

R. 12.246

0

T.D.  
P/45

LOCALIZACION INMUNOHISTOQUIMICA DE LAS  
PROTEINAS ONCO-PLACENTARIAS EN  
LAS NEOPLASIAS DEL APARATO REPRODUCTOR



Tesis Doctoral presentada por  
el Licenciado D. Antonino  
Parrilla Marquez para aspirar  
al grado de: DOCTOR EN MEDICI-  
NA Y CIRUGIA.



## FACULTAD DE MEDICINA

DEPARTAMENTO DE OBSTETRICIA Y GINECOLOGIA

PROF. J. NAVARRO

SEVILLA

JOSE NAVARRO CLEMENTE, Catedrático Numerario y Jefe del Departamento de Obstetricia y Ginecología de la Facultad de Medicina de la Universidad de Sevilla.



## CERTIFICO:

Que el trabajo presentado por D. ANTONINO PARRILLA MARQUEZ, licenciado en Medicina y Cirugía, titulado "LOCALIZACION INMUNOHISTOQUIMICA DE LAS PROTEINAS ONCO-PLACENTARIAS EN LA NEOPLASIAS DEL APARATO REPRODUCTOR" para aspirar al grado de Doctor, ha sido realizado bajo la dirección conjunta de los Profesores J. NAVARRO CLEMENTE y J. L. DUEÑAS DIEZ y, en mi opinión, reúne las condiciones exigidas para ello.

Y para que así conste, y a petición del interesado, expido el presente certificado en Sevilla a siete de Octubre de 1986.



A María Jesús y a María.

AGRADECIMIENTOS.

La realización de éste trabajo ha sido posible, gracias a las ayudas y enseñanzas que de una u otra forma, he recibido con total desinterés, por numerosas personas. Todas, han contribuido a una especial sensibilización de mi espíritu, ante el cancer como enfermedad.

Unos me enseñaron el rigor de la clínica y la perseverancia en el estudio, otras, la pulcritud y desvelos aque obliga la investigación y otras en fin, el aspecto fundamentalmente humano que caracteriza a ésta enfermedad.

Todos éstos aspectos tienen especial importancia y jamás, deberemos permitir la distinción entre la ciencia "teórica" y la ciencia "práctica" en detrimento de una u otra. Para ello, me permito copiar una comparación a éste respecto de D. José Echegaray, pronunciada en 1910, con motivo de la sesión solemne de la Academia de las Ciencias:

"La ciencia pura es como la soberbia nube de oro y grana que se dilata en Occidente, entre destellos de luz y matices maravillosos: No es ilusión, es resplandor, la hermosura de la verdad. Pero una nube se eleva, el viento la arrastra sobre los campos y ya toma tintas más oscuras y más severas, es que va a la faena y cambia sus trajes de fiesta, digámoslo así, por la blusa de trabajo. Y entonces se condensa en lluvia y riega las tierras y se afana en el terruño y prepara la futura cosecha y al fin dan a los hombres el pan nuestro de cada día. Lo que empezó por hermosura para el alma y para la inteligencia, concluye por se alimento para la pobre vida corporal".

Agradezco :

- 1.- Al Prof. J. Navarro Clemente, mi maestro, cuya dirección, apoyo y estímulo, han hecho posible la realización de éste trabajo. De él aprendí, entre otras muchas cosas, que: "Para la obra científica, los medios son casi nada y el hombre lo es casi todo".
- 2.- Al Prof. J. L. Dueñas Diez, maestro y amigo, cuya independencia mental, curiosidad intelectual, y perseverancia en el trabajo, han sido pilares fundamentales para éste trabajo.
- 3.- Al Dr. H. Bohn, de la Behringwerke A. G. (R. F. A.) que nos cedió los antisueros necesarios para nuestro estudio.
- 4.- Al Prof. H. Galera y Davidson, Catedrático del Departamento de Anatomía Patológica del H. U. S., quien en todo momento, nos cedió el uso del material e infraestructura necesarios.
- 5.- Al Prof. I. Ortega Medina, cuyo espíritu universitario y experiencia, nos fué imprescindible para el estudio anatomo-patológico.
- 6.- A la Prof. I. Martín Lacave, del laboratorio de inmunohistoquímica, por sus consejos y crítica cualificada en las técnicas inmunohistoquímicas y habernos facilitado, tan amablemente, nuestro trabajo en todo momento.
- 7.- A la Prof. M<sup>a</sup> del Carmen Fernandez-Novoa, del laboratorio de Genética, por sus consejos, permanente colaboración y su imprescindible ayuda en la realización de las técnicas fotográficas.

- 8.- Al Dr.M.Codes M. de Villena,del Servicio de Oncología Médica del H.U.S.,por su desinteresada aportación de la casuística y su buen hacer clínico.
- 9.- Al Dr. J.M. Silvan Alfaro,compañero y amigo,que me ayudó en los trabajos de laboratorio.
- 10.- A la Srta. Loli Jimenez,auxiliar del laboratorio de Inmunohistoquímica,por su extraordinaria disposición y ayuda desinteresada.
- 11.- A Manuela y a todo el personal de los laboratorios de Inmunohistoquímica y Genética,cuyo compañerismo y gentileza,hicieron que nuestra estancia en el laboratorio,fuera grata e inolvidable.
- 12.- A mis padres,por haberme inculcado la honradez,el trabajo y el respeto por todas las personas y las cosas.
- 13.- A María Jesús y a María,por haber sabido soportar abnegadamente tanta soledad y restricciones en tan difíciles circunstancias y por haberme animado continuamente a realizar éste trabajo.

A todos,muchas gracias.

INDICE.

I.- INTRODUCCION.-	1
1.1. Importancia clínica de las neoplasias del aparato reproductor.	2
1.1.1. Frecuencia.	3
1.1.2. Mortalidad.	21
1.1.3. Clasificación.	31
1.1.4. Diagnóstico precoz de los tumores del aparato reproductor.	46
1.1.5. Métodos bioquímicos e inmunológicos en el diagnóstico y seguimiento de las neoplasias del aparato reproductor.	55
1.2. Proteínas placentarias.	64
1.2.1. Referencia histórica.	64
1.2.2. Clasificación.	65
1.2.2.1. Proteínas de la gestación.	66
1.2.2.2. Proteínas solubles de la placenta.	68
1.2.2.3. Proteínas placentarias solubilizadas.	69
1.2.3. Estructura y propiedades físico-químicas.	69
1.2.4. Lugar de producción.	75
1.2.5. Las proteínas placentarias durante la gestación.	78
1.2.5.1. Niveles plasmáticos.	79
1.2.5.2. Funciones.	81
1.2.5.3. Significación clínica.	83

1.2.6. Las proteínas onco-placentarias como marcadores tumorales.	87
1.2.6.1. Niveles plasmáticos en sujetos normales.	88
1.2.6.2. Niveles plasmáticos en la enfermedad trofoblástica.	91
1.2.6.3. Niveles plasmáticos en las neoplasias del ovario.	96
1.2.6.4. Niveles plasmáticos en el carcinoma de endometrio.	101
1.2.6.5. Niveles plasmáticos en las neoplasias del testículo.	102
1.2.6.6. Niveles plasmáticos en las neoplasias de la mama.	104
1.2.6.7. Niveles plasmáticos en otras neoplasias.	107
1.2.6.8. Análisis conjunto de los resultados.	109
1.2.6.9. Significación clínica.	112
1.2.7. Localización inmunohistoquímica de las proteínas placentarias.	113
1.2.7.1. Enfermedad trofoblástica.	114
1.2.7.2. Neoplasias no trofoblásticas.	118
1.2.7.3. Análisis conjunto de los estudios inmunohistoquímicos.	127
1.2.8. Estado actual del problema.	128

II.- HIPOTESIS DE TRABAJO.	131
----------------------------	-----

III.- MATERIAL.-	135
3.1.    Aparato reproductor normal.	136
3.2.    Pacientes con neoplasias del aparato reproductor.	138
3.2.1.  Pacientes con enfermedad trofo- blástica.	145
3.2.2.  Neoplasias del ovario.	147
3.2.3.  Adenocarcinoma de endometrio.	156
3.2.4.  Neoplasias del testículo.	158
3.2.5.  Neoplasias de la mama.	159
IV.- METODO.-	161
4.1.    Método de selección de casos y recogida de datos.	162
4.2.    Técnicas histológicas.	163
4.2.1.  Obtención de los crotos histoló- gicos.	163
4.2.2.  Método de control de los cortes histológicos.	165
4.3.    Técnicas inmunohistoquímicas.	166
4.3.1.  Desparafinación e hidratación.	171
4.3.2.  Tripsinización.	172
4.3.3.  Inhibición de la actividad pero- xidásica y pseudoperoxidásica en- dógena.	172
4.3.4.  Incubación con suero no inmune.	172

4.3.5.	Incubación con antisuero primario.	173
4.3.5.1.	Antisuero primario.	173
4.3.5.2.	Diluciones óptimas de los antisueros.	174
4.3.5.3.	Controles positivos y negativos.	176
4.3.5.4.	Incubación del antisuero primario	176
4.3.6.	Incubación con antisuero "puente".	177
4.3.7.	Incubación con antisuero terciario.	177
4.3.8.	Revelado de la reacción.	178
4.3.9.	Valoración de los resultados.	179
V.-	RESULTADOS.	181
5.1.	Aparato reproductor normal.	182
5.2.	Neoplasias del aparato reproductor.	192
5.2.1.	Enfermedad trofoblástica.	192
5.2.2.	Neoplasias del ovario.	205
5.2.3.	Adenocarcinoma de endometrio.	221
5.2.4.	Neoplasias del testículo.	224
5.2.5.	Neoplasias de la mama.	225
5.2.6.	Análisis conjunto de los resultados obtenidos en las neoplasias no trofoblásticas del aparato reproductor.	234

VI.- DISCUSION.	239
6.1.    Aparato reproductor normal	240
6.2.    Neoplasias del aparato reproductor.	244
6.2.1.  Enfermedad trofoblástica.	244
6.2.2.  Neoplasias del ovario.	249
6.2.3.  Adenocarcinoma de endometrio.	254
6.2.4.  Neoplasias del testículo.	255
6.2.5.  Neoplasias de la mama.	256
6.2.6.  Análisis conjunto de las neoplasias no trofoblásticas del aparato reproductor.	259
VII.- CONCLUSIONES.	261
VIII.-RESUMEN.	265
IX.- BIBLIOGRAFIA.	275



INDICE DE ABREVIATURAS

AFP	= Alfa feto proteina.
AMS	= American Cancer Society.
$\alpha_2$ -PAG	= Pregnancy Associated $\alpha_2$ Globulin.
$\alpha_2$ -PAM	= Pregnancy Associated $\alpha_2$ Macroglobulin.
B-H.C.G.	= Subunidad beta de la Gonadotropina coriónica
B <sub>1</sub> -PAM	= Pregnancy Associated B <sub>1</sub> Macroglobulin.
CEA	= Antígeno Carcino Embrionario.
DAB	= Tetraclorhidrato 3-3' de Diaminobencidina
DPX	= Bálsamo Canadá.
FIGO	= Federación Internacional de Ginecología y Obstetricia.
H.C.G.	= Gonadotropina Coriónica Humana.
H.E,	= Hematoxilina-Eosina
HPL	= Lactógeno Placentario Humano
Ig G	= Inmunoglobulina G.
LAP	= Leucinoaminopaptidas.
LDH	= Lactodeshidrogenasa.
MP	= Membrane Associate Proteins (proteinas solubilizadas).
OMS	= Organización Mundial de la Salud.
PAP	= Peroxidasa-anti-peroxidasa.
PAPP	= Pregnancy Associate Protein
PAPP-A	= " " " -A
PAPP-B	= " " " -B
PAPP-C	= " " " -C
PP	= Placental Protein.
PP <sub>5</sub>	= " " -5
PP <sub>10</sub>	= " " -10
PP <sub>12</sub>	= " " -12
PP <sub>14</sub>	= " " -14
P.S.B <sub>1</sub> G.	= Pregnancy Specific B <sub>1</sub> Glycoprotein.
P.Z.P.	= Pregnancy Zone Protein ( $\alpha_2$ -PAG)
Px	= Peroxidasa.
R.E.	= Receptores estrogénicos.
R.I.A.	= Radioinmuno análisis.

