sartwell 1977), si bien la mayoría se encuentran enmascaradas en la cromatina intacta (Sartwell 1977).

La interacción es dependiente del ciclo celular (McCarty 1977), ya que la cromatina mostrará durante éste una serie de configuraciones que facilitarán o no la interacción. Una fracción del complejo hormona-receptor reconoce el sitio aceptor y se une específicamente a él, mientras que la otra fracción, reconoce una hebra simple de ADN (Lessey 1983, McCarty 1977). El sitio aceptor parece estar situado en lugares adyacentes a genes hormonosensibles, por lo que se ha propuesto que la unión de la primera fracción facilita la reacción de la segunda al ADN próximo, en el que se encuentra algún sitio regulador-efector (O'Malley 1977). Este proceso puede entonces facilitar la unión de la ARN polimerasa (Kon 1982, O'Malley 1977), e iniciarse la síntesis de ARNm.

E) EVIDENCIAS DE LA ACTUACION HORMONAL:

Los complejos hormona-receptor tienen efectos estimuladores sobre la actividad de las ARN polimerasas I y II en núcleos aislados y sobre la función reguladora de la cromatina de las células diana (Kon 1982). Este aumento de la síntesis de ARN es una respuesta bioquímica importante a la acción de las hormonas sexuales en sus tejidos efectoros (Means 1975). También aumenta la capacidad de los núcleos para incorporar nucleótidos, precursores de ADN y ARN, así como aminoácidos

para la producción de macromoléculas proteicas (Leung 1978). La acción de las hormonas esteroideas se traduce primeramente en efectos rápidos y directos sobre la transcripción, que llevan a la acumulación de ARNm y secundariamente, sobre la traducción, con la formación de proteínas.

Como una manifestación de la respuesta a una hormona dada, pueden darse efectos de activación o represión de la síntesis de un segundo receptor hormonal, lo cuál podría ser un marcador de la diferenciación celular (McCarty 1977). Como resultado de la administración de estrógenos se sintetizan nuevas proteínas receptoras para el estradiol (Leung 19785), con un tiempo de renovación citoplásmico de cinco días (McCarty 1977). Además, es un efector positivo en la inducción de RPg, así como de prolactina, en la grándula mamaria (Leung 1978). Un efecto negativo sería la represión de la actividad del RE por la progesterona (Hsueh 1976).

La respuesta de la hormona esteroidea es dependiente de la concentración de esteroides circulante, observándose una gradación de dicha respuesta (Anderson 1975). Se han observado correlaciones positivas entre la concentración de estradiol sérico y el total de sus receptores intracelulares, así como entre éstos y las respuestas biológicas obtenidas (Leung 1978).



F) MODELO ACTUAL DE ACCION DE LAS HORMONAS ESTEROIDEAS:

A final de la década de los 60 se propuso el modelo de acción de las hormonas esteroideas en dos etapas (Gorski 1968, Jensen 1968), pero se han realizado nuevas observaciones que precisan dicho mecanismo. Las tendencias actuales sugieren que un componente nuclear, posiblemente la cromatina, sería el responsable de la acumulación del complejo esteroide-receptor por interacciones con ligadores específicos.

El RE_s activado es representado como un dímero compuesto de dos subunidades diferentes, A y B, si bien ésto se refiere fundamentalmente al RPg, que es el que ha sido parcialmente purificado y mejor caracterizado. No obstante, parece ser que el RE también está compuesto de dos subunidades; la A se liga sólo al ADN y la B presenta una alta afinidad de ligamento específico para proteínas cromosómicas ácidas (sitio aceptor).

En resumen, las bases moleculares de la acción de las hormonas esteroideas en la regulación de la diferenciación se apoyan fundamentalmente en las siguientes observaciones:

1) El esteroide es concentrado en las células diana como una consecuencia de su ligamiento al receptor citoplasmático (Chamness 1975).



2) La traslocación del esteroide desde el citoplasma al núcleo representa al menos una función del receptor en su configuración activada (Chamness 1975).

3) Dentro del núcleo, el complejo esteroide-receptor depende del reconocimiento de un sitio aceptor específico para realizar su papel en el control transcripcional (Kon 1982). Este reconocimiento es complejo; algunos autores sugieren que el ligamiento al ADN no es específico ya que no han encontrado fenómenos de saturación (Müller 1977); pero otros autores sí lo han encontrado (Kon 1982). Por otro lado, el complejo esteroide-receptor se liga preferentemente a eucromatina y no a heterocromatina.

4) La hormona esteroidea demuestra capacidad para unirse a proteínas cromosómicas ácidas específicas, como es la proteína AP3. En el caso de la progesterona, la subunidad B se liga a esta proteína y la subunidad A parece interaccionar con ADN (Chamness 1975).

5.2 METODOS DE DETERMINACION DE LOS RE:

A) METODOS BIOQUIMICOS CLASICOS:

Los dos métodos más difundidos son el análisis de titulación o valoración multipuntual, más conocido como "método del carbón dextrano" (DCC: dextran-coated charcoal) y el "análisis en gradiente de sacarosa" (SDG: sucrose density

gradient). Otros utilizados son la precipitación por protamina (Zava 1975), filtración en gel (Godefroi 1973), hidroxapatita (O'Connell, 1982), electroforesis en gel (Wagner 1976), enfocamiento isoeléctrico (Pousette 1986), etc...

El más empleado es el que utiliza carbón dextrano para separar el esteroide no ligado del que está ligado con el receptor intracelular. Ofrece una estimación cuantitativa, más o menos precisa, de los sitios de ligamiento específicos, y además, gracias al análisis Scatchard de estos datos se obtiene información sobre la calidad de la interacción (afinidad) receptor-hormona por medio de la K_d (Wittliff 1978). La capacidad de ligamiento específico se expresa en fentomoles (10^{-5} moles) de esteroide marcado ligado por miligramo de proteína citosólica. Una muestra con valor menor de 3 fm/mgr es receptor-negativa, entre 3 y 10 fm/mgr es borderline y, finalmente, cuando supera los 10 fm/mgr se cataloga como receptor positiva (Wittliff 1984).

El ensayo de análisis en gradiente de sacarosa proporciona una estimación de las propiedades moleculares, expresadas en perfiles de sedimentación, así como una cierta cuantificación de los sitios de ligamiento específico (Jensen 1976).

Estos métodos presentan una serie de desventajas:

- Dificultad para conseguir alta precisión y reproducibilidad.

- No precisa la localización celular de los receptores.
- La homogenización del material impide la determinación de la heterogenicidad tumoral.
- El requerimiento de cantidad de tejido es alto.
- La interpretación de los resultados no es siempre fácil.
- La duración de la técnica es larga y son pocos los casos que pueden analizarse simultáneamente.

B) INMUNOENSAYO ENZIMATICO:

Se basa en el principio "sandwich" de dos anticuerpos monoclonales anti-RE_s que interaccionan con el RE_s en dos etapas sucesivas (Leclercq 1986); el segundo anticuerpo está conjugado con peroxidasa de rábano y la cantidad de RE_s detectada es proporcional a la intensidad del color desarrollado por medio del peróxido de H₂ y D-fenilenodiamina, que es observado con un espectrofotómetro a 490 nm. Este método posee unas tasas altas de reproducibilidad y de fiabilidad y no hace uso de radioligandos; puede ser usado en pequeñas muestras, aspirados o biopsias. Por todo esto representa una alternativa a los métodos clásicos.

C) METODOS MORFOLOGICOS:

Proporcionan la oportunidad de visualizar los RE_s en los tejidos directamente. Preservan los detalles estructurales, pudiéndose determinar el grado de heterogeneidad tisular y celular. Se han utilizado una gran variedad de sustancias: conjugados hormonales y anticuerpos. Los resultados se ofrecen en porcentajes de células tumorales teñidas y el grado de su intensidad sobre el total de células tumorales existentes en la muestra.

C.1 METODOS HISTOQUIMICOS: Esteroides conjugados con:

a) Ligandos fluorescentes de bajo peso molecular: atraviesan las membranas celulares intactas y pueden aplicarse tanto a cortes histológicos como a cultivos celulares. El marcador es la fluoresceína aminada.

b) Ligandos fluorescentes macromoleculares. Se han preparado diversos conjugados macromoleculares, consistentes casi exclusivamente en una proteína transportadora, la albúmina sérica bovina (BSA) y una amplia variedad de ligandos hormonales y marcadores histoquímicos (Lee 1980, Pertschuk 1980). Los más utilizados son los preparados por Lee (Lee 1978, McCarty 1980) y los de Pertschuk (Pertschuk 1979, Pertschuk 1980).

C.2 METODOS INMUNOCITOQUIMICOS:

a) Anticuerpos contra la hormona esteroidea. En 1976 fueron descritas las primeras técnicas para la detección inmunocitoquímica de progestágenos (Kawaoi 1978) y estrógenos (Kon 1982) utilizando anticuerpos antiesteroideos. Pero parece ser que estos métodos no visualizan el ligamiento con los verdaderos receptores (tipo I estrofilina) (Mercer 1981) y sólo han demostrado convincentemente su unión a los sitios de ligamiento de tipo II o de tipo III (McCarty 1980).

b) Anticuerpos monoclonales contra el receptor: La reciente preparación de anticuerpos monoclonales contra la estrofilina (RE tipo I) de carnero y humana (Greene 1979), permite el reconocimiento del receptor libre y ocupado con la hormona (Pertschuk 1985), y son insensibles a la desnaturalización o degradación que puede causar pérdida de la capacidad ligadora hormonal durante la manipulación experimental (Greene and Sobel 1984).

La disponibilidad de estos anticuerpos permite la aplicación de diversos procedimientos ICQ, como la técnica inmunoperoxidásica (King 1984), para obtener una indicación del contenido de receptores de las células cancerosas individuales, así como una estimación de la proporción de éstas en el espécimen tumoral.

La correlación obtenida con los resultados de los métodos bioquímicos cuantitativos es muy alta (Heubner 1986, King 1984). Se obtiene fundamentalmente localización nuclear del receptor tipo I, sin evidencias convincentes de tinción citoplásmica.

C.3 OTROS METODOS MORFOLOGICOS:

La autoradiografía (Shimada 1985), los ligandos autofluorescentes (Tobin 1980), los anticuerpos policlonales (Raam 1982) y los anticuerpos contra la proteína D-5, fosfo-proteína relacionada con los RE constituyen métodos experimentales que no han alcanzado mayor difusión.

6. IMPORTANCIA DE LOS RE Y RPg EN EL CANCER DE OVARIO:

Desde que los RE y RPg fueron reconocidos como factores pronóstico en el cancer de mama (McGuire 1978), se ha centrado gran interés en la determinación de receptores esteroideos en aquellos tumores relacionados con las hormonas gonadales (por ej. endometrio, próstata, cáncer de ovario) (Hunter 1980, Quinn 1985, Holt 1979).

A pesar de que el ovario no es un órgano diana primario para los estrógenos y de que sólo el tipo histológico endometrioide puede considerarse hormonodependiente, los tumores epiteliales ováricos no habían sido investigados (Kauppila 1983), habiéndose encontrado RE y RPg en alrededor del 50% de los tumores ováricos. De todas formas el significado de su presencia en la patogénesis de los tumores epiteliales ováricos no ha sido bien definido. Se ha invocado un papel similar al del cáncer de mama, estando su presencia relacionada inversamente con el grado de diferenciación histológico (Ford 1983, Schwartz 1985), pero otros han sido incapaces de probar ninguna relación (Hamilton 1981, Holt 1981, Schwartz 1982).

II. PLANTEAMIENTO DEL TEMA

Las técnicas más utilizadas para la detección del nivel del RE_g han sido los métodos bioquímicos. Sin embargo, a pesar de su probado valor clínico, presentan además de las desventajas intrínsecas al método, otras como un requerimiento de material superior a 0.5 gr, la incapacidad de la localización precisa de la fuente de receptores, la falta de apreciación de la heterogeneidad de las células tumorales, o la existencia de una infraestructura especializada.

Estas consideraciones negativas estimularon el desarrollo de los métodos morfológicos, principalmente los métodos histoquímicos e inmunocitoquímicos. Estos, además de ser de fácil aplicación y requerir una mínima dotación instrumental, permiten la visualización precisa de la fuente de RE_g y, por tanto, la estimación del grado de heterogeneidad tumoral.

El método histoquímico empleado normalmente es el descrito por Lee en 1978 (LEE 1978). Este se basa en la utilización de conjugados esteroideos fluorescentes. Su aplicación a muestras congeladas permite determinar los niveles de RE y RPg.

El método inmunocitoquímico más difundido es el desarrollado por King y Greene en 1984 (king 1984). Se basa en el empleo de anticuerpos monoclonales específicos contra la proteína receptora nuclear (estrofilina). Esta técnica muestra unos índices de sensibilidad y especificidad en relación a los

métodos bioquímicos clásicos en torno al 90%. Además, diversos autores han encontrado que su valor predictivo es, generalmente, más elevado que el alcanzado por los análisis DCC y SDG, oscilando sobre el 80%, tanto para la predicción de la respuesta a la terapia endocrina en los casos positivos como para la valoración de la progresión de la enfermedad en los casos negativos. Por otro lado, ofrece la posibilidad de aplicarse a las muestras incluidas en parafina y, consecuentemente, permite la realización de estudios retrospectivos.

En el presente trabajo, se ha tomado como análisis de referencia el método inmunocitoquímico descrito. Nos proponemos realizar un estudio de los receptores de estrógeno y progesterona en los tumores epiteliales ováricos primarios con los siguientes objetivos:

- Aplicación del método inmunocitoquímico a la detección de los RE y RPg en una muestra significativa prospectiva.
- Establecer su incidencia en dichos tumores.
- Su distribución en las células neoplásicas.
- Estudio de la posible interrelación entre la presencia de receptores y diferentes datos clinicopatológicos de las pacientes estudiadas: edad, estado menstrual, tipo histológico, grado de diferenciación histológico, estadio clínico, supervivencia y evolución.

III. MATERIAL Y METODO

1. MATERIAL:

En la realización del presente trabajo se han procesado 30 casos de carcinomas primarios ováricos. Las piezas se obtuvieron durante la intervención quirúrgica.

El diagnóstico anatomopatológico fue realizado en las muestras congeladas y confirmado tras su inclusión en parafina.

Todos los casos procedieron del Hospital Universitario Virgen del Rocío, excepto tres que pertenecían al Hospital Universitario Virgen de la Macarena. Ninguna de las pacientes habían sido sometidas a tratamiento antes de la intervención quirúrgica.

El periodo de recolección de muestras abarcó desde Enero de 1989 hasta Enero de 1991.

2. METODO:

2.1 PROCESADO DE LAS MUESTRAS:

A) RECOLECCION:

La recolección de las piezas se realizó durante la intervención quirúrgica. Una vez extraída la pieza se procedió al tallado de las mismas eligiéndose una zona cercana, lo más posible, al centro tumoral. Se tomó una sección del tumor para su preparación por congelación. El resto de la pieza fué fijado en formol, para seguir posteriormente el proceso rutinario de inclusión en parafina.

B) CONGELACION:

Las muestras se dividieron en tres o cuatro fragmentos, según la cantidad de material obtenido. Cada uno de ellos fué introducido en un dedal formado por papel de aluminio y se procedió a la congelación de la pieza en nitrógeno líquido en un termo portátil transportado hasta el quirófano para tal efecto.

El bloque así congelado fué almacenado en una bombona de nitrógeno líquido hasta el día señalado para el ensayo.

El tiempo transcurrido desde la extracción quirúrgica de la pieza hasta su almacenamiento no superó los 30-45 minutos.

2.2 METODO INMUNOCITOQUIMICO:

A) DESCRIPCION DEL METODO:

El sistema ABBOTT ER-ICA y PGR-ICA emplea una técnica peroxidasa-antiperoxidasa altamente sensible para la visualización de los receptores estrogénicos y de Progesterona en muestras tales como tejidos congelados mediante el uso de anticuerpo monoclonal dirigido específicamente contra los receptores.