SP = Schwangerschafts Proteins  
SP<sub>1</sub> = " " -1 (P.S.B<sub>1</sub>G.)  
SP<sub>3</sub> = " " -3 (α<sub>2</sub>-PAG)  
TB = Tampon Tris  
TBS = Tampon Tris con cloruro sódico.  
TRH = Hormona Tireotropa.  
U.I.C.C. = Union Internacional Contra el Cancer.

I. - INTRODUCCION.

## I.-INTRODUCCION.

### 1.1.-IMPORTANCIA CLINICA DE LAS NEOPLASIAS DEL APARATO REPRODUCTOR.

Uno de los grandes retos de la medicina actual, es el conocimiento íntimo de los mecanismos que dan lugar a la transformación de una célula normal en una célula neoplásica; aspecto fundamental para poder desarrollar adecuados métodos diagnósticos y llegar a la obtención de terapéuticas eficaces.

Sin embargo, el problema del cancer rebasa

las barreras estrictamente científicas, por tratarse de una problemática con consecuencias sociales y económicas de gran importancia, ya que en la actualidad, representa una de las causas más frecuentes de muerte y de graves secuelas físicas, síquicas y funcionales.

#### 1.1.1.-Frecuencia.

La incidencia global de neoplasias humanas, resulta difícil de estimar en la mayoría de los países, por la ausencia de grandes estudios multicéntricos al respecto. Para SARNA (181), la incidencia estimada de cancer en U.S.A. en 1980, excluidos los tumores no melánicos de la piel y el carcinoma "in situ" del cervix, era de 785.000 casos anuales, lo que sugiere que 350 de cada 100.000 personas por año presentan el riesgo de padecer una neoplásia maligna. Para éste mismo autor, el cancer de mama supondría el 27% del total de canceres en la mujer y un 12% los de útero y ovario. (TABLA 1.1)

El origen embriológico del ovario y su enorme capacidad funcional, hace que sea el organo humano con mayor potencial para desarrollar un gran número de tumores de diversa naturaleza.



Uno de los hechos epidemiológicamente más destacables y que confieren al cancer de ovario una importancia clínica primordial, es el aumento extraordinario de su incidencia en las últimas décadas.

En la práctica clínica, no cabe duda de que este incremento de la patología es real, tal y cómo se deduce del estudio de numerosos informes recientemente publicados; (4, 37, 47, 81, 190, 199) y probablemente, no sea incorrecto afirmar, que al menos en los países occidentales, constituye la causa más común de muerte por cancer pélvico entre las mujeres.

TABLA 1.1

INCIDENCIA DEL CANCER SEGUN LOCALIZACION Y SEXO

Localizacion	Varon	Hembra
PIEL	2%	2%
CAVIDAD ORAL	5%	5%
PULMON	22%	8%
MAMA	--	<u>27%</u> *
PANCREAS	3%	3%
COLON Y RECTO	14%	15%
PROSTATA	17%	-
OVARIO	-	<u>6%</u> *
UTERO	-	<u>6%</u> *
AP.URINARIO	9%	4%
LEUCEMIA Y LINF.	9%	7%
OTROS CANCERES	19%	14%

Tomado de SARNA (181)

Enfermedad trofoblástica.

Dentro del concepto de enfermedad trofoblástica, se incluyen tres entidades: MOLA HIDATIFORME, CORIOADENOMA DESTRUENS Y CORIOCARCINOMA.

Según el Mathieu Chorionepithelioma Registry, (3,35) el 46% de los coriocarcinomas vienen precedidos de una mola hidatídica; el 12-14% se originan a partir de una mola invasiva y un 40% derivan de un embarazo normal o un aborto.

La incidencia de la mola muestra una acentuada variación geográfica: WEI y OUYANG (240) en 1963 en Formosa, refieren una mola por cada ciento veinte embarazos; en cambio, NOVAK, (160) en EE.UU. en 1950, presentó una casuística de una mola por cada dos mil quinientos embarazos y entre ambos extremos existen todos los valores intermedios. En Europa hay que destacar la elevada incidencia de la mola en la U.R.S.S., donde se presenta un caso por cada trescientos treinta y tres embarazos, en contraste con Holanda, donde la frecuencia es de 1:1200 embarazos. (TABLA 1.2).

No se ha dado todavía una explicación convincente, que justifique las diferencias existentes entre

TABLA 1.2

## Frecuencia de la Mola Hidatiforme

País	Nº de embarazos	Autor
Formosa	1/120	Wei y Ouyang 1963
Filipinas	1/173	Acosta Sison 1959
Méjico	1/200	Marquez-Mont. 1963
India	1/160-1/400	Pai 1967
Japón	1/232	Hasegawa 1957
Hong-Kong	1/242	Chun y cols 1964
Hong-Kong	1/530	King 1956
URSS	1/333	Karzavina 1949
Israel	1/460	Brandes y co 1965
Francia	1/500	Brideau 1952
Guatemala	1/670	Aramliura
Australia	1/695	Beicher 1968
Australia	1/820	Coppleson
Chile	1/829	Cabrera 1946
Gran Bretaña (varios)	1/835	Das 1938
Gran Bretaña (Belfast)	1/1190	Stevenson 1959
Brasil	1/1071	Fernandez-M 1957
Holanda	1/1200	De Snou 1946
EE.UU.	1/1000	Douglas 1959
EE.UU.	1/1349	Mueller y L 1949
EE.UU. (Boston)	1/1062	Hertig Sheld. 1947
EE.UU.	1/2500	Novag 1950
EE.UU. (Chicago)	1/1699 (partos)	Brener Gerbi. 1967
	1/2093 (embarazo)	
EE.UU.	1/1450	Yen y McMaha. 1968

Tomado de : BAGSHAWE (11)

entre la distribución geográfica de la frecuencia de aparición de la enfermedad trofoblástica. Sin embargo, hay ciertos datos epidemiológicos de interés, ya que la incidencia de una mola hidatiforme es significativamente más alta por encima de los cuarenta años y por debajo de los veinte, así cómo la multiparidad, es otro factor de riesgo que se debe considerar.

El coriocarcinoma suele ir precedido en el 50 % de los casos por una mola hidatiforme y en el 25 % por un embarazo normal.

A pesar de que el coriocarcinoma puede desarrollarse a cualquier edad, es más frecuente en embarazadas de más de treinta y cinco años y entre éstas, las primigrávidas añosas. Tiene una distribución geográfica similar a la de la mola y presenta una incidencia que oscila entre 1:50.000 y 1:70.000 embarazos en Inglaterra y EE.UU. y de 1:5.000 a 1:6.000, en Asia y Africa central (117). (TABLA 1.3).

El 50% de los coriocarcinomas no gestaciona-

nales afectan a niñas prepúberes y no suelen responder al tratamiento quimioterápico, como es lo usual en el tipo gestacional.

El coriocarcinoma de ovario primario es tan escaso, que SCULLY(187) afirma que sólo hay descritos en la literatura mundial, alrededor de cien casos en total.

TABLA 1.3

Frecuencia del Coriocarcinoma

País	Frecuencia	Autor
Filadelfia	1:13.850 (embarazos)	Chuman y Voegl.1937
Rhode Island	1:40.000 (partos)	Yen y McMahon 1968
Hong-Kong	1:6.250 (Embarazos)	Chan 1962
Formosa	1:496 (Partos)	Wei y Ouyang 1963
Filipinas	1:1.148 (embarazos)	Acosta Sison 1967

Tomado de: BAGSHAWE (10).

### Tumores del Ovario.

Los tumores del ovario representan según CASTAÑO-ALMENDRAL y cols.(39), del 10 al 20% de todos los tumores genitales femeninos y de éstos, aproximadamente el 5% son carcinomas. En los años 1930-1960 el cancer de ovario ocupaba en los Estados Unidos, el segundo lugar de todas las neoplasias del tracto genital femenino, detras del carcinoma de cervix.

Datos más recientes(1979) muestran cómo el cancer de ovario, ocupa actualmente el tercer lugar entre las neoplasias ginecológicas y son diagnosticados aproximadamente 17.000 nuevos casos por año en los Estados Unidos, según estimación de FATHALLA (76). La incidencia del cancer de ovario oscila, según este mismo autor, entre el 3.3/100.000 habitantes en Sudáfrica y el 16.6/100.000 en Hawaianas, siendo más frecuente su aparición en las mujeres de raza blanca. La probabilidad de presentar actualmente un cancer de ovario, es de uno por cada setenta personas año, lo que representa el 1.4% aproximadamente.

Para KYAN y SOMMER(142), JOHNSON(120) y KNOR y cols.(137), la probabilidad de que una mujer desarrolle un cancer de ovario a lo largo de toda su vida oscila entre el 5 y el 7 %. Sin embargo SCULLY(186), propone como cifra probable en el caso de la mujer americana el 1-1.5 %.

La lamentable ausencia de datos en nuestro país, no nos permite poder establecer ni la frecuencia de aparición ni la epidemiología de éstas neoplasias en nuestra población. La distribución de los grupos de edades en pacientes con carcinoma de ovario, no expresa con exactitud el riesgo comprendido en éstos distintos grupos. No obstante, se admite que el riesgo de padecer un carcinoma del ovario, aumenta con la edad y es mayor a medida que aumenta la edad media de la vida. (TABLA 1.4).

TABLA 1.4

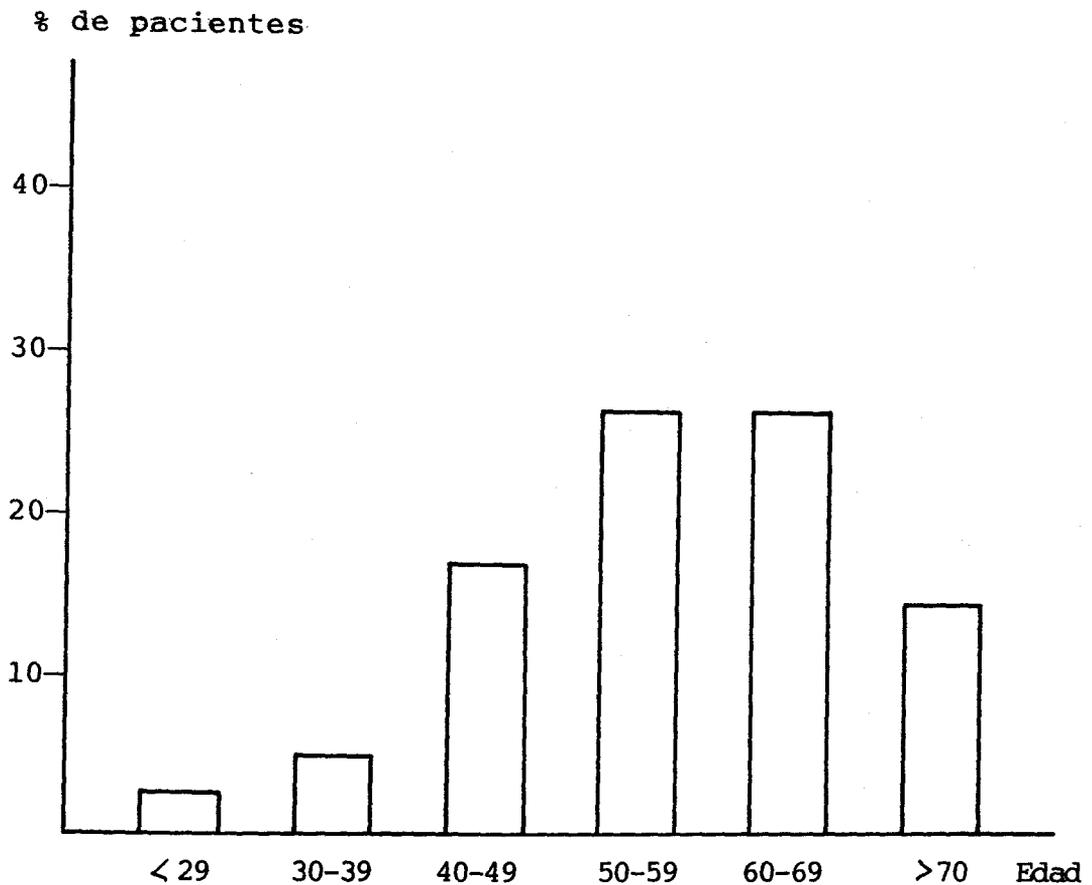
Distribución de los grupos de edades en pacientes con carcinoma de ovario

Edad en años	1958-1960*	1960**
0-19	0	0.1
20-44	7.2	5.9
45-54	27.9	26.3
55-64	28.1	38.1
65-74	72.6	73.5
75 ó más	158.0	131.0

Tomado de: \* BENNINGTON y cols.(16) y \*\* GERBER y cols.(87)

Datos recientes de la F.I.G.O., demuestran cómo el carcinoma de ovario representa en la actualidad el 20% de los cánceres genitales, apareciendo a cualquier edad, si bien, la mayor incidencia la presentan entre los 50 y 70 años. (GRAFICA 1.1).