Principios biológicos: Para cada ensayo se recogen cuatro muestras: dos se incuban en el Ac primario, que es una fracción de IgG de un anticuerpo monoclonal (rata) contra el receptor esteroideo humano, y las otras dos se incuban con el Ac de control, que es una IgG normal de rata. El propósito del Ac de control es valorar el grado de unión no específica entre los reactivos y la muestra. Los portaobjetos se incuban a continuación con el Ac de unión, una IgG anti-rata de cabra, que se une al Ac de rata contra el receptor esteroideo humano en la muestra tratada con el Ac primario y a la IgG normal de rata fijada a la muestra tratada con el Ac de control. A cada muestra se agrega a continuación el complejo PAP de rata, que se une al Ac de unión IgG antirata. Luego se agrega a cada muestra una solución de sustrato cromógeno compuesta del

sustrato (peróxido de hidrógeno) y de la DAB (diaminobencidina-4 HCl). La reacción de la peroxidasa con el peróxido de hidrógeno convierte a la DAB en un producto insoluble de color pardo-rojizo. Los complejos receptor-Ac monoclonal pueden visualizarse con el microscopio óptico, debido a la amplificación que han inducido el Ac de unión, el complejo PAP y los productos de la reacción enzimática.

La validez del ensayo se determina mediante la tinción de un control positivo (portaobjeto de control Abbott ICA).

Obtención y preparación de las muestras:

Se obtuvieron 4 cortes adyacentes de 4-6 micras de espesor del tejido tumoral mediante un criostato a -20°C , los cuales fueron montados en portaobjetos desengrasados y preparados con un adhesivo tisular. Un quinto corte se realizó para el control con Hematoxilina-Eosina.

- Preparación del adhesivo tisular: 0.5 ml de adhesivo tisular aportado por el equipo de Abbott - solución de proteína con agentes antimicrobianos - disuelto en 50 ml de agua destilada o desionizada. Se conserva en refrigeración durante un mes.

- Preparación de los portaobjetos:

. Limpieza de los portaobjetos con un paño que no deje pelusa.

- . Inmersión en alcohol absoluto (etanol 100%) durante al menos 10 minutos.

- . Dejar secar a temperatura ambiente.

- . Sumergirlos en el preparado de adhesivo tisular durante 5 minutos.

- . Lavar con agua deslizada o desionizada durante 1 minuto.. Repetir una vez más.

- . Dejar secar a temperatura ambiente.

- Tinción con Hematoxilina-Eosina:

Para la valoración cualitativa, cuantitativa y diagnóstica de la población tumoral en los cortes obtenidos, se procedió a la tinción con HE de uno de ellos. El proceso fué el siguiente:

- . Sumergir en Hematoxilina de Harris, de 1 a 3 minutos.

- . Lavado en agua corriente.

- . Viraje en una solución saturada de carbonato de litio.

- . Lavado en agua corriente.

- . Sumergir en Eosina durante varios segundos.

- . Lavado en agua corriente.

- . Deshidratación en alcoholes crecientes, con agitación continua.

- . Aclarar en xilol.

- . Montar en resina sintética.

Proceso de fijación:

- Se colocan los portaobjetos en solución de formaldehído-PBS al 37% durante 10 minutos, transfiriéndolos a un baño de PBS durante 4 a 6 minutos.

- Se sumergen los portaobjetos en metanol frío (de -10 a -25°C) entre 3 y 5 minutos y a continuación en acetona fría (entre -10 y -25°C) durante 1 a 3 minutos. Lavar luego en un baño de PBS a temperatura ambiente durante 4 a 6 minutos. Lavar de nuevo en PBS fresco durante 4 a 6 minutos y se incluye en este paso el portaobjetos de control.

- El procedimiento de tinción inmunocitoquímica se efectuará dentro de dos horas después de haber finalizado la fijación.

Procedimiento del ensayo:

1. Retirar el exceso de PBS de la muestra fijada o del portaobjetos de control.

2. Agregar por gotas el reactivo bloqueador sobre cada círculo que contiene una preparación (muestra o control).

3. Incubar durante 15 minutos en cámara húmeda.

4. Retirar el exceso de reactivo bloqueador.

5. Agregar por gotas el anticuerpo primario a uno de los portaobjetos de cada muestra, y anticuerpo de control al segundo portaobjetos de la misma muestra. Agregar el anticuerpo primario a uno de los círculos del portaobjetos de control, y anticuerpo de control al otro círculo. Incubar durante 30 minutos en cámara húmeda.

6. Poner los portaobjetos en un baño de PBS durante 5 minutos. Repetir, usando un nuevo baño de PBS.

7. Retirar el exceso de PBS.

8. Agregar por gotas el anticuerpo de unión a cada muestra. Incubar en cámara húmeda durante 30 minutos.

9. Poner los portaobjetos en un baño de PBS durante 5 minutos. Repetir, usando un nuevo baño de PBS.

10. Retirar el exceso de PBS.

11. Agregar por gotas el complejo PAP a cada muestra. Incubar en cámara húmeda durante 30 minutos.

12. Poner los portaobjetos en una baño de PBS durante 5 minutos. Repetir, usando un nuevo baño de PBS.

13. Retirar el exceso de PBS.

TINCION:

14. Inmediatamente después, agregar por gotas la solución de sustrato cromógeno, cubriendo cada muestra. Incubar cada muestra durante 6 minutos.

15. Drenar el exceso de solución de sustrato cromógeno de cada portaobjetos a un vaso de solución de hipoclorito de sodio (0.005% en agua corriente).

16. Poner los portaobjetos en agua destilada o desionizada, hasta que se hayan completado todas las incubaciones con solución de sustrato cromógeno.

17. Lavar los portaobjetos bajo una corriente suave de agua destilada o desionizada durante 5 minutos.

CONTRATINCION:

18. Poner los portaobjetos en una cubeta de tinción que contiene hematoxilina de Harris 1% (v/v) durante 4 a 6 minutos.

19. Lavar los portaobjetos bajo una corriente suave de agua destilada o desionizada durante 5 minutos.

MONTAJE:

20. Poner los portaobjetos en una cubeta de tinción que contenga etanol al 95% (2 minutos). Repetir este paso una vez más, usando una segunda cubeta de etanol al 95%.

21. Poner los portaobjetos en una cubeta de tinción que contenga etanol absoluto (2 minutos). Repetir este paso una vez más, usando una segunda cubeta de etanol absoluto (2 minutos).

22. Poner los portaobjetos en una cubeta de tinción que contenga xilol. Dejar durante por lo menos 2 minutos. Repetir este paso una vez más, usando un segundo baño de xilol.

23. Agregar una gota de medio de montaje, como por ejemplo, PERMOUNT, DPX o equivalente, a cada cubreobjetos.

24. Retirar cada vez un portaobjetos del baño de xileno, y colocar un cubreobjetos sobre cada muestra. Usar dos cubreobjetos pequeños para el portaobjetos de control. Esperar como mínimo 10 minutos antes de examinarlos al microscopio.

Para la preparación del revelador se disuelve una pastilla de DAB en 5 ml de reactivo de sustrato, una vez disuelta deberá emplearse dentro de los 30 minutos siguientes a su preparación.

Valoración de la técnica:

Si se detecta receptor estrogénico o de progesterona en la muestra, la tinción inmunocitoquímica se localizará en los núcleos de las células tratadas con el anticuerpo primario y aparecerá de color pardorrojizo. Los núcleos de las células que no contienen una cantidad significativa de receptor estrogénico serán de color azul. Otra tinción parda, que puede observarse en el citoplasma, en el tejido conjuntivo, en los leucocitos o eritrocitos o en tejido necrótico aparecerá también en las muestras tratadas con anticuerpo de control y deberá considerarse como inespecífica. La misma muestra tratada con anticuerpo de control, en lugar de anticuerpo primario, no deberá presentar tinción nuclear significativa. La tinción que se observa en el corte tratado con anticuerpo de control se considera como inespecífica.

Para evaluar las muestras seguimos las siguientes pautas:

1. Determinar el porcentaje total de las células malignas que se han teñido de forma no específica (núcleos pardos), recorriendo todo el corte tratado con el anticuerpo de control. Repetimos este proceso para determinar el porcentaje total de células malignas teñidas en el corte tratado con el anticuerpo primario. El porcentaje de células malignas con receptor detectable se determina restando el porcentaje de células malignas teñidas no específicamente del porcentaje de células malignas teñidas por el anticuerpo primario.

2. Las muestras con más del 20% de células malignas teñidas se consideran como positivas para RE.

3. Las muestras con menos del 20% de células malignas teñidas se consideran como negativas.

Además de la proporción de núcleos teñidos se valoró la intensidad de la tinción nuclear:

- x: tinción débil.
- xx: tinción moderada.
- xxx: tinción intensa.

3. METODO ESTADISTICO:

Se realiza análisis descriptivo a los datos calculando frecuencias, medias, desviaciones estándar y representaciones gráficas. Asimismo utilizamos el test X^2 no paramétrico para el cálculo de comparación de frecuencias observadas.

Se utiliza el test X^2 para frecuencias esperadas >5 , con la corrección de Yates para frecuencias esperadas entre 3 y 5 y la corrección de Nass para frecuencias esperadas entre 1 y 3. En el caso de que las frecuencias sean 0 ó <1 se utiliza el test 2I de Kullback y Leibler con la corrección de KU (Lothar Sach 1982). El nivel de significación elegido fué $\alpha: 0.05$.

IV. RESULTADOS

Hemos estudiado treinta tumores epiteliales ováricos primarios. De ellos, catorce casos eran carcinomas serosos, diez endometrioides, uno mucinoso, tres indiferenciados, un tumor de Brenner maligno y un tumor de células claras.

1. HALLAZGOS CLINICOS:

La edad de las pacientes osciló entre los treinta y los ochenta y dos años, con una media de cincuenta y ocho años. Hemos establecido tres grupos de edades: menores de cincuenta años en cuatro ocasiones, entre cincuenta y sesenta años en trece casos y mayores de sesenta años en trece casos. Veintitrés pacientes eran postmenopáusicas.

Entre los antecedentes cabe destacar que cuatro pacientes padecían una diabetes tipo II tratada con dieta (en dos casos) o antidiabéticos orales (en los otros dos casos). Una paciente padeció una displasia severa cervical y fué sometida a tratamiento antivirico dos años antes de presentar la enfermedad actual. Una paciente presentó un carcinoma de mama seis años antes de la enfermedad actual. No se han encontrado otros antecedentes personales de interés. La mayoría de las pacientes habian tenido hijos (entre uno y cuatro, la mayoría eran terciparas), excepto seis pacientes que eran nulíparas.

El estadio clínico de presentación más frecuente fué el IV, que correspondía a quince pacientes. Siete mujeres se presentaron en estadio clínico III, una en estadio II y siete en estadio I. La distribución según el tipo histológico fué la siguiente:

	ESTADIO				TOTAL
	I	II	III	IV	
Serosos	3	1	3	7	14
Mucinoso	1				1
Endometrioide	3		4	3	10
Indiferenciado				3	3
T de Brenner				1	1
T de cels claras				1	1

El cuadro de presentación más frecuente (quince casos) fué el de carcinomatosis abdominal, con tumoración hipogástrica, ascitis, circulación colateral, edema de miembros inferiores, compresión de órganos vecinos (disuria y tenesmo), y en dos casos se acompañó de derrame pleural. Cuatro pacientes presentaron además metrorragia, en dos casos debido a un adenocarcinoma de endometrio simultaneo. Diez enfermas presentaban molestias debidas a tumoración y dolor abdominal. Sólo una paciente se encontraba asintomática y el hallazgo de la tumoración abdominal fué fortuito, durante un estudio de esterilidad (se encontraba en estadio I).



2. HALLAZGOS ANATOMO-PATOLOGICOS:

El tamaño de los tumores osciló entre los tres y los treinta cms de diámetro máximo. En tres casos el tumor afectaba a ambos ovarios y en quince pacientes había diseminación peritoneal y visceral.

El aspecto macroscópico de los tumores fué predominantemente sólido-quístico, con contenido seroso (Fig 1). En tres casos las áreas sólidas estaban constituidas por proyecciones papilares a modo de coliflor, que hacían protusión en las cavidades quísticas. Otro de ellos presentaba un contenido hemorrágico en la luz de los quistes. Otro de los casos presentaba quistes multiloculares de contenido mucoso. Trece casos, y aquellos que se presentaron en estadio IV, estaban constituidos por tumoraciones sólidas, blanquecinas y con zonas necróticas.

En catorce casos, las pacientes padecieron carcinomas serosos. Seis de ellos estaban constituidos por estructuras glandulares y papilas tapizadas por células epiteliales estratificadas con atipias y actividad mitótica y frecuente desca- mación de nidos y de células en las cavidades, advirtiéndose invasión clara del estroma (Figuras 2.A y 2.B). En uno de estos casos se incluyeron y se cortaron múltiples cortes advirtiéndose un revestimiento epitelial similar al anterior pero no se

observó invasión de nidos celulares o glándulas en el estroma. Otros seis casos mostraban moderado grado de diferenciación y en dos casos el tumor remedaba escasamente al epitelio seroso de la trompa. En 1/3 de los casos se evidenciaron cuerpos de Psamoma.

De los diez carcinomas endometrioides, seis estaban constituidos por glándulas tapizadas por un epitelio de células estratificadas y a veces papilas que recordaban a las glándulas del adenocarcinoma de endometrio (Figuras 3.A y 3.B). En algunos casos se apreciaron áreas de metaplasia escamosa. Dos casos mostraban diferenciación intermedia y en otros dos era pobre.

Tipo Histológico	Total	Grado de diferenciación		
		Buena	Moderada	Pobre
SEROSO	14	6	6	2
ENDOMETRIOIDE	10	6	2	2
MUCINOSO	1			
T. BRENNER	1			
T. CEL. CLARAS	1			
INDIFERENCIADO	3			

El carcinoma de células claras estaba constituido por túbulos, quistes con proyecciones papilares, y zonas sólidas

de células claras. Algunos de los núcleos hacían prominencia en las cavidades a modo de tachuela.

El carcinoma mucinoso estaba constituido por glándulas irregulares y papilas tapizadas por un epitelio estratificado con marcada atipia nuclear (Fig 4). En algunas zonas se apreciaban vacuolas apicales secretoras e invasión del estroma.

El tumor de Brenner maligno estaba constituido por nidos y cordones de células poligonales con atipia y actividad mitótica, que vagamente recordaban al epitelio transicional de vías urinarias, pero se evidenciaron en una zona del tumor islotes de células que remedaban al epitelio transicional con glándulas mucinosas en el centro (Fig 5).

Los tres carcinomas indiferenciados mostraban nidos y cordones de células epiteliales que no presentaban ningún tipo de diferenciación serosa, endometriode , mucinosa o transicional; con marcada atipia, actividad mitótica e invasión del estroma (Fig 6).

En dos casos de carcinomas serosos se asociaban a hiperplasia endometrial y dos carcinomas de endometrio coexistían con un carcinoma seroso y otro endometriode de ovario. Otras asociaciones observadas han sido con pólipos endocervicales en tres casos, pólipos endometriales en uno, adenomiosis en tres, leiomiomas en cuatro y endometriosis ovárica en dos.

3. TRATAMIENTO Y EVOLUCION:

El tratamiento practicado fué en primer lugar quirúrgico: desde toma de biopsias en estadios muy avanzados (ocho pacientes), hasta histerectomía total con doble anexectomía, apendicectomía y omentectomía (veintidós pacientes). En ningún caso se realizó tratamiento conservador ya que lo rechazaron las pacientes más jóvenes que se encontraban en estadio I. Durante la intervención se tomó líquido peritoneal para estudio citológico y revisión de vísceras abdominales para detectar posibles metástasis.

La quimioterapia se ha utilizado como tratamiento complementario en catorce casos (cinco pacientes en estadio IV, seis en estadio III, una en estadio II y dos en estadio I). Los fármacos utilizados han sido Carboplatino, Adriamicina, Ciclofosfamida, Cisplatino, Melfalan, Farmiblastina, Genoxal, CxC, 4 EPI y GLF, agrupados en formas diversas según los protocolos en estudio del Servicio de Oncología.

En dos casos se llevó a cabo tratamiento hormonal complementario con Farlutal (Acetato de Medroxiprogesterona); en ambos casos se trataba de carcinomas endometrioides.

Las siete pacientes en estadio I tuvieron una evolución favorable, aunque una de ellas presentó una recidiva local que

fué tratada quirúrgicamente. La única paciente en estadio II se encuentra en la actualidad sana y libre de enfermedad. De las siete pacientes en estadio III, tres están vivas y cuatro han fallecido. En cuanto a las quince pacientes en estadio IV, seis enfermas viven todavía y nueve han fallecido. Estas consideraciones están sujetas a variaciones ya que el periodo de seguimiento ha sido variable para cada paciente, dependiendo de su fecha de aceptación para el estudio. En la primera, este periodo ha sido de dos años, y para la última, éste ha sido de meses. Las localizaciones de las metástasis comprobadas histológicamente han sido por orden de frecuencia: pulmonares (tres casos), hepáticas (dos casos), cerebrales (un caso) y óseas (un caso).

ESTADIO	EVOLUCION FAVORABLE	EXITUS	TOTAL
I	7	--	7
II	1	--	1
III	3	4	7
IV	6	9	15

4. HALLAZGOS INMUNOCITOQUIMICOS:

Se ha considerado como reacción positiva la aparición de una tinción de coloración marrón, granular o compacta, en las células neoplásicas. Se localiza exclusivamente en el núcleo de las células tumorales.

Todos los tumores inmunorreactivos ofrecieron una distribución heterogénea de los núcleos positivos, entremezclándose con un número variable de núcleos no teñidos; en un sólo caso se obtuvo un 100% de las células tumorales positivas. En algunos casos se observó la ausencia total de tinción. Además la intensidad de la tinción varió desde una coloración parda clara a marrón oscuro.

La tinción de las células tumorales positivas mostró un patrón similar al obtenido en los controles de células cultivadas (MCF-7) procedentes del propio equipo, que fueron procesados simultáneamente. Se observó una intensa tinción tras la incubación con el anticuerpo monoclonal y resultó completamente negativo con el suero no inmune.

En ocasiones se detectó cierto nivel de tinción de fondo en el citoplasma de las células epiteliales, y más escasamente en la trama conectiva del estroma. Asimismo, se observó tinción en la capa media de los vasos sanguíneos. Pero estas tinciones inespecíficas no causaron problemas de interpretación. Las

zonas de necrosis de las áreas tumorales resultaron completamente negativas.

Distribución de los niveles de estrofilina:

De la totalidad de los tumores analizados, ocho fueron positivos y veintidós negativos. Dentro de los niveles de positividad, ésta se desglosó en dos casos débil, cinco moderada y uno intensa. De ellos, cuatro eran también RPg(+).

	Nº casos
REs (+)	8 (27%)
REs (-)	22 (73%)

Distribución de los niveles de Receptores de Progesterona:

Once casos fueron positivos y diecinueve negativos. La intensidad de la tinción fué moderada en un caso e intensa en diez.

	Nº de casos
RPg (+)	11 (37%)
RPg (-)	19 (63%)

5. RELACION ENTRE EL STATUS DE RECEPTOR Y DIVERSOS

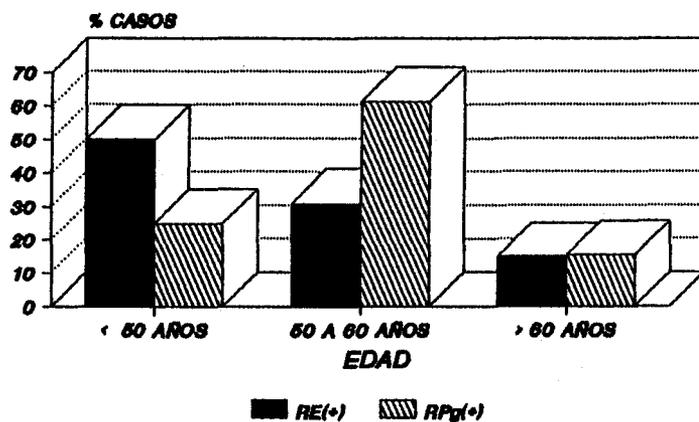
PARAMETROS CLINICO-PATOLOGICOS:

5.1 EDAD:

Como expusimos con anterioridad, la edad de las pacientes se ha distribuido en tres grupos: el primero, constituido por menores de cincuenta años (cuatro pacientes); el segundo, de edades comprendidas entre los cincuenta y los sesenta (trece pacientes); y el tercero, de edad superior a los sesenta años (trece pacientes). La distribución de los tumores RE(+) ha sido del 50% para el primero, del 31% para el segundo y del 15% para el tercero. Para los RPg(+) los porcentajes han sido: 25%, 61.5% y 15.5% respectivamente.

Observando estos datos vemos como a medida que aumenta la edad de las pacientes, disminuyen los receptores estrogénicos, tendencia que no llega a alcanzar significación estadística. Para los receptores de progesterona hay un pico de máxima incidencia en las pacientes de edades comprendidas entre los 50 y los 60 años ($p: 0.045$) que sí alcanza significación estadística.

STATUS DE RECEPTOR Y EDAD



RECEPTORES DE ESTROGENOS

	< 50 AÑOS	50-60 AÑOS	> 60 AÑOS
RE(+)	2 (50%)	4 (31%)	2 (15%)
RE(-)	2 (50%)	9 (69%)	11 (85%)
TOTAL	4	13	13

Chi Cuadrado: 2.07 p: 0.356

RECEPTORES DE PROGESTERONA

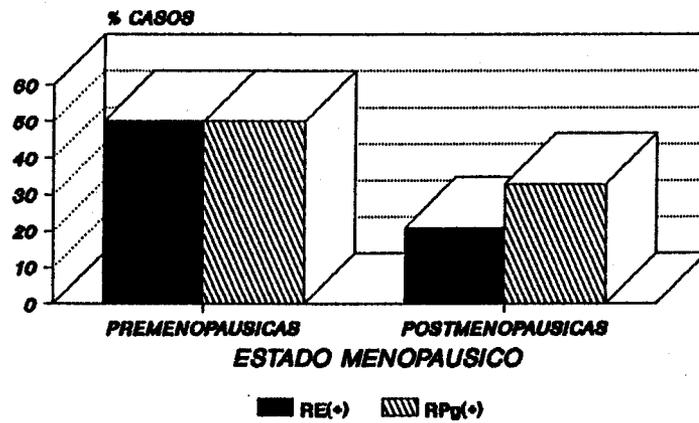
	< 50 AÑOS	50-60 AÑOS	> 60 AÑOS
RPg(+)	1 (25%)	8 (61.5%)	2 (15.5%)
RPg(-)	3 (75%)	5 (38%)	11 (84.5%)
TOTAL	4	13	13

Chi Cuadrado: 5.06 p: 0.045

5.2 ESTADO MENOPAUSICO:

Los tumores RE(+) constituyeron el 50% entre las pacientes premenopáusicas y sólo el 21% de las postmenopáusicas. El 50% de las pacientes premenopáusicas y el 33% de las postmenopáusicas mostraron tumores RPg(+). En este caso observamos como en las pacientes postmenopáusicas hay una tendencia a disminuir el número de receptores estrogénicos y de progesterona, pero sin alcanzar significación estadística.

STATUS DE RECEPTOR Y ESTADO MENOPAUSICO



RECEPTORES DE ESTROGENOS

	PREMENOPAUSICAS	POSTMENOPAUSICAS
RE(+)	3 (50%)	5 (21%)
RE(-)	3 (50%)	19 (79%)
TOTAL	6	24

Chi cuadrado: 2.09

p: 0.149

RECEPTORES DE PROGESTERONA

	PREMENOPAUSICAS	POSTMENOPAUSICAS
RPg(+)	3 (50%)	8 (33%)
RPg(-)	3 (50%)	16 (67%)
TOTAL	6	24

Chi cuadrado: 0.57

p: 0.449

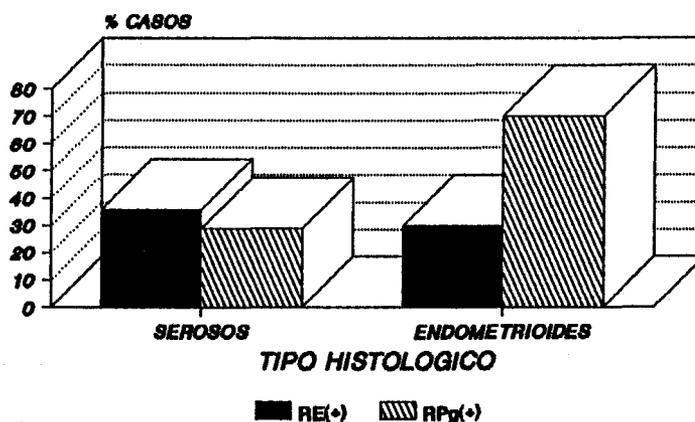
5.3 TIPO HISTOLOGICO:

En la tabla siguiente exponemos el status de receptor en los carcinomas serosos y endometrioides, ya que en los demás no hubo ningún caso positivo (mucinoso, T. de Brenner, T. de células claras y carcinoma indiferenciado).

En cuanto a los receptores de estrógenos no hay diferencias entre los tipos seroso y endometrioides, ya que las cifras son similares en ambos: el 36% de tumores RE(+) entre los serosos y el 30% de los endometrioides.

En cambio, sí hay diferencias para los receptores de progesterona, siendo el porcentaje de tumores positivos en los carcinomas endometrioides del 70% y en los serosos del 29% (diferencia estadísticamente significativa, $p: 0.045$).

STATUS DE RECEPTOR Y TIPO HISTOLOGICO



RECEPTORES DE ESTROGENOS

	SEROSOS	ENDOMETRIOIDES
RE(+)	5 (36%)	3 (30%)
RE(-)	9 (64%)	7 (70%)
TOTAL	14	10

Chi cuadrado: 0.09 p: 0.770

RECEPTORES DE PROGESTERONA

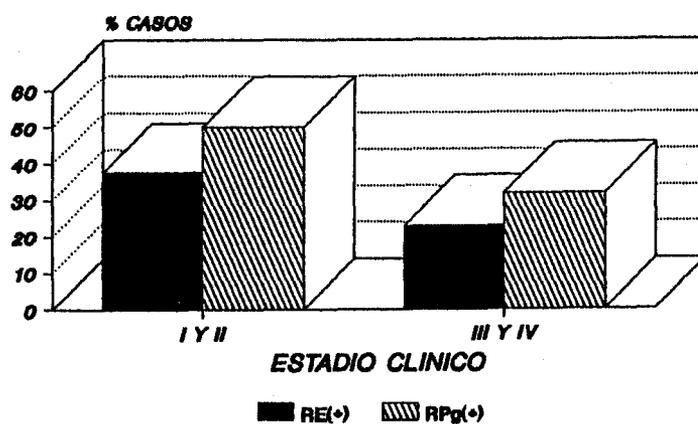
	SEROSOS	ENDOMETRIOIDES
RPg(+)	4 (29%)	7 (70%)
RPg(-)	10 (71%)	3 (30%)
TOTAL	14	10

Chi cuadrado: 4.03 p: 0.045

5.4 ESTADIO CLINICO:

En estadios avanzados (III y IV), el porcentaje de tumores RE(+) y RPg(+) fué del 23% y 32% respectivamente, proporción menor que en los estadios precoces (I y II): 37.5% tumores RE(+) y 50% tumores RPg(+). Parece por tanto que al avanzar la enfermedad disminuye el porcentaje de tumores positivos.

STATUS DE RECEPTOR Y ESTADIO CLINICO



RECEPTORES DE ESTROGENOS

	ESTADIO I Y II	ESTADIO III Y IV
RE(+)	3 (37.5%)	5 (23%)
RE(-)	5 (62.5%)	17 (77%)
TOTAL	8	22

Chi cuadrado: 0.65

p: 0.419

RECEPTORES DE PROGESTERONA

	ESTADIO I Y II	ESTADIO III Y IV
RPg(+)	4 (50%)	7 (32%)
RPg(-)	4 (50%)	15 (68%)
TOTAL	8	22

Chi cuadrado: 0.84

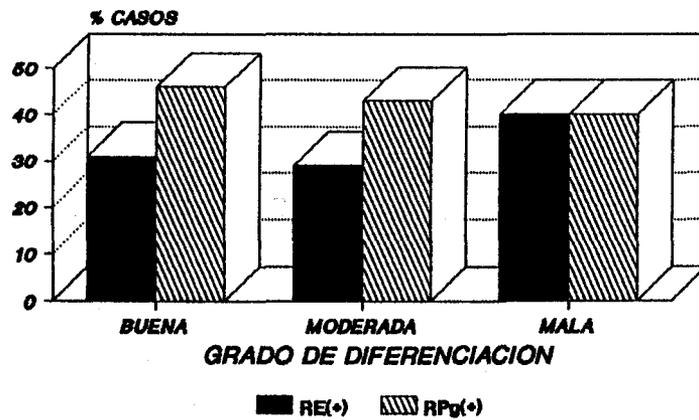
p: 0.361

5.5 GRADO DE DIFERENCIACION:

Sólo determinamos el grado de diferenciación en los carcinomas serosos, endometrioides y mucinosos. De los tumores bien diferenciados (trece), cuatro (31%) fueron RE(+) y seis (46%) fueron RPg(+). De los moderadamente diferenciados (siete), dos (29%) eran RE(+) y tres (43%) eran RPg(+); y de los cinco casos mal diferenciados había dos (40%) RE(+) y dos (40%) RPg(+).

No observamos relación alguna entre el grado de diferenciación histológico y la distribución de tumores RE(+); aunque los tumores RPg(+) van disminuyendo ligeramente a medida que se pierde la diferenciación.

STATUS DE RECEPTOR Y GRADO DE DIFERENCIACION



RECEPTORES DE ESTROGENOS

	GRADO DE DIFERENCIACION		
	BUENA	MODERADA	MALA
RE(+)	4 (31%)	2 (29%)	2 (40%)
RE(-)	9 (69%)	5 (71%)	3 (60%)
TOTAL	13	7	5

Chi cuadrado: 0.19

p: 0.908

RECEPTORES DE PROGESTERONA

	GRADO DE DIFERENCIACION		
	BUENA	MODERADA	MALA
RPg(+)	6 (46%)	3 (43%)	2 (40%)
RPg(-)	7 (54%)	4 (57%)	3 (60%)
TOTAL	13	7	5

Chi cuadrado: 0.06

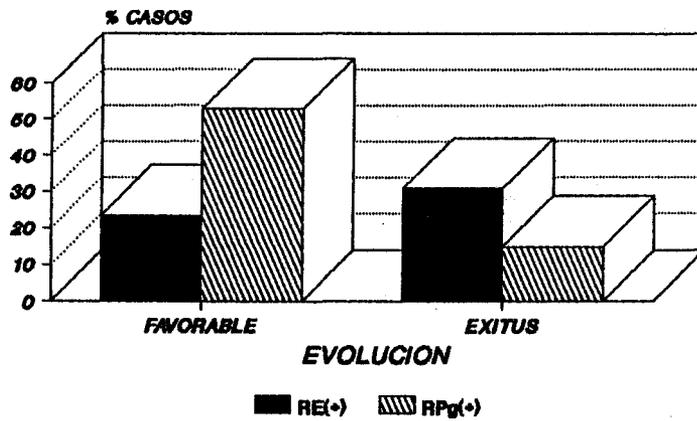
p: 0.970

5.6 SUPERVIVENCIA Y EVOLUCION:

Los porcentajes de tumores RE(+) según la evolución de las pacientes han sido los siguientes: el 23.5% de las pacientes con evolución favorable y el 31% de las fallecidas. No podemos relacionar por tanto el status de RE(+) con mejor evolución.

El 59% de las pacientes con evolución favorable tuvieron tumores RPg(+), contra sólo el 15% de las fallecidas, por lo que podemos decir que existe una asociación entre los tumores RPg (+) y un mejor pronóstico ($p=0.035$). Hay que tener en cuenta que estos resultados están sujetos a variación al aumentar el tiempo de seguimiento de las pacientes.