GRAFICA 1.1



Tomado de: FIGO Annual Report (115).

Di SAIA y CREASMAN, (56) al estudiar la distribución por edades de los diferentes tipos de tumores ovaricos, observan cómo la mayor frecuencia de aparición de los tumores no epiteliales, aparece en mujeres de más de cincuenta años, en contraste con los tumores germinales, que tienen su mayor frecuencia de aparición por debajo de los veinte años.

#### Adeno-carcinoma de endometrio.

La frecuencia del cancer de endometrio ha aumentado de manera ostensible en los últimos años.

En los años treinta, la frecuencia del carcinoma de cervix, era de siete a ocho veces superior a la del cuerpo; sin embargo, actualmente, en la mayoría de los países occidentales tal proporción tiende a igualarse, e incluso, en países de gran desarrollo, los términos han llegado a invertirse, siendo la incidencia del carcinoma de endometrio sensiblemente superior. (45, 46, 168). La significación de éste aumento, está sin embargo sometida a discusiones: No sólo se trata de un crecimiento relativo condicionado por la disminución de muertes por enfermedades infecciosas y por la mayor esperanza de vida de las poblaciones, sino que es posible que influyan también de forma crítica en éste sentido, factores derivados de una mejor atención médica con un

mayor y positivo aprovechamiento y sistematización de las técnicas diagnósticas de la patología cervical, como consecuencia, de los programas de detección precoz y en una medida todavía no determinada, la terapéutica con estrógenos a que se ven sometidas, con una frecuencia todavía mayor, un elevado número de mujeres (118).

La American Cancer Society, estima en unos 38.000 el número de carcinomas de endometrio que se diagnostican y tratan actualmente en los EE.UU., con una progresiva tendencia a aumentar, lenta pero significativamente, en las próximas décadas. (4, 124, 198, ).

En España, la ausencia de datos estadísticos fiables, impide en ésta como en otras localizaciones neoplásicas, hacer una valoración objetiva y exacta de la situación epidemiológica en el momento actual.

El cancer de endometrio afecta en general a mujeres potmenopaúsicas, con un pico de máxima incidencia entre la sexta y septima década de la vida. El 75% de los casos se observan despues de los cincuenta años y sólo un 4% aparece antes de los cuarenta (167, 174). Sin embargo, la edad media de aparición varía según los diferentes autores; para MORTON (158) y NOVAK (160) en estu-

dios realizados en los años 1948 y 1966 respectivamente, coinciden en que la edad media era de cincuenta y siete años, mientras que para CRISTOFERSON(51) era de sesenta años y para LYNCH (149) de 62,9 años.

Otros autores como MASABUCHI(152) y TRAMIER (226) han reseñado que el cancer de endometrio, aunque raro en la mujer joven, está volviendose cada vez más frecuente.

En la TABLA 1.5., podemos encontrar la distribución geográfica del carcinoma de endometrio (150). En ella se aprecia la mayor incidencia en los EE.UU. y en Alemania occidental, en contraste con la frecuencia existente en la India y el Japon. Por otra parte, hay que resaltar el hecho de que las poblaciones migratorias, asumen el riesgo de la población autoctona.

TABLA 1.5.

Incidencia del carcinoma de endometrio en  
en cinco continentes(IARC)

Pais/Area	Incidencia por 10 <sup>5</sup>
Estados Unidos(Alameda;blancas)	45,8
Alemania Occidental(Saarland)	33,8
Nueva Zelanda(Maori)	28,8
Suiza(Ginebra)	23,6
Canadá(Alberta)	21,1
Estados Unidos(Alameda;negras)	19,3
Malta	17,8
Suecia	16,8
Israel	15,0
Finlandia	13,4
Polonia(Varsovia)	13,2
Rumanía(Timis)	12,4
Inglaterra(Liverpool)	12,0
Puerto Rico	8,4
China(Singapur)	7,0
Colombia(Cali)	6,8
Brasil(Recife)	3,0
India(Bombay)	1,8
Japon(miyagi)	1,7

Tomado de MAHBOUBI y cols.1982(150).

### Neoplasias del Testiculo.

Las neoplasias del testiculo son poco frecuentes. En los EE.UU. sólo aparecen unos tres mil casos anuales, en contraste con los de mama ó pulmón, que se sitúan cada uno por encima de los cien mil casos al año. A pesar de su escasa incidencia, es el tumor mas frecuente en los varones entre quince y treinta y cinco años. Su aparición es rara entre las poblaciones de raza negra de America y Africa y tambien entre los pueblos asiáticos, lo que sugiere una influencia genética en su desarrollo.

Relacionando las características histológicas del tumor y la edad, los más frecuentes son los linfomas y suelen aparecer en pacientes con edades superiores a los cincuenta y cinco años, mientras que los de células germinales, son los más comunes entre los varones jóvenes.

### Neoplasias de la mama.

No nos parece excesivo afirmar que el cancer de mama, constituye hoy el más terrible y despiadado enemigo de las mujeres.

Cada diecisiete minutos, se diagnostican entre dos y tres nuevos casos de cancer de mama en los E.E. UU.. Finalmente, una de cada trece norteamericanas que vienen al mundo, se verá afectada por el proceso en algún momento de su vida (151). Además, a lo largo de las cuatro últimas décadas, la incidencia del cancer de mama ha venido aumentando significativamente en la mayor parte de los países industrializados; sin haberse observado apenas modificación en las cifras de mortalidad, aunque las tasas de período libre de enfermedad y de supervivencia, no han sufrido más que una escasa mejoría.

En España, disponemos de los datos publicados por el Ministerio de la Gobernación en 1978 sobre la incidencia del cancer de mama. (TABLA 1.6). En ella se puede observar, la incidencia creciente desde el período comprendido entre 1951 a 1970.

Cuando se relaciona la frecuencia de aparición del cancer de la mama con la edad de la paciente, los Estados Unidos e Inglaterra figuran en el primer lugar, mientras que la menor incidencia se observa en el Japón y en Sudáfrica, (TABLA 1.7).

En lo que respecta a la incidencia por grupos de población, es interesante comprobar que el riesgo neoplá-

TABLA 1.6

Incidencia del cancer de mama en España

Años	Morbilidad mujeres
1951	1.110
1952	1.192
1953	1.144
1954	1.289
1955	1.372
1956	1.345
1957	1.449
1958	1.450
1959	1.544
1960	1.936
1961	2.039
1962	2.225
1963	2.311
1964	2.394
1965	2.389
1966	2.380
1967	2.065
1968	2.646
1969	2.821
1970	2.827

Tomado de: FERNANDEZ-CID(77) 1984

TABLA 1.7

Incidencia anual del cancer de mama en funcion  
de la edad

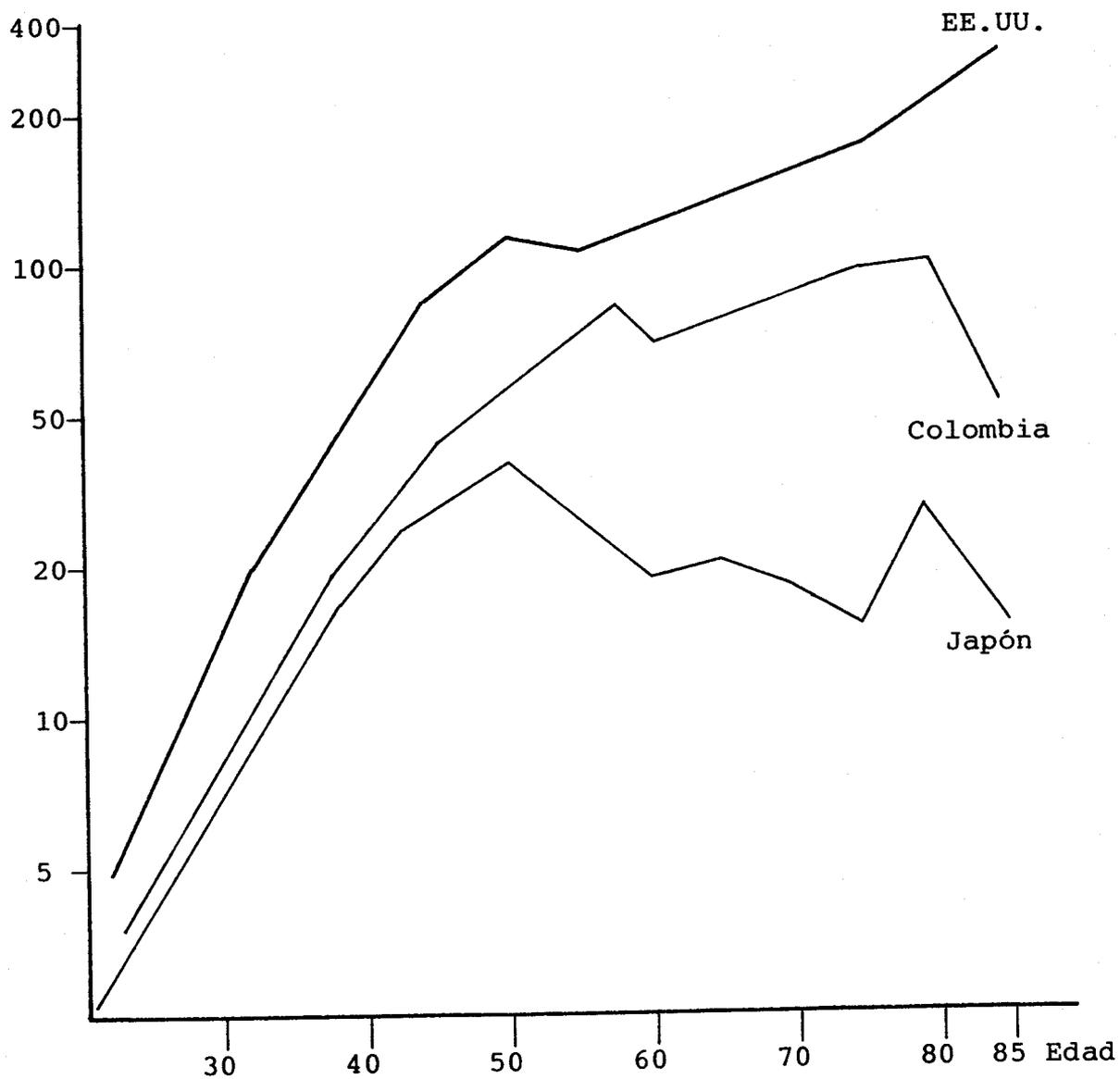
Incidencia por grupos de poblacion	Tasa por 100.000 mujeres
<b>ALTA</b>	
EE.UU.Connectitud	71,4
Israel(población judía)	55,5
Reino Unido	51,1
Países Nórdicos	48,6
<b>MEDIA</b>	
Colombia,Cali	27,8
Yugoslavia	22,8
India,Bombay	20,4
<b>BAJA</b>	
Sudáfrica(poblaciones negras)	13,6
Japón,Miyagi	13,0

Tomado de:DOLL,1970.(58) y de WHO,1979.(242)

sico aumenta rápidamente hasta los cincuenta años, a partir de cuyo momento la curva se aplana algo sin abandonar su perfil ascendente ,excepto en lo correspondiente a las japonesas,que experimentan una significativa defexión después de la menopáusia.(GRAFICA 1.2)

GRAFICA 1.2

Incidencia anual por  
100.000 mujeres.