STATUS DE RECEPTOR Y EVOLUCION



RECEPTORES DE ESTROGENOS

	EVOLUCION FAVORABLE	EXITUS
RE(+)	4 (23.5%)	4 (31%)
RE(-)	13 (76.5%)	9 (69%)
TOTAL	17	13

Chi cuadrado: 0.20

p: 0.657

RECEPTORES DE PROGESTERONA

	EVOLUCION FAVORABLE	EXITUS
RPg(+)	9 (53%)	2 (15%)
RPg(-)	8 (47%)	11 (85%)
TOTAL	17	13

Chi cuadrado: 4.47

p: 0.03

TABLA DE RESULTADOS

N°	EDAD	MENOP	ESTADIO	HISTOLOG	DIFERENC	TRAT	EVOLUC	RE	RPg
1	63	POST	IV	SEROSO	MOD	Q	EXITUS	+	-
2	44	PRE	III	ENDOM	POCO	Q,C	EXITUS	+	-
3	30	PRE	Ia _{ii}	SEROSO	BIEN	Q	BUENA	+	-
4	77	POST	IV	SEROSO	MOD	Q	EXITUS	-	-
5	53	POST	III	ENDOMET	BIEN	Q,C,H	EXITUS	-	+
6	52	POST	Ia _i	SEROSO	BIEN	Q	BUENA	-	-
7	60	POST	III	SEROSO	POCO	Q,C	EXITUS	-	-
8	54	POST	II	SEROSO	BIEN	Q,C	BUENA	+	+
9	72	POST	IV	SEROSO	BIEN	Q	EXITUS	-	-
10	58	POST	IV	C. CLARAS		Q	EXITUS	-	-
11	78	POST	IV	BRENNER		Q,C	EXITUS	-	-
12	59	POST	III	SEROSO	BIEN	Q,C	EXITUS	+	-
13	82	POST	Ia _i	MUCINOSO	BIEN	Q	BUENA	-	-
14	60	POST	IV	ENDOMET	POCO	Q	EXITUS	-	-
15	66	POST	IV	SEROSO	MOD	Q	EXITUS	+	+
16	55	POST	III	ENDOMET	BIEN	Q,C	BUENA	+	+
17	50	POST	III	SEROSO	MOD	Q,C	BUENA	-	-
18	42	PRE	IV	SEROSO	BIEN	Q	EXITUS	-	-
19	55	POST	IV	INDIFER		Q	EXITUS	-	-
20	51	PRE	Ia	ENDOMET	POCO	Q,C	BUENA	+	+
21	50	PRE	IV	SEROSO	MOD	Q,C	BUENA	-	+
22	64	POST	IV	INDIFER		Q	BUENA	-	-
23	61	POST	Ib ₂	ENDOMET	BIEN	Q,C	BUENA	-	-

TABLA DE RESULTADOS (CONT)

Nº	EDAD	MENOP	ESTADIO	HISTOLOG	DIFERENC	TRAT	EVOLUC	RE	RPg
24	50	POST	III	ENDOMET	BIEN	Q	BUENA	-	+
25	51	POST	Iai	SEROSO	POCO	Q	BUENA	-	+
26	67	POST	IV	SEROSO	MOD	Q,C	BUENA	-	-
27	57	POST	IV	ENDOMET	BIEN	Q	BUENA	-	+
28	71	POST	IV	INDIFER		Q,C	BUENA	-	-
29	71	POST	IV	ENDOMET	MOD	Q,C	BUENA	-	+
30	32	PRE	Iai	ENDOMET	BIEN	Q	BUENA	-	+

MENOP: Estado menopáusico

PRE: Premenopáusica

POST: Postmenopáusica

HISTOLOG: Tipo Histológico

ENDOMET: Endometrioides

INDIFER: Indiferenciado

DIFERENC: Diferenciación

MOD: Moderada

TRAT: Tratamiento

Q: Quirúrgico

C: Citostático

H: Hormonal

EVOLUC: Evolución

RE: Receptores estrogénicos

RPg: Receptores de Progesterona

- : Negativo

+ : Positivo

V. DISCUSSION

La expresión de los receptores esteroideos en los carcinomas ováricos es de interés porque éste continúa siendo el más letal de los carcinomas ginecológicos, con un aumento de su incidencia después de la menopausia (Heintz 1985). Debido a que la cantidad de mujeres que alcanzan la menopausia continúa creciendo, puede llegar a crear un problema de salud pública. Estudios epidemiológicos, clínicos y experimentales han implicado a las hormonas en la patogénesis y la regulación del crecimiento de los carcinomas que surgen del epitelio de superficie del ovario. El riesgo de desarrollar un carcinoma ovárico se incrementa en mujeres nulíparas o infértiles (McGowan 1979; Hildreth 1981). La multiparidad y la anticoncepción oral se asocian con una disminución del riesgo (Cramer 1982, Willett 1981). La incidencia por edades aumenta exponencialmente en el climaterio (Devesa 1987); el cuál se asocia a una alteración importante en la producción de hormonas esteroideas y peptídicas (Reyes 1977, Chakravarti 1976). Una mujer con cáncer de mama tiene duplicado el riesgo de desarrollar un cáncer de ovario (Young 1985). Neoplasias ováricas experimentales se han conseguido inducir hormonalmente (Jabara 1977) y se ha sugerido una asociación entre la administración exógena de estrógenos y el cancer de ovario (Hoover 1977).

La edad media de nuestras pacientes, 58 años, es similar a la obtenida por otros autores; 58 años en la serie de Bizzi (Bizzi 1988), 57 en la de Rose (Rose 1990) y 59.5 en la de

Isola (Isola 1990). La mayoría (el 80%) eran postmenopáusicas, cifras comparables con las de otros estudios (Bizzi 1988, Rose 1990 y Toppila 1986). El estadio clínico de presentación más frecuente fué el IV (quince pacientes), que junto con el III (siete pacientes) constituía el 73% de nuestra serie. La distribución por estadios clínicos es similar en la mayoría de las series consultadas, siendo los estadios avanzados (III y IV) los más frecuentes (Rose 1990 y Spona 1986).

De los 30 tumores estudiados, el tipo histológico principal ha sido el carcinoma seroso (catorce casos) seguido del endometrioides (diez casos), como es habitual en los estudios de tumores epiteliales ováricos (Rose 1990, Toppila 1986 e Isola 1990).

Los RE y RPg en cáncer de ovario se han estudiado desde mediados de la década de los 70 (Holt 1979). Comparado con el tejido ovárico normal, los tumores malignos del ovario son RE (+) y/o RPg(+) con mayor frecuencia (Holt 1979, Ford 1983, Toppila 1986). En los tejidos ováricos malignos, los RE estaban presentes en el 53% de las muestras, siendo significativamente mayor ($p < 0.01$) que la del ovario normal (19%) o tumores benignos (17%). Los RPg fueron hallados en 40% de los tumores malignos, porcentaje menor que el encontrado en fragmentos ováricos normales (73%) y que en tumores benignos (22%) (Toppila 1986). Con esto se puede asegurar que hay cambios en la regulación de los receptores esteroideos durante la transformación maligna de tejidos ováricos y los resultados confirman lo

publicado con anterioridad (Toppila 1986, Willcoks 1983). Los receptores que se han encontrado con mayor frecuencia además de los RE y RPg son para glucocorticoides (Galli 1981) y para andrógenos (Galli 1981, Hamilton 1981). Las proteínas receptoras para esteroides en carcinomas ováricos son indistinguibles de las encontradas en los clásicos órganos diana de los estrógenos (endometrio fundamentalmente), en el cáncer de mama y en el del tracto reproductivo.

Press (Press 1985) demostró en su estudio una correlación positiva muy fuerte entre altas concentraciones de receptor estrogénico citosólico determinado por métodos bioquímicos y la localización inmunocitoquímica de receptor estrogénico en el núcleo. Los veinticinco tumores con concentraciones de 700 o más fmoles de estrofilina/gm de tejido tuvieron tinción nuclear para el receptor por inmunocitoquímica. Este puede ser el límite de sensibilidad de la técnica inmunocitoquímica. A esto puede deberse que nuestros porcentajes de tumores RE(+) (27%) y RPg (+) (37%) sean menores que los obtenidos por otros autores que utilizaron los métodos bioquímicos clásicos (Bizzi 1988, Rose 1990, Bibro 1979, Holt 1981, Bojar 1983). También hemos de mencionar que generalmente los porcentajes de tumores RE(+) eran mayores que los RPg (+) en los trabajos que utilizan los métodos bioquímicos (Holt 1979, Ford 1983, Bojar 1983); en nuestra serie, realizada con el método inmunocitoquímico, ocurre lo contrario.

La localización inmunocitoquímica de los receptores es nuclear, no citoplásmica. Este resultado es sorprendente porque el mecanismo propuesto de la acción de los receptores esteroideos que se ha utilizado en los últimos 17 años, sugiere que la estrofilina libre es citoplasmática y se transloca al núcleo cuando es ocupada por los estrógenos (Gorski 1968, Jensen 1968). Press (Press 1985) apoya la sugerencia de otros autores (King 1984) de que la estrofilina detectada por los métodos bioquímicos en los extractos citosólicos de tejidos puede ser una proteína nuclear que se solubiliza por la homogenización tisular y el tratamiento con cloruro potásico. Al microscopio electrónico se observan los receptores estrogénicos en la eucromatina, la cuál se considera como la cromatina metabólicamente activa (Press 1985).

Sólo en un caso se tiñeron todas las células. En el resto la tinción fué muy heterogénea, siendo posible que las células tumorales negativas representen una subpoblación de células malignas pobres en receptores; sin embargo pueden existir otras consideraciones biológicas para explicar estos hallazgos. Puede ocurrir que en una fracción del ciclo celular el receptor no esté presente o no pueda ser detectado inmunocitoquímicamente. Dificultades técnicas podrían ser un factor limitante del número de células que pueden localizarse. Idealmente, el tejido debería congelarse en nitrógeno líquido tan pronto como sea posible y seccionarse inmediatamente. El almacenamiento a -70°C es suficiente durante periodos prolongdos (más de tres años), pero se ha descrito (Press 1985) una disminución de la

intensidad de la tinción específica y en el porcentaje de células teñidas cuando se repite el ensayo tras almacenamiento prolongado (más de un mes).

Sevelda (1990) encontró que el porcentaje de tumores RPg(+) era significativamente mayor en mujeres jóvenes (menores de cuarenta y nueve años), aludiendo que la síntesis de RPg puede estar inducida por la producción de estrógenos endógenos. Spona (1986), en cambio, observó que las mujeres mayores de 60 años eran RE (+) y RPg (+) en el 63% de los casos, contra un 36% en las menores de 60 años. Otros, sin embargo, no han encontrado relación entre el status de receptor y la edad de las pacientes (Sutton 1986, Masood 1986, Rose 1990, Bizzi 1988). Nosotros tenemos un pico de pacientes con mayor porcentaje de RPg (+) entre los 50 y 60 años (con significación estadística). El contenido de RE de nuestras pacientes tiende a ir disminuyendo a medida que avanza la edad de éstas.

En cuanto a la relación entre el estado menopáusico y el status de receptor tampoco hay acuerdo. Si para algunos no existe relación alguna (Sutton 1986, Bizzi 1988, Rose 1990, Kuhnel 1987, Anderl 1988), para otros la cantidad media de receptores esteroideos parece menor en premenopáusicas que en postmenopáusicas (Holt 1986, Holt 1979, Hahnel 1982). En nuestras pacientes premenopáusicas el porcentaje de tumores RE(+) y RPg (+) fué mayor (del 50%) que en las postmenopáusicas (21% y 33% respectivamente), sin llegar a alcanzar significación estadística.

Para Holt y cols (Holt 1986), la cantidad de receptores esteroideos parece independiente del estadio clínico de la enfermedad, conclusión a la que llegaron otros autores (Richman 1985, Press 1985, Schwartz 1985, Ford 1983, Sutton 1986, Masood 1989, Rose 1990). En otras series, sin embargo, pacientes con estadios precoces (I y II) tienen más RE(+) que las pacientes con estadios avanzados (III y IV) (Isola 1990, Spona 1886). Teniendo en cuenta los datos de nuestras pacientes estamos de acuerdo con estos últimos, ya que las pacientes con estadios I y II fueron en un 37% RE(+) y en un 50% RPg (+), mientras que los porcentajes para los estadios III y IV fueron del 23% y del 32% respectivamente. Otros autores mantienen que las pacientes con enfermedad recurrente tienen menor cantidad de receptores esteroideos (Kauppila 1983, Vihko 1983).

Todos los tipos de tumores epiteliales y de los cordones sexuales ováricos contienen receptores esteroideos (Holt 1986, Schwartz 1985, kauppila 1983, Vihko 1983, Holt 1979). En contraste, los tumores de células germinales no suelen contener receptores esteroideos (Schwartz 1983). Los receptores se han descrito con mayor frecuencia en los tumores endometrioides que en otros tipos histológicos (Holt 1986, Rose 1990, Ford 1983, Toppila 1986, Bergquist 1981, Quinn 1982, Sutton 1986, Richman 1985), como ocurre en nuestras pacientes, en las que el 70% de los tumores endometrioides eran positivos para RPg ($p: 0.045$), porcentaje mucho mayor que el 29% de los serosos. En cambio, los RE son más frecuentes en los tumores serosos (36%) que en los endometrioides (30%). A pesar de la concordancia en este

aspecto entre los autores citados, hay otros que no han encontrado relación alguna entre el tipo histológico y la distribución de los receptores (Slotman 1989, Schwartz 1982, Schwartz 1985, Anderl 1988).

Numerosos autores (Iversen 1986, Ford 1983, Quinn 1982, Kauppila 1983) han documentado incremento del contenido de receptores en tumores con mejor diferenciación. Schwartz (Schwartz 1985) publicó resultados contradictorios, observando que los pobremente diferenciados tenían más RE. Kuhnel (Kuhnel 1987) y cols encontraron que los RPg, y no los RE, se incrementaban en los tumores bien diferenciados. Otros no han observado relación alguna (Press 1985, Holt 1979, Vihko 1983). En nuestra experiencia, los RPg van disminuyendo a medida que se pierde la diferenciación, pero los RE no mantienen una correlación, siendo más abundantes en los pobremente diferenciados. Un estudio reciente ha presentado la asociación entre aneuploidia y cantidad de RPg en carcinomas ováricos (Friedlander 1985). Geisinger (Geisinger 1986) sugirió que podría existir una asociación entre el contenido de RPg y la actividad proliferativa de las células tumorales, como ocurre en el carcinoma endometrial; pero Isola (Isola 1990) estudió varios parámetros de actividad proliferativa (citometría de flujo de DNA, antígeno de proliferación Ki-67) y no halló dicha relación.

El significado pronóstico de los receptores de estrógeno y progesterona ha sido definido más claramente en pacientes con cáncer de mama y endometrial (Jensen 1976, Knight 1977, Ehrlich



1981, Benraad 1980). Las pacientes con cáncer de mama en estadios precoces y que contienen niveles elevados de receptores de estrógeno tienen intervalos prolongados libres de enfermedad tras el tratamiento inicial comparado con pacientes con cánceres pobres en RE, y tienen mayor probabilidad de responder a la terapia hormonal cuando hay recurrencia. Sin embargo, la presencia de RE no es una garantía de respuesta, ya que sólo el 50-60% de los tumores RE (+) responden a la manipulación hormonal. Horwitz y cols (Horwitz 1975) mantienen que la presencia de RPg sería un marcador más sensible de la respuesta al tratamiento hormonal. El RPg se forma por la interacción de los estrógenos con una célula diana que contiene RE. La presencia de niveles de Pg circulantes suficientes para inducir la aparición de RPg nucleares disminuirá la presencia o la cantidad de RE medibles. Este mecanismo de control podría explicar la relación inversa de RE y RPg en los tumores. Parece también que el RPg es un importante predictor del intervalo libre de enfermedad para pacientes con cáncer de mama en estadio II, como los RE, y es un factor pronóstico independiente de otros conocidos, como el n° de ganglios linfáticos axilares positivos, la localización del cáncer primario y la historia familiar.

En el carcinoma de ovario todavía no se ha llegado a conclusiones tan claras. Schwartz y cols (Schwartz 1986) en 101 pacientes en estadios del I al IV vieron que pacientes en estadio I y II RPg (+) tuvieron mejor pronóstico que las RPg (-). Sin embargo en estadios III y IV, las RPg (+) tuvieron

peor supervivencia que las RPg (-). Una posible explicación para esto puede ser que los carcinomas ováricos en estadio avanzado con RPg (+) respondan mal a la quimioterapia por ser hormonosensibles y estarían estimulados en su crecimiento por estrógenos endógenos o por la conversión de andrógenos circulantes a estrógenos (Schwartz 1986). Esto último ha sido demostrado para el cáncer de mama (Lippman 1977), pero no en el de ovario. Hamilton (Hamilton 1984) ha demostrado la producción de RPg in vitro en respuesta a estrógenos en una línea celular de carcinoma ovárico humano que contenía RE. Sería posible que los carcinomas ováricos, como los mamarios y endometriales, fueran sensibles a los estrógenos y este efecto in vivo puede contrarrestar el efecto de la quimioterapia. La presencia de RE no fué de significado pronóstico en estadios avanzados.