Tomado de : SEIDMAN (189)

### 1.1.2.- Mortalidad.

El estudio de la morbi-mortalidad de los tumores genitales, plantea los mismos problemas a los que hacíamos mención al hablar de la frecuencia de aparición; es decir, los estudios presentan una gran variabilidad geográfica.

El cancer representa en la actualidad para SILVERBERG (198) la segunda causa de muerte en los EE.UU. (TABLA 1.8). En 1980, se produjeron unos 405.000 fallecimientos por ésta causa, lo que supone una tasa de muertes de ciento ochenta personas por cada cien mil habitantes y año (181).

Las estadísticas vitales de los distintos países presentan una gran oscilación, siendo el riesgo de muerte, variable entre 29,2 por cien mil personas y año en Honduras, hasta un 213,2 en Checoslovaquia; y en el caso de la mujer, desde un 24,9 en Tailandia, hasta 132,3 en Irlanda.

Para SILVERBERG (198) el cancer de la mama es el responsable de la mayor tasa de mortalidad en la mujer actual (19%), seguida del cancer de utero y de ovario (12%).

TABLA 1.8

Mortalidad por cancer segun localización y sexo

Localización	Varon	Hembra
PIEL	2 %	1 %
CAVIDAD ORAL	3 %	1 %
PULMON	34 %	14 %
MAMA	--	<u>19 %</u> *
PANCREAS	5 %	5 %
COLON Y RECTO	14 %	15 %
OVARIO	--	<u>6 %</u> *
UTERO	--	<u>6 %</u> *
PROSTATA	10 %	--
AP.URINARIO	5 %	3 %
LEUCEMIAS Y LINFOMAS	9 %	9 %
OTROS CANCERES	20 %	21 %

Tomado de: SILVERBERG (198).

Enfermedad trofoblástica.

La morbi-mortalidad de la enfermedad trofoblástica tenemos que considerarla en dos épocas distintas, separadas por la aparición de la quimioterapia, tan efectiva, en éste tipo de neoplasias.

La incidencia y mortalidad de la enfermedad trofoblástica en la era prequimioterápica, aparece expresada en la TABLA 1.9.

TABLA 1.9

Incidencia y mortalidad de la enf. Trofoblástica

	Incidencia	Mortalidad
Mola Hidatídica	1:1.200 Gest.	Baja
Corioadenoma Destruens	1:15.000 Gest.	15 %
Coriocarcinoma *	1:40.000 Gest.	60 %
		(No metastásico)
* Precedido: 50% Mola; 25% Emb. ectópico; 25% Aborto.		98 %
		(Metastásico)

Tomado de: SURWIT Y HAMMOND (213).

Para JEFFCOATE (117), quizás tienda a exagerarse el valor de la quimioterapia, ya que en Inglaterra y Gales, antes de disponer de las drogas citotóxicas, anualmente se registraban de diez a catorce muertes por coriocarcinoma. Tras la introducción de Metotrexate, la cifra disminuyó a una o dos; sin embargo para JEFFCOATE, éste descenso de la mortalidad, significaba más el retraso

de la muerte, que la curación, porque en los años siguientes el número anual de muertes, aumentó a seis u ocho y ahí permanece hasta hoy.

Por el contrario, BAGSHAW(11) opina, que el seguimiento sistemático con H.C.G. de la mola hidatiforme, entidad capaz de transformarse en un verdadero coriocarcinoma en aproximadamente un 4-5% de los casos, ha conseguido erradicar casi por completo, la mortalidad en éste tipo de pacientes.

#### Neoplásia del ovario.

Los estudios comparativos realizados a escala internacional sobre la cifra incidencia y porcentajes standarizados de muertes por carcinoma de ovario, muestran amplias diferencias geográficas, como se desprende de los estudios realizados por DOLL(58) y WATERHOUSE(238).

El problema es grave en los EE.UU. y Canadá, especialmente entre la población blanca; y en los países europeos en general, sobre todo en los nórdicos. Dinamarca, presenta la mayor tasa de mortalidad por cancer de ovario con un 12,9 por cien mil habitantes, seguida de Suecia, Noruega y EE.UU., por éste orden. Japon ocupa



en cambio, el último lugar con una mortalidad evaluada en sólo 2,1 por cien mil habitantes, (TABLA 1.10).

El predominio del factor ambiental sobre el étnico, parece deducirse de las observaciones realizadas acerca de los cambios de la frecuencia del cáncer de ovario, en las etnias sometidas a grandes procesos migratorios, LINGEMAN (148) demuestra cómo las mujeres judías nacidas en Europa ó en los EE.UU., presentan unas cifras de mortalidad por carcinoma de ovario, tres veces superiores a las de las judías de origen africano ó asiático.

TABLA 1.10  
Tasas de mortalidad de neoplasias del ovario  
en varios países

País	Mortalidad por 100.000 Hab.
Dinamarca	12,9
Suecia	9,6
Noruega	9,5
Inglaterra y Gales	9,1
Escocia	8,5
Canadá	7,3
EE.UU.	7,3
Irlanda	5,8
Italia	3,3
Japón	2,1

Tomado de : American Cancer Society (7)

Para algunos tipos de cancer de otras localizaciones, las tasas de mortalidad han disminuido, pero no ha ocurrido así con el carcinoma de ovario, que en la etapa 1960-1970, no experimentó ningún descenso.

#### Carcinoma de endometrio.

Puede reconocerse al carcinoma de endometrio, a diferencia de lo que ocurre en otras neoplasias, mayores posibilidades de control; pero aún no hay que olvidar que sólo en norteamérica, cobra una media aproximada de cuatro mil muertes por año. Los datos de la FIGO, recogidos en el Annual Report por KOTTMEIER y KOLSTAD(8) resultan también expresivos y atestiguan que incluso entre los tumores sometidos a resecciones potencialmente curativas, cabe esperar un índice de fracasos referidos a la estadística de conjunto, en cualquier caso no inferior al 49 %.

La supervivencia a los cinco años, obtenida en grupos de pacientes tratadas con diferentes técnicas, oscila entre el 71,9 y 9,3 %, según el estadio evolutivo de la enfermedad; (85,187).

Numerosos estudios han venido a confirmar que la edad de la paciente, el patron histológico del tumor y el grado de infiltración del miometrio, representan factores de riesgo significativos en cuanto a la mortalidad neoplásica. Así, las pacientes jóvenes, portadoras de carcinomas muy bien diferenciados y con escasa o nula tendencia a la invasión miometrial, son de hecho, las que ofrecen mayores probabilidades de supervivencia global a largo plazo. (8).

Es de destacar, que si bien en las últimas décadas se ha producido un importante aumento en la detección del carcinoma de endometrio, en etapas mucho más precoces, la mortalidad no obstante, ha permanecido inalterable.

#### Neoplasias del testículo.

Como cualquier tipo de neoplasia, la morbimortalidad de los tumores del testículo, viene condicionada por sus características histopatológicas y por su clasificación por estadios; aunque es una de las neoplasias que tienen mayores probabilidades de curación, (129).

El seminoma es diagnosticado en el 90% de los casos en el estadio A y B, es decir, en forma local o regional y por su tendencia a metastatizar ordenadamente por vía linfática y por ser muy radiosensibles, presenta el estadio A un 5% de mortalidad y el estadio B un 10 %.

Los tumores metastatizantes de las células germinales, distintos del seminoma, proliferan muy velozmente y antes de la introducción de la quimioterapia eficaz, producían la muerte en el plazo de pocos meses. En el momento actual, más del 50% de éstos enfermos pueden curar con los nuevos protocolos quimioterapéuticos. Casi todos los pacientes con un tumor pequeño tienen una supervivencia prolongada, mientras que sólo las mitad ó menos de los que presentan una masa testicular voluminosa, consiguen quedar libres de enfermedad.

#### Neoplasias de la mama.

En muchos países, el cancer de mama constituye aún la primera causa de muerte en la mujer. Se calcula que sólo en los EE.UU., las neoplasias mamarias producen una media anual de treinta y seis mil muertes. (4).

Según datos de ésta misma fuente(4) las enfermedades neoplásicas de la mama representan, en terminos absolutos, la causa más común de muerte en mujeres de edad comprendida entre los treinta y nueve y los cuarenta y cuatro años. España no escapa a ésta afirmación, ya que, en 1970 según cifras publicadas por el Instituto Nacional del Cancer, en una población de 17.413.657 mujeres, hubo 20.763 muertes por cancer , 2.243 de las cuales ocurrieron por cancer de mama, lo que representa un 10,8% . Por otra parte, en 1975, el Instituto Nacional de Estadística confirmó que la cifra de mortalidad por cancer de mama fué de 2.899 casos, treinta y tres varones y dos mil novecientas cincuenta y seis mujeres, lo que equivale al 12,9% de todas las causas de muertes producidas por tumores malignos y al 2,07% entre todas las causas de muerte en la mujer durante dicho año: (177)

En los países de la C.E.E., afirma GORIN(94) que veintinueve mil mujeres mueren por año de cancer de mama y se detectan sesenta y siete mil nuevos casos anuales. Así mismo, afirman SACHS y MAAS(175) que en los últimos años, el cancer de mama ha pasado a ocupar, en la mujer, el primer puesto entre los tumores malignos, lugar que anteriormente correspondía al carcinoma de Cervix. En España, también ocurre así, pues en 1978 el

Ministerio de la Gobernación (Dirección General de la Salud) publica unos datos sobre la mortalidad de los tumores malignos (TABLA 1.11), en los que podemos apreciar, el ascendente aumento de la mortalidad por carcinoma de mama.

TABLA 1.11

Mortalidad por cancer de mama en España

Años	Mujeres	
	Defunciones	Porcentaje
1951	888	6,07
1952	954	6,48
1953	915	6,17
1954	1.031	6,90
1955	1.098	7,30
1956	1.076	7,11
1957	1.159	7,60
1958	1.160	7,56
1959	1.235	7,99
1960	1.549	9,85
1961	1.631	10,26
1962	1.780	11,08
1963	1.849	11,39
1964	1.915	11,68
1965	1.911	11,54
1966	1.904	11,38
1967	2.084	12,33
1968	2.117	12,40
1969	2,257	13,30
1970	2.262	13,00
TOTAL	30.775	9,55

### 1.1.3.-Clasificación

La finalidad básica de toda clasificación, es poder contar con grupos comparables a partir de los cuales, resulte factible la confrontación de los diversos métodos de tratamiento, con unos criterios estadísticos válidos para todo el mundo.

El sistema de clasificación más detallado es el que se conoce con las siglas T.N.M., admitido y universalizado por la Union Internacional Contra el Cancer (UICC) (228). Se incluyen en él casi todos los carcinomas del organismo humano, agrupándose en una fórmula unificada, que expresa tanto el grado de invasión del cancer en el organo de origen, cómo en el conjunto de la economía.

Otra entidad científica que viene prestando desde hace tiempo particular atención al desarrollo de esquemas sistematizados, es el Comité del cancer de la Federación Internacional de Ginecología y Obstetricia, (F.I.G.O.) precisamente uno de los que más se ha distinguido en el intento de conseguir una clasificación homologable y no excesivamente amplia, de los distintos tumores malignos originados en el aparato reproductor femenino. (98).

### Enfermedad Trofoblástica.

Existen numerosas clasificaciones de la enfermedad trofoblástica, tanto clínicas, como hitológicas.

El objetivo principal del diagnóstico clínico, es establecer las bases para el tratamiento de la paciente; mientras que el interés del diagnóstico patológico radica fundamentalmente en la clasificación del tumor, con el fin de recoger series de lesiones similares.

Una de las clasificaciones clínicas de la enfermedad trofoblástica de mayor difusión, es la de JONES (123) (TABLA 1.12). Sin embargo, la Sociedad Internacional para el estudio de las neoplasias trofoblásticas, reunida en Hong Kong en 1979, resolvió adoptar un nuevo sistema de clasificación basado en criterios anatómicos (TABLA 1.13).

En cuanto a las clasificaciones histológicas, la de mayor difusión, es la de NOVAK (160) (TABLA 1.14).