Bizzi y cols (Bizzi 1988), de 97 pacientes en estadio III y IV observó que el contenido de RPg no tuvo relevancia en términos de significado pronóstico, mientras que las RE(+) tuvieron mejor supervivencia que las RE (-).

Kaupila y cols (Kaupila 1983) encontraron que las pacientes RE y RPg (+) tenían mejores porcentajes de supervivencia que las pacientes con receptores negativos.

Para Sevela (Sevela 1990) los cuatro factores pronóstico más importantes fueron: el grado histológico, la edad, el tamaño del tumor residual y el contenido de RPg. El contenido

de RPg en pacientes con tumor residual menor de 2 cms fué de especial relevancia en cuanto al carácter pronóstico de supervivencia (83% de supervivencia para las RPg (+) y 51% para las RPg (-)). Nuestros resultados son muy similares, con un 82% de supervivencia para las RPg (+) y un 42% para las RPg (-). Sevela (Sevela 1990) concluye que en el carcinoma ovárico, el contenido de RPg podría tener un significado pronóstico independiente, como ocurre en el carcinoma endometrial y en el de mama.

En otros estudios se ha concedido mayor importancia a los RE en cuanto a la supervivencia que a los RPg (Bizzi 1988, Rose 1990). Para Isola (Isola 1990), esto sugiere que los RE o factores implicados en su aparición pueden tener un papel en el comportamiento del tumor. Gracias a los métodos inmunocitoquímicos se observó que los niveles de RE bajos se deben a la pequeña proporción de células que contienen receptores. Esta puede ser la razón de las tasas bajas de respuesta al tratamiento endocrino (Freedman 1986, Mangioni 1981). La asociación de los tumores RE (+) con una mejor supervivencia podría estar justificada por la relación que se ha establecido con los cariotipos diploides y los estadios clínicos I y II, los cuales son indicadores conocidos de mejor supervivencia (Kallioniemi 1988). Esto indica una asociación entre status de receptor y grado de diferenciación. Estudios con estadísticas multivariantes han llegado a las mismas conclusiones (Press 1985, Harding 1990). En resumen, el status de RE (+) puede estar asociado con tumores de baja agresividad. No compartimos estas ideas ya que

en nuestro estudio no hemos observado relación alguna de los tumores RE (+) con la supervivencia. Algunos autores refieren que los tumores RE (+) que son RPg (-) pierden la influencia positiva de los primeros (Bizzi 1988).

Otros autores (Richman 1985, Anderl 1988) no encontraron relación entre el contenido de receptores hormonales y la supervivencia.

En el cáncer de mama, la presencia de receptores esteroideos es de valor en la predicción de la respuesta clínica al tratamiento hormonal (Fisher 1983). Sin embargo, el 40-50% de las pacientes con cáncer de mama con tumores RE (+) no responden al tratamiento hormonal (Osborne 1985). La progresión a la insensibilidad a los esteroides es inevitable en los cánceres mamarios inicialmente sensibles, y puede ocurrir a pesar de la persistencia de receptores esteroideos funcionales (Darbre 1987). Verdaderamente, la resistencia hormonal a pesar de la presencia de receptores esteroideos parece ser más común en el cáncer de ovario. En las investigaciones realizadas en el cáncer de ovario, la respuesta al tratamiento hormonal no parece relacionarse con el contenido en receptores del tumor (Schwartz 1986, Kauppila 1983). Se necesitan mejores factores que predigan la respuesta a la manipulación hormonal. El desarrollo de modelos de cáncer de ovario hormonosensible puede clarificar el papel del tratamiento hormonal en el tratamiento del cáncer de ovario y ayudar a identificar aquellas pacientes que se podrían beneficiar de dicho tratamiento. Dos líneas

celulares, la PEO2 y la NIH: OVCAR-3, se han estudiado. La primera era RE(+) y con Estrógenos se inducía su crecimiento, por lo que se podía tratar con antiestrógenos. La otra, con Estrógenos no crecía pero se inducía la formación de RPg, por lo que en vez de tratarla con antiestrógenos se probó a tratarla con una secuencia de Etinilestradiol y acetato de medroxiprogesterona (Freedman 1986), consiguiendo una respuesta del 14% y una estabilización de la enfermedad del 20%.

Weiner (Weiner 1987) no ha encontrado correlación entre las tasas de respuesta a tamoxifen y el status de receptor de los carcinomas ováricos. Se dan cifras de 3.2% de respuestas completas, 6.4% de respuestas parciales, 19.3% de enfermedad estable y 71% de enfermedad progresiva en pacientes en las que habían fracasado previamente otros tratamientos citostáticos.

Rendina y col (Rendina 1982) publicaron un estudio con 43 pacientes con tumores endometrioides tratados con acetato de medroxiprogesterona. Los tumores RE (+) fueron el 81.3% y los RPg el 72.1%. El 50% de los RE(+) y el 67% de los RPg (+) respondieron (en total fueron veintitrés pacientes). Ninguna de las pacientes RE(-) respondió al tratamiento. Los autores concluyeron que el carcinoma endometrioide es más hormonosensible y que el status de receptor tiene un papel en seleccionar las pacientes para el tratamiento hormonal.

Los carcinomas ováricos tiene niveles de RE y RPg menores que los de mama y endometrio (Sutton 1986, Kuhnel 1987), y esto

puede explicar su menor respuesta al tratamiento hormonal. Sin embargo, en la variedad endometrioides sí hay un incremento de los receptores. Si este incremento en los niveles de RE y RPg es útil en predecir la respuesta al tratamiento hormonal tal como sugiere Rendina (Rendina 1982), necesita confirmación.

Los efectos de la radioterapia sobre el contenido de receptores esteroideos no se conocen todavía (Bergqvist 1981).

En el estudio de Sevela (Sevela 1990) de cientosetenta y nueve pacientes en estadio III ó IV, la respuesta a la quimioterapia se correlacionó con los tumores RPg(+): 80% de respondedoras en el grupo RPg(+) y sólo 61% en las RPg(-). Mediante análisis estadístico se relacionó el contenido de RPg con el pronóstico de pacientes con tumor residual menor de 2 cms, entre las cuales hay un 83% de supervivencia para las RPg(+) contra un 51% en las RPg(-).

Richman (Richman 1985) demostró que los RE se expresan en pacientes con enfermedad avanzada incluso tras quimioterapia, mientras que los RPg son menores en pacientes tras quimioterapia. Kauppila (Kauppila 1983) y Sutton (Sutton 1986) han encontrado niveles menores de RE y de RPg en tejidos de pacientes tratadas previamente con quimioterapia. Otros no han encontrado relación (Richman 1985, Rose 1990).

En las pacientes con cáncer ovárico, las concentraciones de RE pueden variar según las localizaciones de la enfermedad

metastásica (Richman 1985, Press 1985, Schwartz 1985, Holt 1979, Schwartz 1982), sin embargo, las concentraciones de RE en metástasis peritoneales no son diferentes de aquellas en los tumores ováricos primarios (Schwartz 1985). Si el tumor primario carece de RE, en las metástasis no suelen existir (Schwartz 1985, Holt 1979, Bergqvist 1981). En realidad hay pocos trabajos que hayan examinado el contenido de receptores del tumor primario y de las metástasis. En el estudio de Rose (Rose 1990), hay cifras de concordancia para RE del 67% y para RPg del 79%. Richman (Richman 1985) publicó cifras del 77% para RE. Toppila y cols (Toppila 1986), estudiando quince pacientes, encontraron que las metástasis contenían RE más frecuentemente que los tumores primarios, y lo contrario para los RPg. Quinn y cols (Quinn 1982) publicaron cinco casos, con 80% de concordancia para RE y 40% para RPg.

Debido a que la experiencia con pacientes es todavía limitada, no es posible establecer el significado pronóstico de los receptores esteroideos en los carcinomas ováricos (Shirey 1985, Richman 1985, Schwartz 1985, Kauppila 1983, Vihko 1983). Probablemente tendrá menor importancia para predecir la respuesta al tratamiento hormonal que en el de mama y en el de endometrio (Vihko 1983, Carlson 1984, Luciani 1984). La postura adecuada será utilizar esta información como adicional para la clasificación histopatológica e inmunocitoquímica. Además la información acerca del contenido de receptores esteroideos puede ser útil para la selección de un óptimo tratamiento y

mejorar las bases para un desarrollo racional de avances en el conocimiento del carcinoma ovárico.

VI. CONCLUSIONES

1. De los treinta tumores estudiados, ocho (27%) fueron positivos para RE y once (37%) fueron positivos para RPg.

2. A medida que aumenta la edad de las pacientes, disminuye el número de tumores RE(+), tendencia que no llega a alcanzar significación estadística.

3. Las pacientes con edades comprendidas entre los cincuenta y sesenta años presentan mayor porcentaje de tumores RPg(+) ($p < 0.05$).

4. En las pacientes postmenopáusicas existe una disminución del número de tumores RE(+) y RPg(+) (disminución que no presenta significación estadística).

5. El tipo histológico del tumor no influyó en la cifra de tumores RE(+).

6. El tipo endometrioides tiene significativamente mayor porcentaje de tumores RPg(+) ($p < 0.05$).

7. En estadios avanzados de la enfermedad (III y IV) disminuyen los tumores positivos para RE y RPg.

8. El grado de diferenciación histológica parece independiente de status de receptor estrogénico.

9. A medida que se pierde la diferenciación tumoral van disminuyendo los tumores RPg(+).

10. No podemos relacionar el status de receptor estrogénico con la evolución de las pacientes.

11. Existe una asociación entre tumores RPg(+) y un mejor pronóstico ($p < 0.05$).

VII. BIBLIOGRAFLA

Aguirre P, Scully RE, Dayal Y, DeLellis RA. Mucinous tumors of the ovary with argyrophil cells. An immunohistochemical analysis. *Am J Surg Pathol* 1984; 8:345-56.

Aguirre P, Scully RE, Wolfe HJ, DeLellis RA. Argyrophil cells in Brenner tumors. Histochemical and immunohistochemical analysis. *Int J Gynecol Pathol* 1986; 6:223-34.

Al-Timimi A, Buckley CH, Fox H. An immunohistochemical study of the incidence and significance of sex steroid hormone binding sites in normal and neoplastic human ovarian tissue. *Int J Gynecol Pathol* 1985; 4:24-41.

Anderl P, Fuith LC, Kaxenbickler G, Marth C, Dapunt O. Correlation between steroid hormone receptors, histological and clinical parameters in ovarian carcinoma. *Gynecol Obstet Invest* 1988; 225:135-40.

Anderson JN, Peck EJ Jr and Clark JH. Estrogen-induced uterine responses and growth: relationship to receptor estrogen binding by uterine nuclei. *Endocrinology* 1975; 96:160-67.

Barber HRK. Ovarian cancer. Diagnosis and management. *Am J Obstet Gynecol* 1984; 150:910-16.

Barr W, Cowell MAC, and Chatfield WR. The management of ovarian carcinoma: a review of 420 cases. *Scott Med J* 1970; 15:250.

Baulieu EE. Some aspects of the mechanism of action of steroid hormones. *Mol Cell Biochem* 1975; 7:157-74.

Bell DA, Scully RE. Peritoneal implants of serous borderline tumors. Histologic features and prognosis (abstract). *Lab Invest* 1987; 56:5 A.

Beller U, Bigelow B, Beckman AM, Brown B, Demopoulos RI. Epithelial carcinoma of the ovary in the reproductive years. Clinical and morphological characterization. *Gynecol Oncol* 1983; 15:422-27.

Benraad RJ, Friberg LG, Koenders AJM, et al. Do estrogen and progesterone receptors in metastasizing endometrial cancers predict the response to gestagen therapy?. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1980; 59:155.

Bergqvist A, Kullander S and Thorell J. A study of estrogen and progesterone cytosol receptor concentration in benign and malignant ovarian tumours treated with medroxyprogesterone acetate. *Acta Obstet Gynecol Scand Suppl* 1981; 101: 75-81.

Bibro MC, Schwartz Pe, Livolsi VA and Eisenfeld AJ. Estrogen binding macromolecules in human ovarian carcinoma. *Lab Invest* 1979; 40: 241-242.

Bizzi A, Codegoni AM, Landoni F, et al. Steroid receptors in epithelial ovarian carcinoma: relation to clinical parameters and survival. *Cancer Res* 1988; 48:6222-6.

Blaustein A: Peritoneal mesothelium and ovarian surface cells-shared characteristics. *Int J Gynecol Pathol* 1984; 3:361-75.

Bojar H and Petzinna D. Hormone receptors in ovarian cancer. In *Cancer Campaign vol 7. Carcinoma of the ovary* (Grundmann E, ed). 1983. Gustav Fischer Verlag. Stuttgart, pp:39-49.

Brustman L, Seltzer V. Sister Joseph's nodule. Seven cases of umbilical metastases from gynecologic malignancies. *Gynecol Oncol* 1984; 19:155-62.

Burghardt E, Pickel H, Lahousen M, Stettner H. Pelvic lymphadenectomy: a operative treatment of ovarian cancer. *Am J Obstet Gynecol* 1986; 155:315-19.

Carlson JA, Allehra JC, Day TG, Wittliff JL. Tamoxifen and endometrial carcinoma: alterations in estrogen and progesterone receptors in untreated patients and combination hormonal therapy in advanced neoplasia. *Am J Obstet Gynecol* 1984; 149:-149-53.

Casper S, Van Nagell FR Fr, Powell DF et al. Immunohistochemical localization of tumor markers in epithelial ovarian cancer. *Am J Obstet Gynecol* 1984; 149:154-58.

Chakravarti S, Collins WP, Forecast JD, Newton JR, Oram DH, Studd JWW. Hormonal profiles after the menopause. *Br Med J* 1976; 2:784-7.

Chamness GC, Huff K and McGuire WL. Protamine precipitation of estrogen receptor: a solid phase ligand exchange assay. *Steroids* 1975; 25:627-35.

Chamness GC, Mercer WD and McGuire WL. Are histochemical methods for estrogen receptor valid?. *J Histochem Cytochem* 1980; 28:792-8.

Charpin C, Bhan AK, Zurawski VR Jr, Scully RE. Carcinoembryonic antigen (CEA) and carbohydrate determinant 19-9 (CA 19-9) localization in 121 primary and metastatic ovarian tumors. An immunohistochemical study with the use of monoclonal antibodies. *Int J Gynecol Pathol* 1982; 1:231-45.

Clark DGC, Hilaris B, Roussis C et al. The role of radiation therapy (including isotopes) in the treatment of cancer of the ovary: results of 614 patients treated at Memorial Hospital, New York, NY. *Prog Clin Cancer* 1973; 5:227.

Clement PB, Scully RE. Extrauterine mesodermal (müllerian) adenosarcoma. A clinicopathologic analysis of five cases. *Am J Clin Pathol* 1978; 69:276-283.

Clement PB. Histology of the ovary. Am J Surg Pathol 1987; 11:277-303.

Colgan TJ, Norris HJ. Ovarian epithelial tumors of low malignant potential. A review. Int J Gynecol Pathol 1983; I: 367-82.

Compton HL, Finck FM. Serous adenofibroma and cystadenofibroma of the ovary. Obstet Gynecol 1970; 36:636-45.

Cramer DW, Hutchinson GB, Welch WR, Scully RF, Knapp Rc. Factors affecting the association of oral contraceptives and ovarian cancer. N Engl J Med 1982; 307:1047-51.

Czernobilsky B, Silverman BB, Enterline HT. Clear cell carcinoma of the ovary. A clinicopathologic analysis of pure and mixed forms and comparison with endometrioid carcinoma. Cancer 1970; 25:762-72.

Czernobilsky B. Endometrioid neoplasia of the ovary. A reappraisal. Int J Gynecol Pathol 1982; I:203-10.