TABLA 1.12

Clasificación clínica, pronóstica y terapéutica  
de la enfermedad trofoblástica

---

GRUPO I No metastásica

Tumor no confinado a utero  
Titulo HCG y duración enfermedad poco importante  
Todos los diagnósticos histopatológicos  
Tratamiento local y/o monoquimioterapia masiva  
intermitente.  
Curación 100%

GRUPO II Metastásica de bajo riesgo

Metástasis presentes, salvo en hígado y cerebro  
Tumor inicial HCG inferior a 100.000 UI/24 h, ó  
a 40.000 mUI/ml.  
Duración enfermedad inferior a 4 meses  
Todos los diagnósticos histopatológicos  
Poliquimioterapia masiva intermitente.  
Curación 94%.

GRUPO III Metastásica de alto riesgo

Metástasis presentes, salvo hígado y cerebro.  
Titulo inicial HCG superior a 100.000 UI/24 h, ó  
a 40.000 mUI/ml.  
Duración enfermedad superior a 4 meses.  
Todos los diagnóstico histopatológicos.  
Poliquimioterapia masiva intermitente.  
Curación 70-80%

GRUPO IV Metástasis de muy alto riesgo.

Metástasis presentes en hígado y cerebro.  
Titulo HCG y duración enfermedad poco importantes  
Todos los diagnósticos histopatológicos.  
Poliquimioterapia masiva intermitente más irradiación  
Curación 50% .

---

TABLA 1.13

Clasificación por estadios de la  
enfermedad trofoblástica

---

ESTADIO 0	Gestación molar a) Bajo riesgo b) Alto riesgo
ESTADIO I	Crecimiento tumoral limitado al cuerpo uterino.
ESTADIO II	Metástasis en pelvis y vagina
ESTADIO III	Metástasis pulmonares
ESTADIO IV	Metástasis distantes(cerb.Hig.)

---

Tomado de : Sociedad Internacional para el estudio  
de las neoplasias trofoblásticas (90).

Clasificación morfológica de la Enfermedad  
Trofoblástica

---

## MOLA HIDATIFORME

- \* Dilatación de las vellosidades, llenas de liqđ.
- \* Gran disminución de los vasos sanguíneos.
- \* Suele afectar a toda la superficie coriónica
- \* Tiene capacidad de evolución neoplásica: un 5% a mola invasiva, un 5% a coriocarcinoma

## MOLA INVASIVA, CORIOADENOMA DESTRUENS

- \* Conserva el patron velloso
- \* Mayor proliferación trofoblástica
- \* Localmente invasora, pudiendo determinar metástasis a distancia.

## CORIOCARCINOMA

- \* Proliferación anarquica del trofoblásto, con proporcion variable del citotrofoblasto y Syncitiotrofoblasto.
  - \* Perdida de patron velloso
  - \* Necrosis coagulativa hemorragica.
  - \* Masa grumosa, oscura y hemorragica sobre la pared uterina ó dentro de ella
  - \* Invade canales arteriales, dando metástasis a distancia.
- 

Tomado de :NOVAK (160)

### Tumores del ovario.

La necesidad de ordenar metódicamente los tumores del ovario en grupos homogéneos, ha llevado a formular numerosas clasificaciones concebidas según muy variables criterios : Comportamiento clínico, actividad biológica y tipos de efectos que producen sobre el organismo, perfil histoquímico, componente histológico por el que están representados y por último, mecanismo histogenético que conduce a su aparición.

El centro Internacional de la O.M.S. (186) para la clasificación de los tumores del ovario, ha formulado un sistema de clasificación que refleja pese a las inevitables lagunas, el estado actual de los conocimientos en éste campo de la patología. Dicha clasificación, es actualmente ampliamente aceptada y utilizada por la mayoría de los autores (TABLA 1.15).

La clasificación clínica más ampliamente utilizada, es la de la Asamblea General de la F.I.G.O. (79) en el año 1970.

TABLA 1.15Clasificación Histológica de los tumores del Ovario

- 
1. TUMORES EPITELIALES.
- 1.1 Tumores Serosos.
- 1.1.1 Benignos  
 \* Cistadenoma ó cistadenoma papilar  
 \* Papiloma superficial.  
 \* Adenofibroma ó cistoadenofibroma.
- 1.1.2. Borderline.  
 \* Cistadenoma y cistadenoma papilar.  
 \* Papiloma superficial  
 \* Adenofibroma y cistadenofibroma.
- 1.1.3. Malignos.  
 \* Adenocarcinoma, Adenocarcinoma papilar  
 ó Cistoadenocarcinoma papilar.  
 \* Carcinoma papilar superficial.  
 \* Adenofibroma maligno ó cistoadenofibroma maligno.
- 1.2. Tumores Mucosos.
- 1.2.1. Benignos.  
 \* Cistadenoma.  
 \* Adenofibroma y Cistoadenofibroma.
- 1.2.2. Borderline.  
 \* Cistoadenoma.  
 \* Adenofibroma y Cistoadenofibroma.
- 1.2.3. Malignos.  
 \* Adenocarcinoma y cistadenocarcinoma.  
 \* Adenofibroma maligno y Cistoadenofibroma maligno.
- 1.3. Tumores Endometrioides.
- 1.3.1. Benignos.  
 \* Adenoma y Cistoadenoma.  
 \* Adenofibroma ó Cistadenofibroma.
- 1.3.2. Borderline.  
 \* Adenoma ó Cistoadenoma.  
 \* Adenofibroma ó Cistoadenofibroma
- 1.3.3. Malignos.  
 \* Carcinoma:  
 Adenocarcinoma.  
 Adenoacantoma.  
 Adenofibroma maligno y cistoadenofibroma maligno.  
 \* Sarcoma estrómico endometrioides.  
 \* Tumores mesodermicos mixtos (Müllerianos).  
 Homólogos y Heterólogos.

TABLA 1.15  
(Continuación)

- 1.4. Tumores de células claras.
- 1.4.1. Benignos.  
\* Adenofibroma.
- 1.4.2. Borderline.  
\* Adenofibroma.
- 1.4.3. Malignos.  
\* Carcinoma y adenocarcinoma.
- 1.5. Tumores de Brenner.
- 1.5.1 Benignos.
- 1.5.2. Borderline.
- 1.5.3. Malignos.
- 1.6. Tumores Epiteliales mixtos.
- 1.6.1 Benignos.
- 1.6.2. Borderline.
- 1.6.3. Malignos.
- 1.7 Carcinoma Indiferenciado.
- 1.8. Tumores Epiteliales no clasificados.
- 2. TUMORES NO EPITELIALES.
- 2.1. Tumores del Estroma y de los Cordones sexuales
- 2.1.1. Tumores de células de la granulosa y la Estroma
- 2.1.1.1 Tumor de células de la Granulosa.
- 2.1.1.2. Tumores del grupo Tecoma-Fibroma.  
\* Tecoma.  
\* Fibroma.  
\* no clasificados.
- 2.1.2. Androblastomas: Tumor de células de Sertoli-Leydig.
- 2.1.2.1. Bien diferenciados.  
\* Androblastoma Tubular: Tumor de células de Sertoli (Adenoma Tubular de Pick).  
\* Androblastoma tubular con contenido líquido: Tumor de células de Sertoli con depósito lipídico (Foliculoma lipídico de Lecéne).  
\* Tumor de células de Sertoli-Leydig (adenoma tubular con células de Leydig)  
\* Tumor de células de Leydig.
- 2.1.2.2. Moderadamente diferenciado.
- 2.1.2.3. Pobremente diferenciado (Sarcomatoide)
- 2.1.2.4. Con elementos heterólogos.

TABLA 1.15  
(Continuación)

- 2.1.3. Ginandroblastoma
- 2.1.4. No clasificados.
- 2.2. Tumores de células Lipídicas.
- 2.3. Tumores de células Germinales.
  - 2.3.1. Disgerminoma.
  - 2.3.2. Tumor del seno endodérmico.
  - 2.3.3. Carcinoma Embrionario.
  - 2.3.4. Poliembrioma.
  - 2.3.5. Coriocarcinoma.
  - 2.3.6. Teratoma.
    - \* Inmaduro.
    - \* Maduro:
      - sólido.
      - quistico (quiste dermoide y quiste dermoide con transformación maligna)
    - \* Monodérmico y altamente especializado.
      - Estruma ovárico.
      - Carcinoide.
      - Estruma ovárico y carcinoide.
      - Otros.
- 2.4. Gonadoblastoma
  - 2.4.1. Puro.
  - 2.4.2. Mixto.
- 2.5. Tumores de tejidos blandos no específicos del ovario.
  - \* Angiosarcoma.
  - \* Rbdomiosarcoma
  - \* Linfosarcoma.
  - \* Sarcoma de células reticulares.
  - \* Leiomiosarcoma.
  - \* Fibrosarcoma.
  - \* Tumor Mesodérmico (mülleriano) mixto maligno, homólogo ó heterólogo.
  - \* Linfoma maligno.
  - \* Carcinoma mesonefrico (mesonefroma maligno).
- 2.6. Tumores no clasificados.
- 2.7. Tumores secundarios: (metastásicos).

TABLA 1.15  
(Continuación)

2.8. Condiciones que simulan un tumor ovárico.

- \* Luteoma del embarazo.
- \* Hiperplasia de la estroma ovárica e hipertecosis.
- \* Edema masivo.
- \* Quiste folicular solitario y quiste de cuerpo luteo
- \* Quiste folicular múltiple.
- \* Quiste foliculares luteinizados múltiple/ y/o cuerpo lúteo.
- \* Endometriosis.
- \* Quiste de inclusión en el epitelio de superficie.
- \* Quistes simples.
- \* Lesiones inflamatorias.
- \* Quistes para ováricos.

---

Tomado de SCULLY(186)

TABLA 1.16

## Clasificación clínica de los Tumores del Ovario

Estadio	Descripción
I	Crecimiento limitado a los ovarios.
Ia	Crecimiento limitado a un ovario: Sin ascitis. 1. Sin tumor en la superficie externa: Capsula intacta. 2. Tumor en superficie externa ó rotura de capsula (ó ambas cosas)
Ib	Crecimiento limitado a ambos ovarios: Sin ascitis. 1. Sin tumor en superficie externa. 2. Tumor en superficie externa ó rotura de capsula.
Ic	Tumor en estadio Ia ó Ib, pero con ascitis ó lavados peritoneales positivos.
II	Crecimiento que afecta a uno ó ambos ovarios con extensión pélvica.
IIa	Metástasis en utero ó trompas.
IIb	Extensión a otros tejidos pélvicos.
IIc	Tumor en estadio IIa ó IIb, pero con ascitis ó lavados peritoneales positivos.
III	Crecimiento que afecta a uno ó ambos ovarios con metástasis peritoneales fuera de la pelvis ó nodulos retroperitoneales positivos; tumor limitado a la pelvis real, con extensión maligna histológicamente demostrada al intestino delgado ó epiplon.
IV	Crecimiento que afecta a uno ó ambos ovarios con metástasis a distancia; si hay derrame pleural, la citología debe ser positiva para considerarse estadio IV; las metástasis hepáticas parenquimatosas equivalen a estadio IV.
Categoría especial: Casos no estudiados que se etiquetan cómo cancer de ovario	

Tomado de: FIGO (79)

Adenocarcinoma de endometrio.

La clasificación clínica del adenocarcinoma de endometrio más utilizada, es la de la FIGO(79); que se expresa en la TABLA 1.17.

TABLA 1.17  
Clasificación clínica del Adenocarcinoma  
de Endometrio.

Estadio	Criterio.
0	Carcinoma "in situ".Hallazgo histológicos sospechosos de malignidad.No debe incluirse en ninguna estadística terapéutica.
I	Carcinoma limitado al cuerpo uterino.
Ia	Tamaño uterino de 8cms.ó menos.
Ib	Tamaño uterino de más de 8 cms.
	Es aconsejable que los casos del estadio I sean agrupados de acuerdo con el tipo histológico del carcinoma:
G1	Carcinoma adenomatoso altamente diferenciado
G2	Carcinoma adenomatoso diferenciado con áreas sólidas.
G3	Carcinoma predominantemente sólido ó indiferenciado totalmente.
II	El carcinoma afecta; cuerpo del utero y al cervix,pero no se ha extendido fuera del útero.
III	Carcinoma extendido fuera del utero,pero no fuera de la verdadera pelvis.
IV	Carcinoma extendido fuera de la verdadera pelvis ó afectando mucosas vesical y rectal. El edema bulloso permite calificar un caso como estadio IV.
IVa	Extension del crecimiento a órganos vecinos(vejiga,recto sigma ó intestino delgado)
IVb	Extension a organos distantes.



### Neoplasias Testiculares.

Los tumores testiculares, fueron agrupados por KENT (129) en varios grupos: (TABLA 1.18).

TABLA 1.18.

Clasificación de los Tumores testiculares.

---

- 1.-Tumores del Estroma Gonadal.
  - 2.-Tumores del Cordon Espermático.
  - 3.-Tumores del Epidídimo y de las células germinales.
  - 4.-Linfomas.
  - 5.-Metástasis secundarias a melanomas malignos y canceres hepáticos.
- 

Los tumores de células germinales, pueden desarrollarse de forma unipotencial, dando lugar a los seminomas; ó de forma totipotencial con aparición de: Teratomas, carcinomas embrionarios, coriocarcinomas ó tumores del seno endodérmico. Son frecuentes los tumores mixtos.

### Neoplasias de la mama.

Entre las numerosas clasificaciones existentes del carcinoma de mama, destaca la propuesta por FISHER y cols (80) en 1975. La claridad de términos y su razonamiento histogenético la hacen considerablemente útil como elemento de trabajo, posibilitando además, el establecimiento de una adecuada comunicación entre el patólogo y el clínico.

La clasificación de FISHER, fué adoptada por el National Surgical Adjuvant Breast Cancer Project de los EE.UU., divide los tumores malignos de la mama en tres grandes grupos: (TABLA 1.18).

Esta clasificación contempla, al mismo tiempo, el origen del tumor (ductal ó lobulillar) y la presencia o no de infiltración del estroma. Los otros términos corresponden a tumores de diferenciación histológica definida, cuyo origen ductal y/ó lobulillar es controvertido.

TABLA 1.18

Clasificación de las neoplasias de la mama.

---

1.- CARCINOMAS NO INFILTRANTES.

1.1.- Intraductal.

1.2.- Lobulillar.

2.- CARCINOMAS INFILTRANTES.

2.1.- Ductal.

2.2.- Lobulillar.

2.3.- Medular.

2.4.- Mucinoso.

2.5.- Tubular.

2.5.- Adenoquistico.

2.7.- Papilar.

2.8.- Enfermedad de Paget.

2.9.- Carcinosarcomas.

2.10.-Tumores raros.

3.- SARCOMAS.

---

Tomado de : FISHER y cols.(80)

#### 1.1.4.- Diagnostico precoz de los tumores del aparato reproductor.

La profilaxis de los tumores malignos en general, conviene contemplarla cómo una serie de medidas dirigidas a evitar la enfermedad ó a interferir el curso natural de la misma, actuando de manera selectiva en las diferentes fases de su desarrollo. En éste sentido, importa distinguir, entre, deteccion y diagnóstico precoz, términos que, significando distintos aspectos del problema, suelen emplearse equivocadamente cómo sinónimos. Ni la detección ni el diagnóstico precoz, representan en realidad, una medida preventiva, si bien pueden contribuir decisivamente a mejorar el pronóstico de la enfermedad neoplásica.

Los progresos realizados en los últimos tiempos en el campo del diagnóstico precoz, se traducen lógicamente en una mayor eficacia terapéutica.

#### Enfermedad Trofoblástica.

En el caso de la enfermedad trofoblástica, el diagnóstico suele hacerse precozmente con el uso de la ecografía cómo exploración sistemática ante cual-

quier metrorragia postamenorrea en la mujer con edad fértil.

Ante la sospecha diagnóstica de coriocarcinoma, ya sea primario ó secundario, por la presencia de factores de riesgo; la titulación elevada de la fracción Beta de la H.C.G. mediante R.I.A., nos proporciona el dato patognomónico por su especificidad y selectividad. Según JONES (122), valores superiores a 2 microgr./ml (10 U.I./ml), señalan específicamente la presencia de tejido trofoblástico funcionando. Hay que tener en cuenta, que en las primeras catorce semanas de gestación, los valores de gonadotrofina coriónica en éstos casos, son muy elevados.

#### Neoplasias del ovario.

El diagnóstico precoz de las neoplasias del ovario nos plantea grandes dificultades por su localización intrabdominal, lo cual impide tener un acceso directo cómo en el caso del carcinoma de cervix, el de endometrio, el de la mama y el del testículo. Esta dificultad se explica además, por no existir ningún síntoma precoz específico. La clínica de los tumores del ovario está ligada a su tamaño, a la invasión de organos vecinos, o a los efectos derivados de la produc-

ción hormonal en aquellos tumores en que ésto ocurre.

En segundo lugar ,los tumores del ovario de pequeño tamaño, pueden pasar inadvertidos a la exploración clínica habitual, debido a su situación anatómopográfica; a lo que habría que añadir en muchas ocasiones, las dificultades que suponen la obesidad y la falta de colaboración de la paciente.

La citología vaginal que cómo facil de practicar en las grandes masas de población, tiene un gran interés en el diagnóstico de las neoplasias de algunos tractos del aparato genital femenino(cervix, endometrio) no tiene valor alguno en el diagnóstico y menos aún en el diagnóstico precoz de los tumores del ovario. Esta falta de fiabilidad de los resultados de la citología vaginal en el diagnóstico del cancer de ovario, ha sido puesto de manifiesto por diferentes autores, (182, 186, 204, 206).

El único método fiable, según GRAHAM(96), para demostrar la existencia de un carcinoma de ovario en estadio preclínico, consiste en la punción e inyección en el fondo de saco de Douglas de veinte ml de suero fisiológico y posterior estudio citológico del líquido aspirado.

A éste método, DUBRAUSZKY (60) no atribuye valor alguno. Según dicho autor, éste procedimiento sólo tendría fiabilidad cuando el tumor ha sobrepasado el ovario y se encuentren partículas tumorales en la cavidad abdominal, al igual que sucede en el caso de la citología del líquido ascítico.

Con el avance y perfeccionamiento de la ecografía, éste método va adquiriendo actualmente mayor importancia en el diagnóstico de los tumores del ovario, sin embargo, hasta el momento no ha demostrado su utilidad en el diagnóstico precoz. Ha sido también utilizada la laparoscopia ginecológica, aunque por un lado no constituye un método de diagnóstico precoz y por otro no permite su empleo indiscriminadamente como método de screening de toda la población.

El método más seguro para descartar un carcinoma de ovario sigue siendo la laparotomía exploradora, la cual, está indicada siempre que por métodos más sencillos no pueda descartarse con seguridad su existencia; si bien, en la mayoría de las ocasiones, el hallazgo consiste en un carcinoma en estado avanzado.

De todo lo anteriormente expuesto, podemos deducir que con la exploración clínica habitual, sumada

a las exploraciones especiales, en la mayor parte de las ocasiones el diagnóstico de los cánceres de ovario es, generalmente tardío.

#### Adenocarcinoma de endometrio.

El síntoma más precoz del carcinoma de endometrio está representado por la hemorragia, a menudo discreta y por eso mismo mal valorada por médicos y pacientes; lo que explica que entre el comienzo de las manifestaciones clínicas y el diagnóstico definitivo suele transcurrir bastante tiempo. La aparición de una metrorragia aislada, incluso mínima, en circunstancias que se suponen de riesgo, debe obligar a la inmediata aplicación de medidas diagnósticas tendentes a determinar su origen.

Mucho menos común es la presencia de dolor abdominal (3%) y cuando aparece, va indefectiblemente ligado a la expulsión de coágulos y formaciones poliposas o grandes fragmentos hísticos desprendidos.

Es fundamental pues, el estudio de factores de riesgo y la definición de grupos de personas especialmente propensas a desarrollar la enfermedad, a las que se les aplicarían métodos de investigación selec-

tivos.

La técnica más utilizada y exacta, se basa en la obtención directa de material celular y fragmentos hísticos de la cavidad uterina, mediante legrado biopsia y estudio anatomopatológico.

Los llamados signos indirectos, que expresamos en la TABLA 1.19, constituyen, sin embargo, un elemento importante en la detección precoz de las neoplasias endometriales. Su eventual presencia en los frotis, debe interpretarse como factor adicional de riesgo y por tanto, indicativo de la práctica de nuevos y más específicas exploraciones.

TABLA 1.19

Signos citológicos indirectos sugerentes  
de carcinoma de endometrio.

---

- 1.- Presencia de células endometriales en la 2ª mitad del ciclo ó en la postmenopausia.
  - 2.- Trofismo vaginal aumentado.
  - 3.- Hematías.
  - 4.- Histiocitos en ausencia de infección.
-

En las mujeres asintomáticas, la citología realizada según técnica convencional, resulta generalmente inadecuada para la detección del cancer de endometrio, según McGOWAN (154) y NAIB (159).

Otros métodos de estudio citológico como por ejemplo, la toma directa por cepillado endometrial (156), el arrastre de células por irrigación de la cavidad uterina y aspirado bajo presión negativa (97) ó el simple microlegrado lineal con cureta de NOVAG, pueden alcanzar en cambio, un estimable grado de exactitud y siguen siendo métodos fundamentales para el diagnóstico precoz en colectivos de alto riesgo ó en pacientes con síntomas mínimos de enfermedad; (41, 228 y 239).

#### Neoplasias del testículo.

El carcinoma testicular como en el caso de la patología mamaria, presenta un fácil y directo acceso, pero en este caso, no están indicadas las punciones para biopsias, porque ésta maniobra puede facilitar la diseminación hemática del tumor (129).

El diagnóstico diferencial de las masas testi-

culares deberá hacerse en cualquier caso, con los hidroceles, varicoles, hematoceles, periorquitis y orquiepididimitis. Si persisten dudas sobre el diagnóstico, se debe realizar una exploración quirúrgica con una orquitectomía subinguinal alta, (129).

### Neoplasias de la Mama.

Un porcentaje importante de los carcinomas de mama, son descubiertos inicialmente por la propia mujer, a pesar de que la mayoría, no practican el autoexamen de sus mamas, por lo que el descubrimiento de la enfermedad en éstas mujeres, es accidental y casi siempre tardío.

Creemos que para lograr una mayor supervivencia, y dado que no disponemos de ningún medio diagnóstico sencillo, barato, inocuo, de gran rendimiento y especificidad; nuestros esfuerzos deben de dirigirse a los grupos de mujeres que tienen un alto riesgo de padecer el cancer de mama.

Hacia la mitad de la década de los sesenta, GERSHON-COHEN y cols(88) y STEVEN Y WEIGEN (208), consideraron el uso de la mamografía como método imprescindible para el diagnóstico del cancer de mama con

resultados muy alentadores. El valor de la técnica radiológica, ha aumentado en los últimos años, gracias a las mejoras de los equipos radiográficos especialmente diseñados para éste fin.

La Xerografía, como sugiere WOLF(243), es una simple variación de la mamografía, en la cual se usan las mismas películas de rayos "x" para producir la imagen. En éstos casos, se utiliza una placa cargada de selenio, siendo el resultado final, una imagen mamográfica sobre papel. La mayoría de los radiólogos, opinan que las microcalcificaciones se ven mejor en la placa de xeromamografía, pero que los tumores se identifican más fácilmente en la mamografía.

La termografía como técnica para el diagnóstico precoz, tiene como inconveniente, el elevado porcentaje de falsos positivos y negativos, por lo que no debe emplearse nunca, de forma aislada.

Una de las técnicas más eficaces para el diagnóstico precoz del carcinoma de mama, es la citología y biopsia por punción aspiración; sin embargo, el diagnóstico de certeza nos lo proporciona el estudio histopatológico de la pieza tumoral.