Czernobilsky B, Dgani R, Roth LM. Ovarian mucinous cystadenocarcinoma with mural nodule of carcinomatous derivation. A light and electron microscopic study. Cancer 1983; 51:141-48.

Darbre PD, King RJB. Progression to steroid insensitivity can occur irrespective of the presence of functional steroid receptors. Cell 1987; 51:521-8.

Decker DG, Webb WJ, and Holbrook MA. Radiogold treatment of epithelial cancer of the ovary: late results. *Am J Obstet Gynecol* 1973; 115:751.

Dehner LP, Norris HJ, Taylor HB. Carcinosarcomas and mixed mesodermal tumors of the ovary. *Cancer* 1971; 27:207-16.

Dembo AJ. Radiotherapeutic management of ovarian cancer *Semin Oncol* 1984; 11:238-50.

Demopoulos RI, Bigelow B, Blaustein A, et al. Characterization and survival of patients with serous cystadenocarcinoma of the ovaries. *Obstet Gynecol* 1984; 64:557-63.

DeSombre ER, Mohla S and Jensen EV. Receptor transformation, the key to estrogen action. *J Steroid Biochem* 1975; 6:469-473.

DeSombre ER, Greene GL and Jensen EV. Estrogen receptors and the hormone dependence of breast cancer. In: *Breast cancer: New concepts in etiology and control*. MJ Brennan, CM McGrath and MA Rich. 1980. Eds. N. Y.: Academic Press, Inc.; 69-87.

Devessa SS, Silverman DT, Young JL, et al. Cancer incidence and mortality trends among whites in the United States, 1947-84. *JNCI* 1987; 79:701-45.

Dictor M. Ovarian malignant mixed mesodermal tumor. The occurrence of hyaline droplets containing alpha-1-antitrypsin. Hum Pathol 1982; 13:930-33.

Dictor M. Malignant mixed mesodermal tumor of the o-vary. A report of 22 cases. Obstet Gynecol 1985; 65:720-24.

Ehrlich CE, Young PM, Cleary RE. Cytoplasmic progesterone and estradiol receptors in normal, hyperplastic and carcinomatous endometria: Therapeutic implications. Am J Obstet Gynecol 1981; 141: 539.

Eifel P, Hendrickson M, Ross J, et al. Simultaneous presentation of carcinoma involving the ovary and the uterine corpus. Cancer 1982; 50:163-70.

Feherty P, Robertson DM, Waynforth HB and Kellie AE. Changes in the concentration of high-affinity oestradiol receptors in rat uterine supernatant preparations during the oestrus cycle, pseudopregnancy, pregnancy, maturation and after ovariectomy. Biochem J 1970; 120:837-44.

Feil PD, Glasser SR, Toft FQ and O'Malley BW. Progesterone binding in the mouse and rat uterus. Endocrinology 1972; 91:738-46.

Feitcher GE, Kuhn W, Czernobilsky B, et al. DNA flow cytometry of ovarian tumors with correlation to histopathology. *Int J Gynecol Pathol* 1985; 4:336-45.

Fenoglio CM, Ferenczy A, Richart RM. Mucinous tumors of the ovary. Ultrastructural studies of mucinous cystadenomas with histogenic considerations. *Cancer* 1975; 36:1709-22.

Fenoglio CM. Ultrastructural features of the common epithelial tumors of the ovary. *Ultrastruct Pathol* 1980; I:419-444.

Ferguson AM, Fox H. A study of the Ca antigen in epithelial tumours of the ovary. *J Clin Pathol* 1984; 37:6-9.

Fisher B, Redmond C, Brown A. Influence of tumor estrogen and progesterone receptor levels on the response to tamoxifen and chemotherapy in primary breast cancer. *J Clin Oncol* 1983; 1:227-41.

Ford LC, Berek JS, Lagasse LD, et al. Estrogen and progesterone receptors in ovarian neoplasms. *Gynecol Oncol* 1983; 15:299-304.

Freedman RS, Saul PB, Edwards Cl et al. Ethinyl estradiol and medroxy-progesterone acetate in patients with epithelial ovarian cancer. A phase II study. *Cancer Treat Rep* 1986; 70:-369-373.

Friedlander M, Foo MS, Quinn M, et al. Relationship of steroid receptors and tumor ploidy in epithelial ovarian cancer (Abstract). Proc Annu Meet Am Assoc Cancer Res 1985; 26:27.

Galli MC, De Giovanni C, Nicoltti G, et al. The occurrence of multiple steroid hormone receptors in disease-free and neoplastic human ovary. Cancer 1981; 47:1297-302.

Ganjei P, Nadji M, Penneys NS, Averette HE, Morales AR. Immunoreactive prekeratin in Brenner tumors of the ovary. Int J Gynecol Pathol 1983; 1:353-58.

Godefroi VE and Brooks SC. Improved gel-filtration method for analysis of estrogen receptor binding. Anal Biochem 1973; 51:335-44.

Gordner DG and Wittliff JL. Specific estrogen receptors in the lactating mammary gland of the rat. Biochemistry 1973; 12:3090-6.

Gorski J, Toff D, Shyamala G, Smith D, Notides A. Hormone receptors: studies on the interaction of estrogen with the uterus. Recent Prog Horm Res 1968; 24:45.

Greene GL, Closs LE, DeSombre ER and Jensen EV. Antibodies to estrophilin: comparison between rabbit and goat antisera. J Steroid Biochem 1979; 11:333-41.

Greene MH, Clark JW, Blayney DW. The epidemiology of ovarian cancer. *Semin Oncol* 1984; 11:209-226.

Greene GL, Sobel NB, King WJ and Jensen EV. Immunochemical studies of estrogen receptors. *J Steroid Biochem* 1984; 20:51-56.

Hahnel R, Kelsall GRh, Martin JD, et al. Estrogen and progesterone receptors in tumors of the human ovary. *Gynecol Oncol* 1982; 13:145-51.

Hallgrimson J, Scully RE. Borderline and malignant Brenner tumours of the ovary. A report of 15 cases. *Acta Pathol Microbiol Scand* 1972; 233 (Suppl):56-66.

Hamilton TC, Davies P, Griffiths K. Androgen and oestrogen binding in cytosols of human ovarian tumours. *J Endocrinol* 1981; 90:421-31.

Harding M, Cowan S, Hole D, et al. Estrogen and progesterone receptors in ovarian cancer. *Cancer* 1990; 65:486-490.

Heintz APM, Hacker NF, Lagasse LD. Epidemiology and etiology of ovarian cancer: a review. *Obstet Gynecol* 1985; 66:127-35.

Helewa ME, Krepart GV, Lotocki R. Staging laparotomy in early epithelial ovarian carcinoma. *Am J Obstet Gynecol* 1986; 154:282-86.

Heubner A, Beck T, Grill HJ and Pollow K. Comparison of immunocytochemical estrogen receptor assay, estrogen receptor enzyme immunoassay, and radioligand-labeled estrogen receptor assay in human breast cancer and uterine tissue. *Cancer Res* 1986; 46:4291-5.

Hildreth NG, Kelsey JL, LiVolsi VA, et al. An epidemiologic study of epithelial carcinoma of the ovary. *Am J Epidemiol* 1981; 114:398-405.

Holt JA, Caputo TA, Kelly KM, Greenwald P, Chorost S. Estrogen and progesterone binding in cytosols of ovarian adenocarcinomas. *Obstet Gynecol* 1979; 53:50-8.

Holt JA, Lyttle CR, Lorinca MA, et al. Estrogen receptor and peroxidase activity in epithelial ovarian carcinomas. *J Natl Cancer Inst* 1981; 67:307-318.

Hoover R, Gray LA, Fraumeni JF. Stilbestrol and the risk of ovarian cancer. *Lancet* 1977, 88:533-4.

Horwitz KB, Mc Guire WL, Pearson OH, et al. Predicting response to endocrine therapy in human breast cancer; a hypothesis. *Science* 1975; 189:726.

Hsueh AJW, Peck EJ and Clark JH. Progesterone antagonism of the estrogen receptor and estrogen induced uterine growth. *Nature* 1976; 254:337-9.

Hunter RE, Longcope C and Jordan VC. Steroid hormone receptors in adenocarcinoma of the endometrium. *Gynecol Oncol* 1980; 10:152-61.

Isola J, Kallioniemi OP, Korte JM, et al. Steroid receptors and Ki-67 reactivity in ovarian cancer and in normal ovary: correlation with DNA flow cytometry, biochemical receptor assay, and patient survival. *J Pathol* 1990; 162:295-301.

Iversen OE, Skaarland E, Utaaker E. Steroid receptor content in human ovarian tumors: Survival of patients with ovarian carcinoma related to steroid receptor content. *Gynecol Oncol* 1986; 23:65-76.

Jabara AB. Induction of canine ovarian tumours by diethylstilbestrol and progesterone. *Aust J Exp Biol Med Sci* 1962; 40:139-43.

Jensen EV, Suzuki T, Kawashima T et al. A two-step mechanism for interaction of estradiol with rat uterus. *Proc Natl Acad Sci USA* 1968; 59:632.

Jensen EV, Brecher PK, Numata M, Smith S and DeSombre ER. Estrogen interaction with target tissues: two-step transfer of

receptor to the nucleus. *Methods in enzymology*. 1975. Vol XXXVI. Ed BW O'Malley. New York, Academic Press, Inc.

Jensen EV, Smith S, DeSombre ER. Hormone dependency in breast cancer. *J Steroid Biochem* 1976; 7:911.

Kabawat SE, Bast RC Jr, Welch WR, Knapp RC, Bhan AK. Expression of major histocompatibility antigens and nature of inflammatory cellular infiltrate in ovarian neoplasms. *Int J Cancer* 1983; 32:547-54.

Kallioniemi OP, Punnonen R, Mattila J, Lehtinen M, Koivula T. Prognostic significance of DNA index, multiploidy and S-phase fraction in ovarian cancer. *Cancer* 1988; 61:334-9.

Kaupila A, Vierikko P, Kivinen S, et al. Clinical significance of estrogen and progesterin receptors in ovarian cancer. *Obstet Gynecol* 1983; 61:320-6.

Kawaoui A, Uchida T, Okano T, Matsumoto K, Shikata T. Immunocytochemical localization of progesterone in the mouse adrenocortical adenoma cells. *Acta Histochem Cytochem* 1978; 11:1-12.

Kerr VE, Cadman E. Pulmonary metastases in ovarian cancer. Analysis of 357 patients. *Cancer* 1985; 56: 1209-13.

King WJ and Greene GL. Monoclonal antibodies localize receptor in the nuclei of target cells. Nature 1984; 110:-258.

Klemi PJ, Meurman L, Gronroos M, Talerman A. Clear cell (mesonephroid) tumors of the ovary with characteristics resembling endodermal sinus tumor. Int J Gynecol Pathol 1982; 1:95-100.

Knight WA, Livingston RB, Gregory EJ, et al. Estrogen receptor as an independent prognostic factor for early recurrence in breast cancer. Cancer Res 1977; 37:4669.

Koelma IA, Nap M, Rodenburg GJ, Fleuren GJ. The value of tumour marker CA 125 in surgical pathology. Histopathology 1987; 11:287-94.

Kon OL and Spelsberg TC. Nuclear binding of estrogen-receptor complex: receptor-specific nuclear acceptor sites. Endocrinology 1982; 111:1925-35.

Kuhnel R, Delemarre JFM, Rao BR, Stolk JG. Correlation of multiple steroid receptors with histological type and grade in human ovarian cancer. Int J Gynecol Pathol 1987; 6:248-56.

Leclercq G, Bojar H, Goussard J, et al. Abbott monoclonal enzyme immunoassay measurement of estrogen receptors in human breast cancer: a european multicenter study. Cancer Res 1986; 46:4233-6.



Lee SH. Cytochemical study of estrogen receptor in human mammary cancer. *Am J Clin Pathol* 1978; 70:197-203.

Lee SH. Cellular estrogen and progesterone receptors in mammary carcinoma. *Am J Clin Pathol* 1980; 73:323-9.

Lessey BA, Alexander S and Horwitz KB. The subunit structure of human breast cancer progesterone receptors: characterization by chromatography and photoaffinity labeling. *Endocrinology* 1983; 112:1267-73.

Leung BS. Hormonal dependency of experimental breast cancer. In: *Hormones, receptors, and breast cancer*. 1978. Ed. WL McGuire; New York, Raven Press.

Lippman ME, Osborn CK, Knazek R, et al. In vitro model systems for the study of hormone-dependent human breast cancer. *N Engl J Med* 1977; 296:154.

Little M, Szendro P, Teran C, Hughes A and Jungblut PW. Biosynthesis and transformation of microsomal and cytosol estradiol receptors. *J Steroid Biochem* 1975; 6:493-500.

Long ME, Taylor HC Fr. Endometrioid carcinoma of the ovary. *Am J Obstet Gynecol* 1964; 90:936-50.

Lothar Sach. *Estadística Aplicada*. Ed Labor. 1982, Madrid.

Luciani L, Oriana S, Spatti G, et al. Hormonal and receptor status in postmenopausal women with endometrial carcinoma before and after treatment with tamoxifen. *Tumori* 1984; 70:189-92.

Malkasian GD, Melton LJ, O'Brien PC, Greene MH. Prognostic significance of histologic classification and grading of epithelial malignancies of the ovary. *Am J Obstet Gynecol* 1984; 149:274-84.

Mangioni C, Franceschi S, La Vecchia C; D Incalci M. High dose medroxy-progesterone acetate (MPA) in advanced epithelial ovarian cancer resistant to first-or second-line chemotherapy. *Gynecol Oncol* 1981; 12:314-18.

Markaverich B and Clark JH. Two binding sites for estradiol in rat uterine nuclei: relationship to uterotrophic response. *Endocrinology* 1979; 105:1458-62.

Masood S, Heitman J, Nuss RC, Benrubi GI. Clinical correlation of hormone receptor status in epithelial ovarian cancer. *Gynecol Oncol* 1989; 34,1:57-60.

McCarty KS Jr and McCarty KS Sr. Steroid hormone receptors in the regulation of differentiation. A review. *Am J Pathol* 1977; 86:705-744.

McCarty KS Jr, Woodard BH, Nichols DE, Wilkinson W, McCarty KS Sr. Comparison of biochemical and histochemical techniques for estrogen receptor analysis in mammary carcinoma. *Cancer* 1980; 46:2842-5.

McGowan L, Parent L, Lednar W, Norris HJ. The woman at risk for developing ovarian cancer. *Gynecol Oncol* 1979; 7:325-44.

McGuire WL, Horwitz KB, Zava DT, Garola RE and Chamness Gc. Hormones in breast cancer: update 1978. *Metabolism* 1978; 27:487-501.

Means AR, Woo SLC, Harris SE and O'Malley B. Estrogen induction of ovalbumin mRNA: evidence for transcription control. *Mol Cell Biochem* 1975; 7:33-45.

Mercer WD, Edwards DP, Chamness GC and McGuire WL. Failure estradiol immunofluorescence in MCF-7 breast cancer cells to detect estrogen receptors. *Cancer Research* 1981; 41:4644-52.

Michael H, Sutton G, Roth LM. Ovarian carcinoma with extracellular mucin production. Reassessment of "pseudomyxoma ovarii of peritonei". *Int J Gynecol Pathol* 1987; 6:298-312.

Miles PA, Norris HJ. Proliferative and malignant Brenner tumors of the ovary. *Cancer* 1972; 30:175-86.

Miller DS, Ballon SC, Teng NNH, Seifer DB, Soriero OM. A critical reassessment of second-look laparotomy in epithelial ovarian carcinoma. *Cancer* 1986; 57:530-5.

Mohaber J, Buckley CH, Fox H. An immunohistochemical study of the incidence and significance of human chorionic gonadotrophin synthesis by epithelial ovarian neoplasms, *Gynecol Oncol* 1983; 16:78-84.

Morrow CP, d'Ablaing G, Brady LW, Blessing JA, Hreshchychyn MM. A clinical and pathologic study of 30 cases of malignant mixed müllerian epithelial and mesenchymal ovarian tumors. A gynecologic oncology group study. *Gynecol Oncol* 1984; 18:278-92.