1.1.5.- Métodos bioquímicos e inmunológicos en el diagnóstico y seguimiento de las neoplasias de aparato reproductor.-

Una de las características más notables de los tejidos neoplásicos, es su capacidad de expresarse antigénicamente. Esta propiedad, que no es específica ni compartida por igual por todos los tumores, ha sido aprovechada en la clínica con fines diagnósticos. El hecho de que éstas glucoproteínas "reaparezcan" en el curso de un proceso de cancerización sería debido, según GOLD (89), a un fenómeno de "reversion antigénica". Es decir, reaparición en los tejidos neoplásicos de unos antígenos que, en condiciones fisiológicas, solo se encuentran en tejidos inmaduros. Sabemos hoy día que la actividad genética, se desarrolla por medio de un proceso molecular controlado, gracias al cual una información codificada, es transcrita en forma de mensaje. Dichos mensajes son captados por el citoplasma celular, originando en él, la síntesis de una cadena macromolecular, proteica ó antigénica de naturaleza específica.

Durante el desarrollo neoplásico, los tejidos, se desorganizan y sus células experimentan un proceso

que ha dado en llamarse "retrodiferenciación", pudiendo así expresarse de nuevo, algunos de los mensajes genéticos fetales y placentarios que habían quedado suprimidos. Por analogía con los que se observan en las primeras fases del desarrollo embrionario y fetal, han sido denominados: Carcinoembrionarios y oncoplacentarios.

En muchos casos ha podido observarse también, la presencia en el plasma de modificaciones de los niveles de algunas enzimas e isoenzimas. Las técnicas de Radioinmunoanálisis han contribuido de forma decisiva, a la demostración de macromoléculas de origen tumoral, llamadas impropriamente, antígenos tumorales asociados. Es importante recordar que tales sustancias, aunque sintetizadas por células malignas, carecen de poder inmunogénico, siendo por tanto, incapaces de provocar respuestas específicas en el huésped.

A ésta categoría pertenecen la alfa-fetoproteína, el antígeno carcinoembrionario, la glucosulfoproteína, la fosfatasa alcalina (isoenzima de Regan), la alfa-2-H ferroproteína y el antígeno carcino-glial: (36, 86).

Otros autores, han señalado la presencia de macromoléculas (antígenos) tumorales, asociados en

el melanoma maligno, carcinoma de cervix y de ovario; entre ellos: BARLOW y cols (13) y GALL y cols(86).

Tendríamos, por lo tanto, la necesidad de encontrar un marcador tumoral circulante en plasma ó excretado por la orina, que pudiera proporcionar algún dato para alcanzar precozmente el diagnóstico de cualquier neoplasia.

Este marcador, sería el ideal, si fuese específico de cada tipo de tumor y que fuera valorable de forma sensible y específica. Al mismo tiempo el marcador, debería guardar correlación con la magnitud del tumor, y que actuase como parámetro de evaluación de la eficacia terapéutica. La desaparición de ese marcador mensurable equivaldría a la curación.

Los tumores del aparato reproductor, presentan con mucha frecuencia la capacidad de producir sustancias antigénicas, que pueden ser utilizadas como marcadores bioquímicos, de la presencia del tumor, de su crecimiento, de la evolución de la enfermedad y de la respuesta terapéutica. El inconveniente más importante es que los utilizados hasta el momento carecen de especificidad y con frecuencia, aparecen reacciones cruzadas que constituyen un serio obstáculo para su uso como

prueba diagnóstica, según señalan KNAPP y cols (136).

Los marcadores tumorales empleados hasta ahora con mayor frecuencia son:

\* Lactodeshidrogenasa: HIDES Y JUNG (131), estudiaron el valor de la lactodeshidrogenasa (L.D.H.) y su isoenzima, en el diagnóstico de los tumores del ovario, en los que encontraron un aumento de la actividad L.D.H. y de la fracción anaerobia I. La actividad total es mayor en el líquido ascítico que en el suero de las mismas pacientes. En los casos de malignización de los quistes de ovario, la actividad comparativa en suero no siempre se encuentra elevada.

\* Fosfatasas ácidas y alcalinas: HIDES (132) examinando el valor de las fosfatasas ácidas y alcalinas en diversos fluidos orgánicos de pacientes con tumores genitales, llegó a la conclusión, de su escasa utilidad para establecer el diagnóstico y el pronóstico de la enfermedad.

\* Leucinaminopeptidasa: KIDES y UMBEHAUN (133), demostraron la ausencia de modificaciones experimentadas por la leucinoaminopeptidasa (L.A.P.), tanto en el plasma, como en el líquido ascítico de pacientes con neo-

plasias ováricas.

\* Gonadotropina Córionica: La gonadotropina coriónica, proteína producida por el sincitiotrofoblasto, es uno de los marcadores tumorales más ampliamente utilizados y mejor estudiado. Su aplicación más importante es en el diagnóstico y sobre todo el seguimiento postratamiento de la enfermedad trofoblástica, donde se ha mostrado cómo el mejor parámetro bioquímico de control, por su estrecha correlación existente entre la desaparición en el plasma y la curación de la enfermedad.

Igual que en la enfermedad trofoblástica, la fracción Beta de la H.C.G., junto con la alfa-feto proteína, es actualmente el marcador de elección para el diagnóstico y seguimiento de las neoplasias del testículo, según afirma KENT (129), y especialmente las de tipo general.

En el cáncer de ovario, ha sido demostrada su presencia tanto en el suero como en el líquido ascítico y de derrame pleural; si bien, su utilidad como marcador tumoral en éste tipo de neoplasias, a diferencia de lo que ocurre en la enfermedad trofoblástica, es nula.

\* Isoenzima de Regan: La isoenzima de Regan, agrupa a una familia de enzimas que corresponde a variantes de la fosfatasa alcalina, que se observa en la placenta humana a término. FISHAN(82) ha demostrado la existencia de dicha isoenzima en mujeres portadoras de diferentes tipos de neoplasias genitales, si bien, no se ha podido establecer una relación entre su presencia y el pronóstico de la enfermedad.

\* Antígeno de BJORKKLUND: El antígeno de Bjorklund, descrito por BALLON en 1979 (12), es una glucoproteína de origen embrionario producida por la placenta humana, que ha podido ser demostrado en el 50% de las pacientes con neoplasias del ovario, aunque tampoco ha demostrado tener gran utilidad como marcador tumoral.

\*  $\alpha$ -feto-proteína: A menudo está aumentada en pacientes portadoras de carcinomas epiteliales del ovario, pero también en el caso de otros tumores de tipo endodérmico, lo cual sugiere, que es expresión de los tumores procedentes de tumores del saco vitelino. ABELEV (2) comprobó el aumento de A.F.P. en quince de veinte pacientes con teratoma malignos del ovario y testículo, siendo en éstos últimos, donde actualmente presenta una de las aplicaciones más útiles como marcador tumoral, relacionado con la eficacia del tratamiento y la aparición de recidivas. (129)

\* Antígeno Carcino Embrionario: DiSAIA y cols.(55) identificaron el antígeno carcino embrionario (C.E.A.) en el 50% de las mujeres con cancer ginecológico invasor y en más del 80% de las mujeres que presentaban un carcinoma recurrente, especialmente en el carcinoma de ovario de tipo Mülleriano,seudomucinosos y tumores germinales,aunque sus titulaciones distaron mucho de ser constantes:Di SAIA y cols(55) DONALSON y cols(59) y VAN NAGEL y cols(231).El valor diagnóstico que puede asignarsele desde el punto de vista de reconocimiento precoz del tumor ó del estudio del grado de extensión,es muy escaso: (13,59)

La enorme capacidad de las neoplasias mamarias de producir una gran variedad de sustancias ectópicas, merece dedicarlas un comentario conjunto.

La determinación de antígenos tumorales asociados,isoenzimas u hormonas cómo método de diagnóstico biológico de las neoplasias de la mama,ocupa actualmente un lugar secundario en la práctica clínica.El verdadero valor de los marcadores biológicos,reside en la monitorización de la eficacia terapéutica y a largo plazo mediante programas de comprobación seriada, en la detección precoz de recidivas y metástasis,(237)

Son múltiples el número de sustancias implicadas en éstos hechos, TABLA 1.20, si bien los marcadores más comúnmente identificados en el carcinoma de mama son: El antígeno-carcinoembrionario(C.E.A.), fosfatasa alcalina y la gamma-glutamil transferasa, alcanzando en general concentraciones significativamente elevadas en un 65% y en un 45% de casos de enfermedad local ó metastásica respectivamente, segun datos de WAALKES y cols(233) y COOMBES y cols(42).

La persistencia de niveles de C.E.A. plasmáticos por encima de los 35 ng/ml, despues del tratamiento quirúrgico definitivo, constituye un índice bastante fiable de progresión de la enfermedad y coincide casi sin excepcion, con el desarrollo de nuevos focos neoplásicos locales a distancia.

Los estudios de CHU Y NEMOTO(52) y WAALKES y TORMEY(233), han puesto de manifiesto que los valores plasmáticos de C.E.A. varían de acuerdo con el volumen y la extensión del tumor y sobre todo con el lugar de afectación metastásica: El órgano que presenta mayores índices de positividad es el hígado, seguido de los huesos y pulmon; correspondiendo en cambio a los tejidos blandos en nivel más bajo.

TABLA 1.20.

## Marcadores biológicos de la mama

- 
- \* Antigenos Oncofetales (C.E.A.; alfa-fetoproteína; a<sub>2</sub>H-fetoproteína-ferritina)
  - \* Hormonas (H.C.G.)
  - \* Enzimas (fosfatasa alcalina placentaria, sialiltransferasa y prolilhidroxilasa)
  - \* Productos Histicos Mamarios: (caseína) y Metabólicos : (Poliaminas y nucleosido)
  - \* Grupo Misceláneo (Proteínas Plasmáticas; hidroxiprolinas, calcitoninas).
- 

Tomado de: COOMBES Y NEVILLE (42) y WAALKES y TORMEY (233)



## 1.2.- PROTEINAS ONCO-PLACENTARIAS.

### 1.2.1.- Referencia histórica.

Desde el descubrimiento de la Gonadotrofina Coriónica Humana (H.C.G.) por ASCHEIN y ZONDEK (9) en 1927 y el aislamiento del Lactógeno placentario (H.P.L.) por JOSIMOVICH y MACLAREN(125) en 1962 se han aislado del plasma de gestantes y de extractos placentarios un gran número de sustancias, la mayor parte proteínas, que pueden ejercer función de hormonas (TRH, LH-Rh, Relaxina...etc.), enzimas (17- Hidroxisteroide Deshidrogenasa...), activadores (activador del plasminógeno), inhibidores (inhibidor de las proteasas), proteínas de transporte y almacenamiento (ferritina, lactoferrina), proteínas inmunorreguladoras, receptores (insulina, transcobalamina...) y proteínas estructurales (fibronectina, colágeno...). Sin embargo, ha sido durante los últimos veinte años cuando se han descubierto un gran número de nuevas proteínas que fueron inicialmente denominadas "Proteínas Placentarias", ya que se pensaba que eran sintetizadas exclusivamente por la placenta humana.

### 1.2.2.- Clasificación.

En la actualidad las "proteínas placentarias" de nueva generación se clasifican según BOHN(32) en tres grandes grupos;(TABLA 1.21): 1. Proteínas de la gestación(pregnancy proteins); 2. Proteínas solubles de la placenta(Soluble placental tissue proteins); y 3. Proteínas placentarias solubilizadas asociadas a la membrana(Solubilized membrane-associated placental tissue proteins).

TABLA 1.21

Clasificación de las proteínas Onco-placentarias

---

I.-	<u>Proteínas de la gestación</u> (Pregnancy Proteins)
	1.1. Proteínas específicas(Pregnancy Specific Proteins)
	1.2. Proteínas asociadas(Pregnancy associated plasma proteins )
II.-	<u>Proteínas Solubles.</u> (Soluble placental tissue proteins)
III.-	<u>Proteínas Solubilizadas Asociadas a la Membrana</u> (Solubilized Placental Tissue Proteins).

---

1.2.2.1.-Proteínas de la gestación (Pregnancy proteins): Estas proteínas se caracterizan porque o están ausentes, ó aparecen en muy pequeña cantidad en el suero normal; mientras que durante la gestación pueden ser detectadas en el plasma en concentraciones muy elevadas. Dentro de éste grupo, BOHN(32) distingue dos subgrupos (TABLA 1.22): Las proteínas específicas de la gestación (Pregnancy specific proteins) y proteínas asociadas a la gestación (Pregnancy associated proteins).