Mostoufizadeh M, Scully RE. Malignant tumors arising in endometriosis. *Clin Obstet Gynecol* 1980; 23:951-63.

Müller RE, Traish AM and Wotiz HH. Interaction of receptor-estrogen complex with uterine nuclei. *J Biol Chem* 1977; 252:8206-11.

Norris HJ, Robinowitz M. Ovarian adenocarcinoma of mesonephric type. *Cancer* 1971; 28:1074-81.

O'Connell MD, McDonnell L and Duffy MJ. Studies on nuclear estradiol receptors in human mammary carcinomas. *Clin Chim Acta* 1982; 119:285-8.

O'Malley BW, Schwartz RJ and Schrader WT. A review of regulation of gene expression by steroid hormone receptors. *J Steroid Biochem* 1976; 7:1151-9.

O'Malley BW, Vedeckis WV, Birnbaumer ME and Schrader WT. Steroid hormone action: the role of receptors in regulating gene expression. In: *Molecular endocrinology* 1977; Ed. MacIntyre and Szelke. Elsevier/North-Holland Biomedical Press.

Osborne CK, Von Hoft DD, Mullins K. Endocrine therapy testing of human breast cancers in the soft agar clonogenic assay. *Breast Cancer Res Treat* 1985; 6:229-35.

Panko WB, Watson CI and Clark JH. The presence of a second specific estrogen binding site in human breast cancer. *J Steroid Biochem* 1981; 14:1311-6.

Pertschuk LP, Gaetjens E, Carter AC, et al. An improved histochemical method of detection of estrogen receptors in mammary cancer. Comparison with biochemical assay. *Am J Clin Pathol* 1979; 71:504-8.

Pertschuk LP, Tobin EH, Gaetjens E, Carter A. Histochemical assay of estrogen and progesterone receptors in breast cancer: correlation with biochemical assays and patients' response to endocrine therapies. *Cancer* 1980; 46: 2896-901.

Pertschuk LP, Eisenberg KB, Carter AC, and Feldman JG. Immunohistologic localization of estrogen receptors in breast cancer with monoclonal antibodies. Correlation with biochemistry and clinical endocrine response. *Cancer* 1985; 55, 1513-8.

Press MF, Holt JA, Herbst AL and Greene GL. Immunocytochemical identification of estrogen receptor in ovarian carcinomas. Localization with monoclonal estrophilin antibodies compared with biochemical assays. *Lab Invest* 1985; 53,3:349-61.

Pousette A, Gustafsson SA, Thörnblad AM, et al. Quantitation of estrogen receptor in seventy-five specimens of breast cancer: comparison between an immunoassay (Abbott ER-ICA monoclonal) and a polyacrylamide gel. *Cancer Res* 1986; 46:4308-9.

Quinn MA, Pearce P, Rome R et al. Cytoplasmic steroid receptors in ovarian tumours. *Br J Obstet Gynaecol* 1982; 89:-754-9.

Quinn MA, Pearce P, Fortune DW, et al. Correlation between cytoplasmic steroid receptors and tumour differentiation and invasion in endometrial carcinoma. *Br J Obstet Gynaecol* 1985; 92:399-406.

Raam S, Nemeth E, Tamura H, O'Brian DS and Cohen JL. Immunohistochemical localization of estrogen receptor in human

mammary carcinoma using antibodies to the receptor protein. *Eur J Cancer Clin Oncol* 1982; 18:1-12.

Rendina GM, Donado C, Giovannini M. Steroid receptors and progestinic therapy in ovarian endometrioid carcinoma. *Eur J Gynaecol Oncol* 1982; 3:241-6.

Reyes FI, Winter JSD, Faiman C. Pituitary-ovarian relationships preceding the menopause. I. A cross-sectional study of serum follicle stimulating hormone, luteinizing hormone, prolactin, and progesterone levels. *Am J Obstet Gynecol* 1977; 129: 557-64.

Richman CM, Holt JA, Lorincz MA, Herbst AL. Persistence and distribution of estrogen receptor in advanced epithelial ovarian carcinoma after chemotherapy. *Obstet Gynecol* 1985; 65:-257-63.

Robboy SJ. Insular carcinoid of ovary associated with malignant mucinous tumors. *Cancer* 1984; 54:2273-6.

Rose PG, Reale FR, Longcope C and Hunter RE. Prognostic significance of estrogen and progesterone receptors in epithelial ovarian cancer. *Obstet Gynecol* 1990; 76,2:258-63.

Roth LM, Czernobilsky B, Langley FA. Ovarian endometrioid adenofibromatous and cystadenofibromatous tumors. Benign, proliferating, and malignant. *Cancer* 1981; 48:1838-45.

Roth LM, Langley FA, Fox H, Wheeler JE, Czernobilsky B. Ovarian clear cell adenofibromatous tumors. Benign, of low malignant potential, and associated with invasive clear cell carcinoma. *Cancer* 1984; 53:1156-63.

Roth LM, Dallenbach-Hellweg G, Czernobilsky B. Ovarian Breener tumors. I. Metaplastic, proliferating, and of low malignant potential. *Cancer* 1985; 56:582-91.

Russell P. Common epithelial tumours of the ovary: a new look. *Pathology* 1985; 17:555-7.

Sartwell PE, Arthes FG, Tonascia JA. Exogenous hormones, reproductive history and breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 1977; 59:1589-92.

Schiller W. Mesonephroma ovarii. *Am J Cancer* 1939; 35:1-21.

Schwartz PE, LiVolsi VA, Hildreth N et al. Estrogen receptors in ovarian epithelial carcinoma. *Obstet Gynecol* 1982; 59:229-38.

Schwartz PE, Merino MJ, LiVolsi VA et al. Histopathologic correlations of estrogen and progestin receptor protein in epithelial ovarian carcinoma. *Obstet Gynecol* 1985; 66:428-33.

Scully RE, Barlow JF. Mesonephroma of the ovary. Tumor of müllerian nature related to the endometrioid carcinoma. *Cancer* 1967; 20:1405-17.

Seldenrijk CA, Willig AP, Baad JPA et al. Malignant Bren-
ner tumor. A histologic, morphometrical, immunohistochemical
and ultrastructural study. *Cancer* 1986; 58:754-60.

Shevchuck MM, Fenoglio CM, Richart RM. Histogenesis of
Brenner tumors. II. Histochemistry and CEA. *Cancer* 1980;
46:2607-16.

Shimada A, Kimura S, Abe K, et al. Immunocytochemical
staining of estrogen receptor in paraffin sections of human
breast cancer by use of monoclonal antibody: comparison with
that in frozen sections. *Proc Natl Acad Sci USA* 1985; 82:4803-
7.

Shirey DR, Kavanagh JJ Jr, Gershenson DM, et al. Tamoxifen
therapy of epithelial ovarian cancer. *Obstet Gynecol* 1985;
66:575-8.

Silverberg SG. Brenner tumor of the ovary. A clinicopat-
hologic study of 60 tumors in 54 women. *Cancer* 1971; 28:588-96.

Silverberg E, and Holleb A. In: *Cancer statistics, 1974-
worldwide epidemiology*. CA, 1974, 24:2.

Slotman BJ, Kuhnel R, Rao BR et al. Importance of steroid receptors and aromatase activity in the prognosis of ovarian cancer: High tumor progesterone receptor levels correlate with longer survival. *Gynecol Oncol* 1989; 33:76-81.

Sorbe B, Frankendal BO, Veress B. Importance of histologic grading in the prognosis of epithelial ovarian carcinoma. *Obstet Gynecol* 1982; 59:576-82.

Spona J, Gitsch E, Kubista E, Salzer H, and Köhler B. Enzyme immunoassay and Scatchard plot estimation of estrogen receptor in Gynecological Tumors. *Cancer Res* 1986; 46s:4310-2.

Steggles AW and King RJB. The use of protamine to study (6-7- H^3) oestradiol-17B binding in rat uterus. *Biochem J* 1970; 118:695-705.

Sutton GP, Senior MB, Strauss JF, Mikuta JJ. Estrogen and progesterone receptors in epithelial ovarian malignancies. *Gynecol Oncol* 1986; 23,2:176-82.

Tobin EH, Pertschuk LP, Tanapat P, et al. Histochemical detection of estrogen receptors using coumenstrol as a fluorescent probe. *Fed Proc* 1980; 39:550.

Toft D and Gorski J. A receptor molecule for estrogens: isolaton from the rat uterus and preliminary characterization. *Proc Natl Acad Sci USA* 1966; 55:1574-81.

Toppila M, Tyler JPP, Fay R, et al. Steroid receptors in human ovarian malignancy. A review of four years tissue collection. *Br J Obstet Gynaecol* 1986; 93:986-92.

Ueda G, Yamasaki M, Inoue M. Immunohistochemical study of amylase in common epithelial tumors of the ovary. *Int J Gynecol Pathol* 1985; 4:204-44.

Vihko R, Isotato H, Kauppila A, Vierikko P. Female sex steroid receptors in gynecological malignancies: clinical correlates. *J Steroid Biochem* 1983; 19:827-32.

Wagner RK and Jungblut PW. Estradiol and dihydrotestosterone receptors in normal and neoplastic mammary tissue. *Acta Endocrinol* 1976; 82:105-20.

Westphal U. Steroid-protein interactions. Monographs on endocrinology 1971; vol 4, New York; Springer Verlag.

White PF, Merino MJ, Barwick KW. Serous surface papillary carcinoma of the ovary. A clinical, pathologic, ultrastructural, and immunohistochemical study of 11 cases. *Pathol Ann* 1985; 20 (Pt 1):403-18.

Willcocks D, Toppila M, Hudson CN, Tyler JPP, et al: Estrogen and progesterone receptors in human ovarian tumours. *Gynecol Oncol* 1983, 16: 246-253.

Wittliff JL, Lewko WM, Park DC, et al. Steroid binding proteins of mammary tissues and their clinical significance in breast cancer. In: Hormones, receptors and breast cancer. 1978. Ed WL McGuire. New York: Raven Press.

Wittliff JL. Steroid-homone receptors in breast cancer. Cancer 1984; 53:630-43.

Yoshimura S, Scully RE, Taft PD, Herrington JB. Peritoneal fluid cytology in patients with ovarian cancer. Gynecol Oncol 1984; 17:161-7.

Young RC, Knapp RC, Fuks Z, DiSaia PJ. Cancer of the ovary. In: DeVita VT Jr, Hellman S, Rosenberg SA, eds. Cancer, principles and practice of oncology. 2nd ed. Philadelphia: JP Lippincott, 1985:1083-117.

Young RC. Initial therapy for early ovarian carcinoma. Cancer 1987; 60:2042-9.

Zaino RJ, Unger ER, Whitney C. Synchronous carcinomas of the uterine corpus and ovary. Gynecol Oncol 1984; 19:329-35.

Zava DT, Harrington NY and McGuire WL. Nuclear estradiol receptor in the adult rat uterus: a new exchange assay. Biochemistry 1976; 15:4292-7.

VIII. ICONOGRAFIA

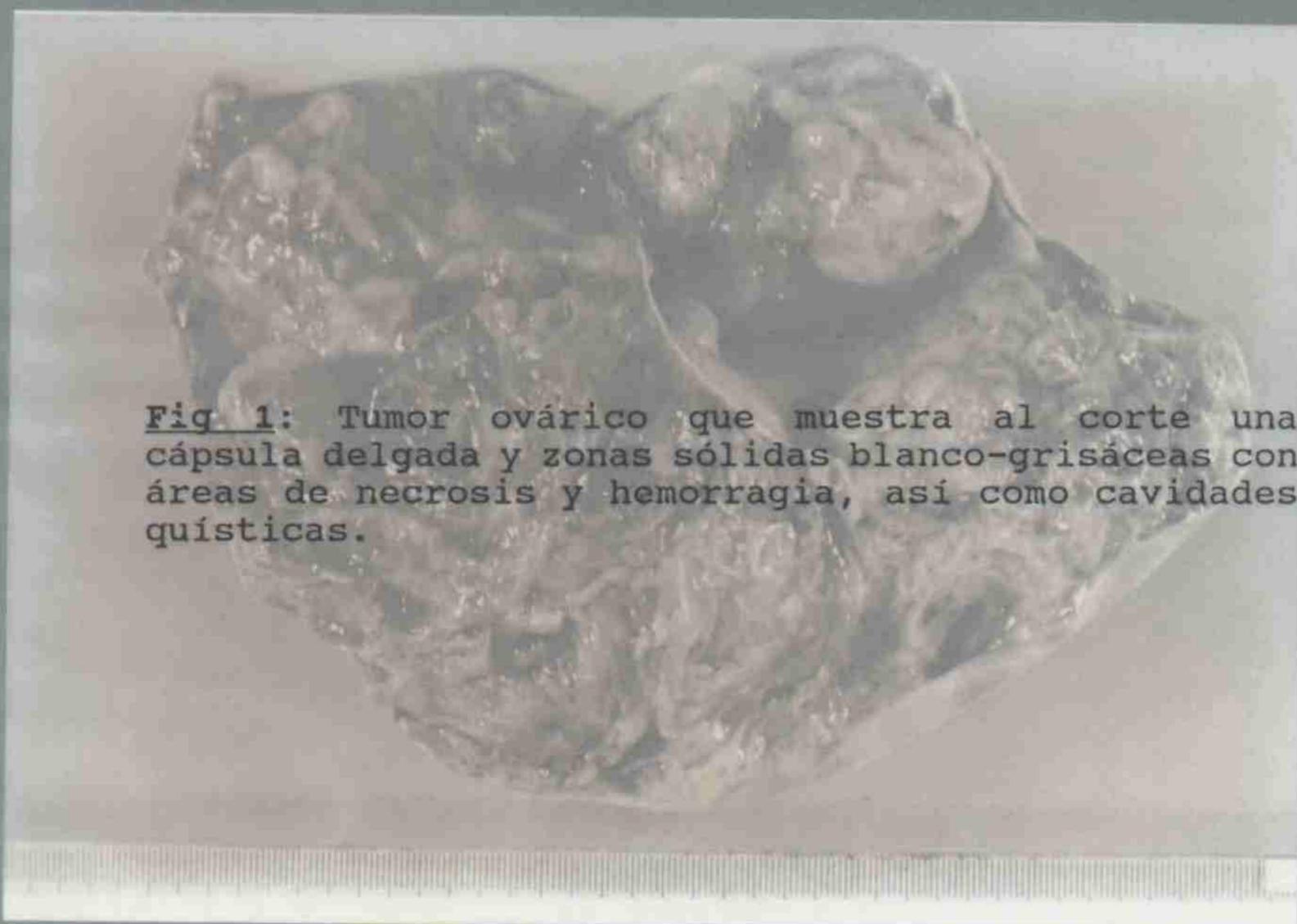


Fig 1: Tumor ovárico que muestra al corte una cápsula delgada y zonas sólidas blanco-grisáceas con áreas de necrosis y hemorragia, así como cavidades quísticas.

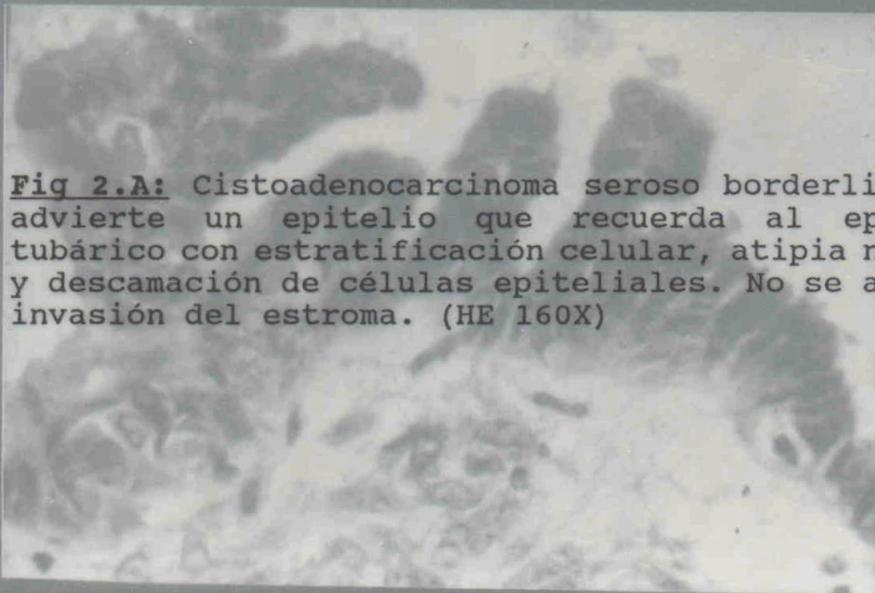


Fig 2.A: Cistoadenocarcinoma seroso borderline: se advierte un epitelio que recuerda al epitelio tubárico con estratificación celular, atipia nuclear y descamación de células epiteliales. No se aprecia invasión del estroma. (HE 160X)

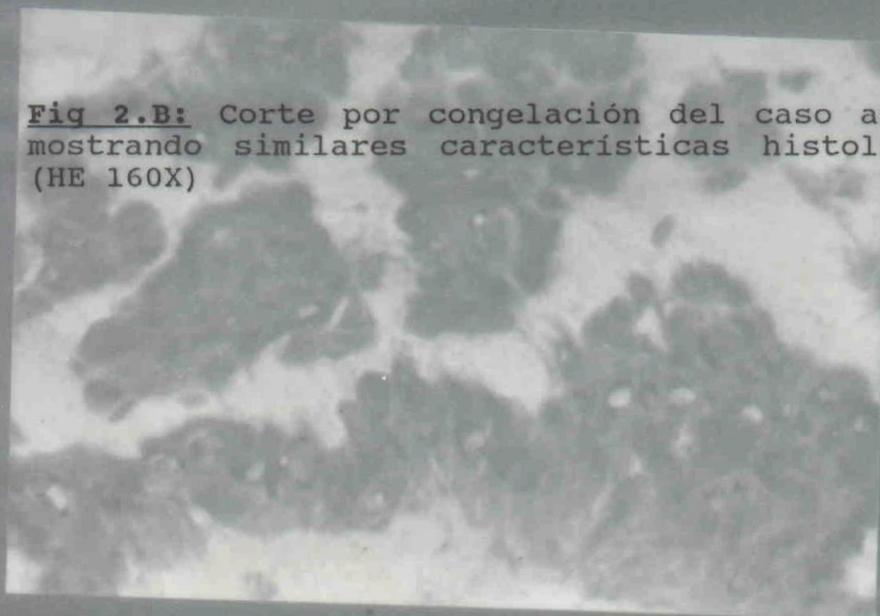


Fig 2.B: Corte por congelación del caso anterior mostrando similares características histológicas. (HE 160X)

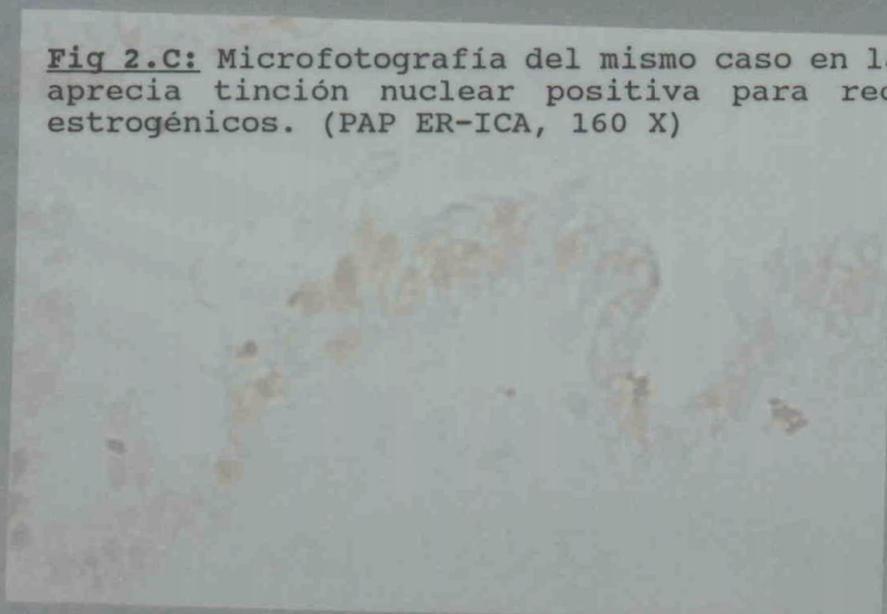


Fig 2.C: Microfotografía del mismo caso en la que se aprecia tinción nuclear positiva para receptores estrogénicos. (PAP ER-ICA, 160 X)

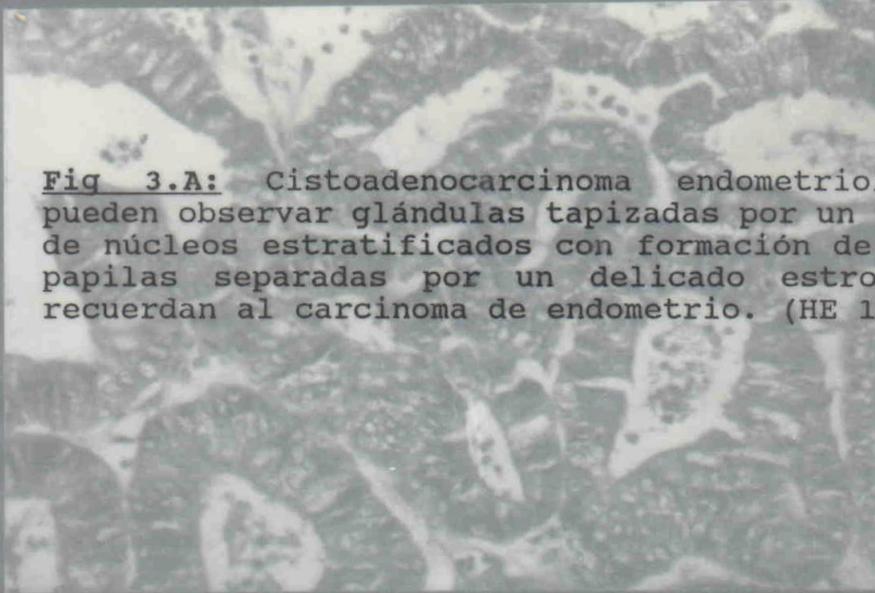


Fig 3.A: Cistoadenocarcinoma endometriode: se pueden observar glándulas tapizadas por un epitelio de núcleos estratificados con formación de algunas papilas separadas por un delicado estroma, que recuerdan al carcinoma de endometrio. (HE 160X)

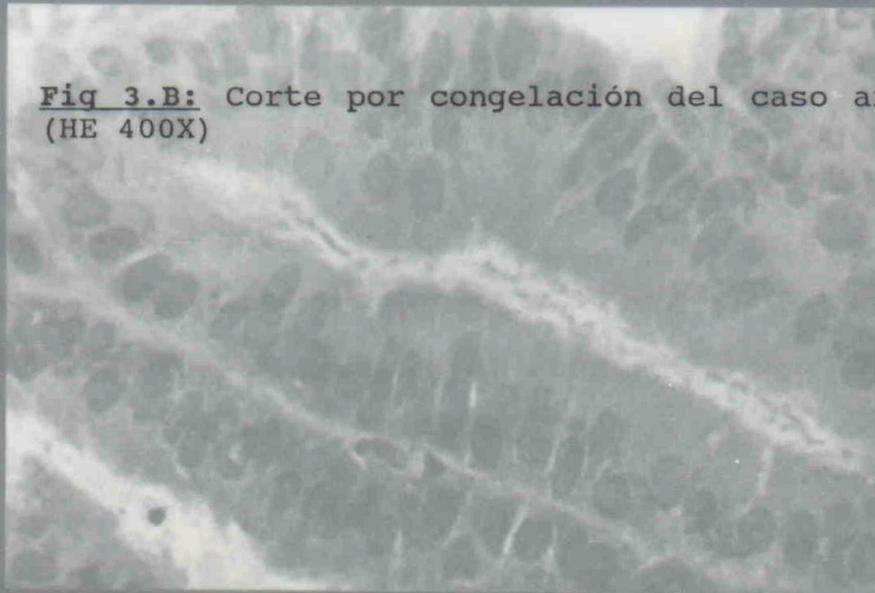


Fig 3.B: Corte por congelación del caso anterior. (HE 400X)

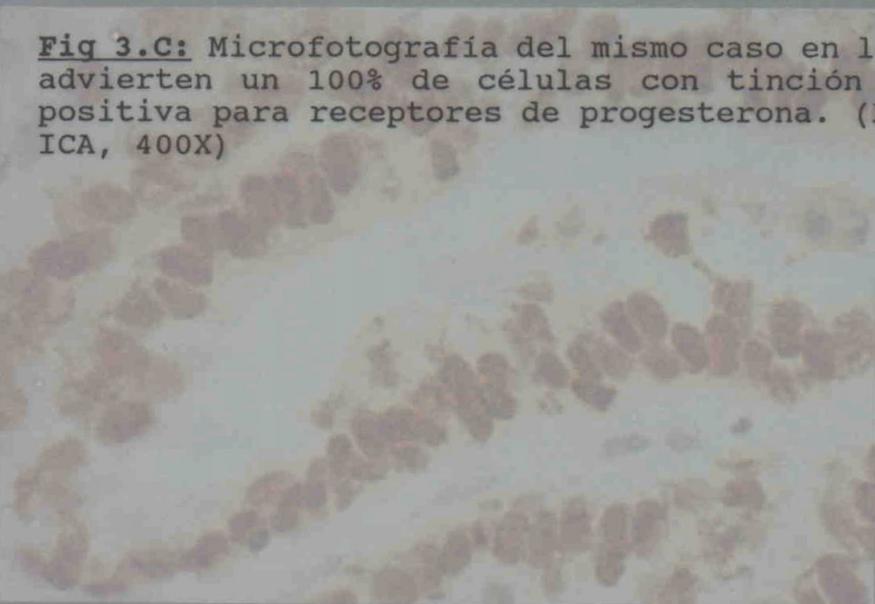


Fig 3.C: Microfotografía del mismo caso en la que se advierten un 100% de células con tinción nuclear positiva para receptores de progesterona. (PAP PgR-ICA, 400X)

Fig 4: Microfotografía en la que se aprecia un epitelio estratificado con diferenciación mucosecretora, con atipia nuclear y abundantes mitosis correspondiente a un adenocarcinoma mucinoso. (HE 160X)

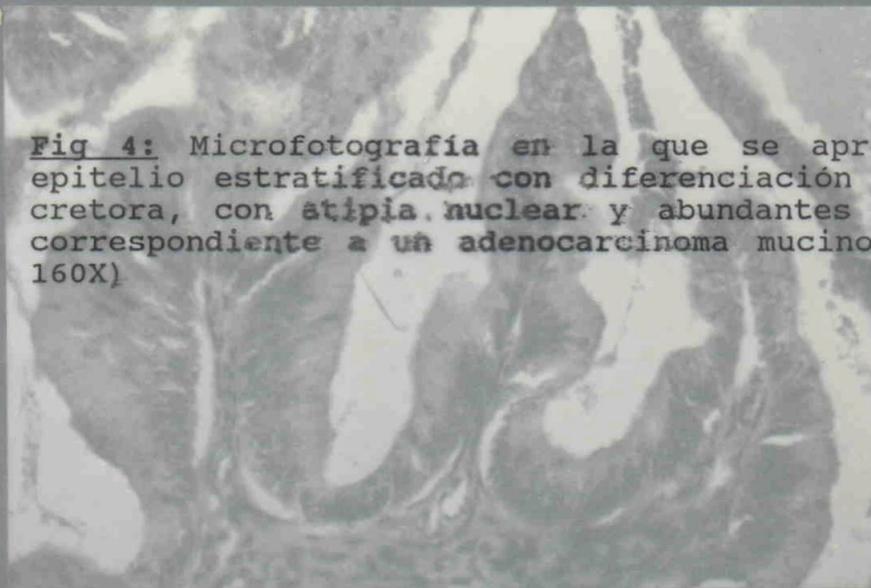


Fig 5: Tumor de Brenner maligno: se pueden advertir nidos de células poligonales con citoplasma claro y núcleos de nucleolos prominentes con actividad mitótica; dichas células recuerdan al epitelio transicional. (HE 400X)

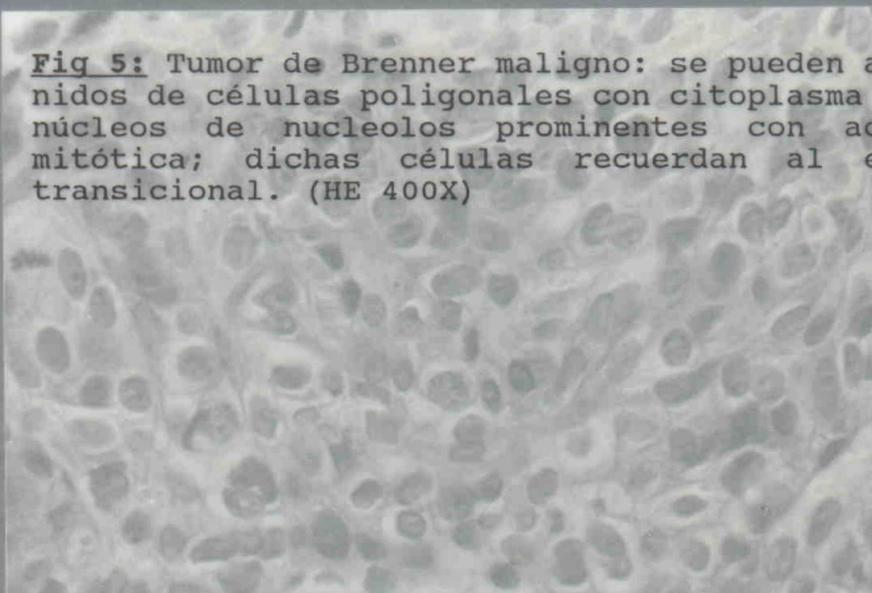
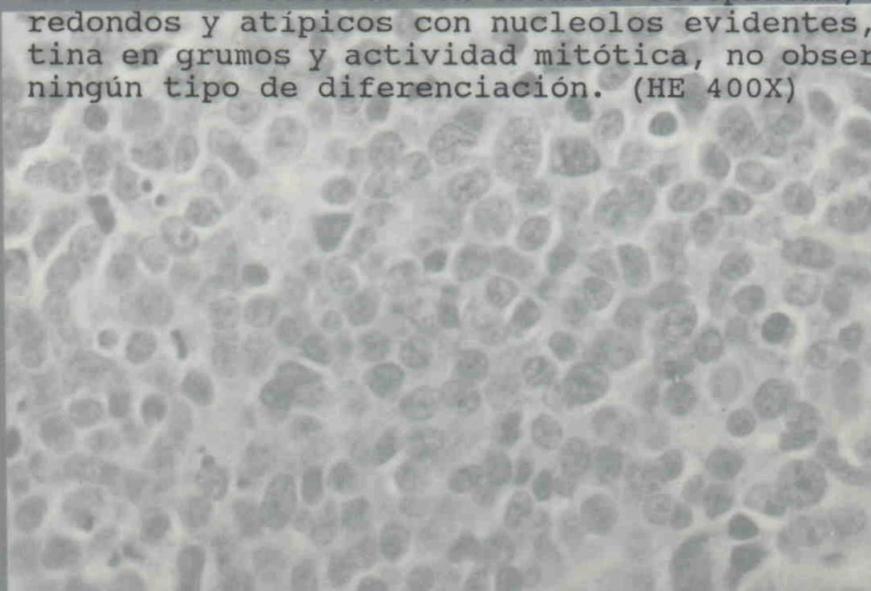


Fig 6: Carcinoma indiferenciado constituido por acúmulos de células con escasso citoplasma, núcleos redondos y atípicos con nucleolos evidentes, cromatina en grumos y actividad mitótica, no observándose ningún tipo de diferenciación. (HE 400X)



UNIVERSIDAD DE SEVILLA

Reunido el Tribunal integrado por los abajo firmantes
en el día de la fecha, para juzgar la Tesis Doctoral de
Dña M^a Luisa MARINÓ MARTÍNEZ
titulada: *Determinación de un histograma de Rayleigh
estocástico en laher ovales*

acordó otorgarle el título de *Septo "cum laude"*

Sevilla, 27 de abril de 1992

El Vocal

El Vocal

El Vocal



El Presidente

El Secretario

El Doctorado