Las proteínas específicas de la gestación, fueron definidas inicialmente como proteínas de aparición exclusiva durante el embarazo. En la actualidad, si bien sigue manteniéndose su denominación genérica, han sido detectadas por KLOPPER y AHMED(135) en el plasma de mujeres en fase preovulatoria así como en el líquido folicular. En éste grupo se incluían tres proteínas: La Pregnancy Specific B<sub>1</sub> Glycoprotein (PSB<sub>1</sub>G) ó Schwangerschaftsprotein 1 (SP<sub>1</sub>); la SP<sub>2</sub> y la Pregnancy Zone Protein (P.Z.P.) ó alfa<sub>2</sub>-glycoprotein ( $\alpha_2$ -PAG) ó SP<sub>3</sub>. Actualmente se sabe que la SP<sub>2</sub> es idéntica a la SHBG y que la PZP ó SP<sub>3</sub> no es producida por la placenta aunque se encuentra presente en ella en pequeña cantidad y que aparece a bajas concentraciones en el suero normal. Por ello, el grupo de las proteínas específicas de la

TABLA 1.22

## Proteínas de la gestación.

Clasificación	Nombre y sinónimos
<b>I. PROTEINAS ESPECIFICAS</b>	
PSB <sub>1</sub> G	<ul style="list-style-type: none"> <li>* Pregnancy Specific B<sub>1</sub>Glycoprotein(PSBG)</li> <li>* Pregnancy associated plasma protein C ó (PAPP-C)</li> <li>* Schwangerschaftsprotein 1 (S P<sub>1</sub>)</li> <li>* Trophoblast-Specific B<sub>1</sub>Globulin(TSG)</li> </ul>
SP <sub>2</sub>	<ul style="list-style-type: none"> <li>* Schwangersschats protein 2 (S P<sub>2</sub>)</li> <li>* Steroid Binding B Globulin (S B B G)</li> <li>* Sex Hormone Binding Globulin(SHBG)</li> </ul>
$\alpha_2$ PAG	<ul style="list-style-type: none"> <li>* <math>\alpha_2</math>-glycoprotein (<math>\alpha_2</math>-PAG)</li> <li>* Schwangerschaftsprotein 3 (SP<sub>3</sub>)</li> <li>* Pregnancy Zone Protein (P.Z.P.)</li> <li>* Pregnancy associated macroglobulin(PAM)</li> </ul>
<b>II. PROTEINAS ASOCIADAS</b>	
PAPP-A	* Pregnancy associated plasma protein A
PAPP-B	* Pregnancy associated plasma protein B
B <sub>1</sub> -PAM	* Pregnancy associated B <sub>1</sub> macroglobulin
$\alpha_2$ -PAM	* Pregnancy associated $\alpha_2$ macroglobulin

Modificado de BOHN (32)

gestación incluye exclusivamente a la P.S.B<sub>1</sub>G. ó SP<sub>1</sub>, glucoproteína denominada también por LIN y cols(146) PAPP-C y por TATARINOV (218) Trophoblast-specific B<sub>1</sub> Glycoprotein (TSG).

Las proteínas asociadas a la gestación (pregnancy associated plasma proteins) son cuatro: La pregnancy associated plasma protein A (PAPP-A), la pregnancy associated plasma protein B (PAPP-B), la pregnancy associated B<sub>1</sub> macroglobulin (B<sub>1</sub>-PAM) y la pregnancy associated alfa<sub>2</sub> -macroglobulin ( $\alpha_2$ -PAM). Las dos primeras, PAPP-A y PAPP-B fueron descritas por LIN y cols(146). La B<sub>1</sub>-PAM y  $\alpha_2$ -PAM han sido aisladas recientemente por STIMSON y FARQUHARSON (210,211).

#### 1.2.2.2.-Proteínas solubles de la placenta

##### (Soluble placental tissue proteins):

Este tipo de proteínas han sido definidas, como aquellas que pueden ser extraídas del tejido placentario, pero al contrario que las proteínas de la gestación, su secreción hacia la sangre periférica es muy escasa.

Se han aislado y caracterizado hasta éste momento, un gran número de ellas. Se representan genéricamente por las siglas "PP" y se han numerado consecutivamente. Se han descrito alrededor de cuarenta, las

mejor conocidas son las veintiuna primeras. Todas ellas ha sido aisladas y caracterizadas por BOHN (32).

1.2.2.3.-Proteínas placentarias solubilizadas asociadas a la membrana. (Solubilized Placental Tissue Proteins): Estas proteínas han sido descritas y extraídas por BOHN (30) de la fracción insoluble de la placenta con agentes solubilizantes, una vez eliminada la fracción soluble. Hasta el momento se han detectado once diferentes antígenos, los cuales se han denominado, membrane associated proteins; se designan con la abreviatura MP y se han numerado consecutivamente. Estas proteínas son escasamente conocidas y hasta el momento, no han podido ser purificadas o caracterizadas bioquímicamente.

1.2.3.- Estructura y propiedades fisicoquímicas.

Proteínas de la gestación.-(TABLA 1.23). La única proteína que representa a éste grupo es la P. S.B<sub>1</sub>G. Es una glucoproteína de 90.000 Daltons de peso molecular, con un coeficiente de sedimentación de 4.5S, un punto isoelectrico de 4.1 y una movilidad electroforética B<sub>1</sub>. Su contenido en carbohidratos es el 29.3% (26).

TABLA 1.23

Características fisico-químicas de las  
proteínas de la gestación.

Proteínas	Propiedades Fisico-Químicas			
	movilidad electrof.	Peso Molecular	Punto Isoelectrico	contenido de carbohidratos
<b>I. PROTEINAS ESPECIFICAS</b>				
P.S.B.G.	B <sub>1</sub> ( $\alpha_2$ )	90.000 (200.000) (400.000)	4.1	29.3
<b>II. PROTEINAS ASOCIADAS.</b>				
$\alpha_2$ -PAG	$\alpha_2$	360.000	4.7	12.2
PAPP-A	$\alpha_2$	750.000	4.4	19.2
PAPP-B	B <sub>1</sub>	1.000.000	4.6	?
B <sub>1</sub> -PAM	B <sub>1</sub>	1.500.000	?	?
$\alpha_2$ -PAM	$\alpha_2$	2.100.000	?	10

En 1978, TEISNER y cols(222) descubrieron en el plasma de mujeres gestantes la existencia de dos glucoproteínas, parcialmente idénticas, con determinantes antigénicos comunes a la P.S.B<sub>1</sub> G., si bien, presentaban diferente movilidad electroforética. Una con movilidad B<sub>1</sub> y peso molecular de 90.000 Daltons que correspondía a la P.S.B<sub>1</sub> G. y otra, caracterizada posteriormente por WESTERGAARD y cols(241) con movilidad  $\alpha$  y de un peso molecular próximo a los 400.000 Daltons. Con el fin de distinguirlas, fueron denominadas SP<sub>1</sub> B, la P.S.B<sub>1</sub> G. y SP<sub>1</sub>  $\alpha$  la nueva glucoproteína. Posteriormente AHMED y cols(5) y HINDERSON y cols(105) demostraron que la SP<sub>1</sub> B y SP<sub>1</sub>  $\alpha$  corresponden a dos fracciones de la misma molécula. Recientemente HILLER y JONES(104) han aislado una tercera fracción SP<sub>1</sub>  $\gamma$ .

Dentro del grupo de las proteínas asociadas, la pregnancy zone globulin( $\alpha_2$ -PAG) es una  $\alpha_2$ -glucoproteína con un peso molecular de 360.000 Daltons, un coeficiente de sedimentación de 12 y un punto isoelectrico de 4.7. Su contenido en carbohidratos es del 9.9%, (232)

Las pregnancy associated plasma proteins A (PAPP-A) y B (PAPP-B) fueron descritas por LIN Y cols(146). Ambas son proteínas de elevado peso molecular

con una movilidad electroforética  $\alpha_2$  y  $B_1$  respectivamente. La PAPP-A es una glucoproteína con un contenido en carbohidratos del 19,2% mientras que la proporción en carbohidratos es aún desconocida en el caso de la PAPP-B.

Las dos últimas proteínas de éste grupo, son la pregnancy associated  $B_1$  macroglobulin ( $B_1$ -PAM) y la pregnancy associated  $\alpha_2$  macroglobulin, ambas recientemente descritas por STIMSOM y FARQUHARSON (210, 211). Ambas son glucoproteínas de elevado peso molecular y en la actualidad, se desconocen gran parte de sus características físico-químicas.

Proteínas solubles (PP): Todas las proteínas de éste grupo son glucoproteínas cuyo contenido en carbohidratos oscila entre el 0,6% ( $PP_{13}$ ) y el 19,8% ( $PP_5$ ), mientras que sus pesos moleculares se encuentran entre 25.000 de la  $PP_{12}$  y 1.000.000 de la  $PP_6$ . Sus características físico-químicas más importantes, se exponen en la TABLA 1.24.

Proteínas solubilizadas (MP): Su reciente asilamiento por BOHN (30) ha impedido un detallado conocimiento de sus propiedades físico-químicas. Está contida por un grupo de complejos glucoproteicos cuyos

TABLA 1.24

Características físico-químicas de las  
proteínas solubles (PP)

Nomenclatura	Sinónimos	Propiedades Físico-químicas		
		Movilidad Electrof.	Peso Molecular	% contenido de carbohidratos
PP <sub>1</sub>	Ferritina	$\alpha_1$	160.000	2.7
PP <sub>2</sub>		$\alpha_2$	500.000	-
PP <sub>3</sub>		$\alpha_2$	100.000	-
PP <sub>4</sub>		$\alpha_2 - \alpha_1$	35.000 *	2.4
PP <sub>5</sub>	Inhibidor de las proteasas	B <sub>1</sub>	36.200 **	19.8
PP <sub>6</sub>		$\alpha_1$	1.000.000 **	6.6
PP <sub>7</sub>	Glutathion s transferasa	2 <sup>-</sup> B <sub>1</sub>	37.100 **	5.4
PP <sub>8</sub>		$\alpha_1$	45.000 **	4.1
PP <sub>9</sub>		B <sub>1</sub>	35.000 **	5.6
PP <sub>10</sub>		$\alpha_1$	48.000 **	6.6
PP <sub>11</sub>		$\alpha_1$	43.300 **	3.9
PP <sub>12</sub>	CAG-1	$\alpha_1$	25.200 **	4.3
PP <sub>13</sub>		Albumina	30.000 **	0.6
PP <sub>14</sub>	CAG-2	$\alpha_2 - \alpha_1$	43.000 **	17.5
PP <sub>15</sub>		Albumina	30.700 **	3.3
PP <sub>16</sub>		Albumina	46.000 *	4.3
PP <sub>17</sub>		$\alpha_2 - B_1$	30.300 **	2.1
PP <sub>18</sub>		B <sub>1</sub>	82.300 **	2.3
PP <sub>19</sub>		$\alpha_1 - B_1$	36.500 **	3.9
PP <sub>20</sub>		> Albumina	52.100 **	2.9
PP <sub>21</sub>		B <sub>1</sub>	52.900 **	19.2

\* Determinado mediante electroforesis

\*\* Determinado mediante ultracentrifugación.

Tomado de BOHN (32)

pesos moleculares oscilan entre 200.000 y 1.000.000 Daltons. Sus características más importantes se expresan en la TABLA 1.25

TABLA 1.25

Características fisico-químicas de las proteínas solubilizadas

Proteína	Propiedades fisico-químicas		
	Movilidad Electroforet.	Peso Molecular	Contenido en carbohidratos %
MP <sub>2</sub>	$\alpha_2$ -B <sub>1</sub>	200.000-1.000.000	8%
MP <sub>3</sub>	B <sub>1</sub>	750.000	-
MP <sub>4</sub>	B <sub>1</sub> -B <sub>2</sub>	300.000	-
MP <sub>5</sub>	$\alpha_1$ - $\alpha_2$	300.000	+
MP <sub>6</sub>	B <sub>2</sub>	100.000	+
MP <sub>7</sub>	$\alpha_2$	100.000	+

Tomado de BOHN (32)

#### 1.2.4.- Lugar de producción.

Estas proteínas fueron denominadas inicialmente "proteínas placentarias", por haber sido aisladas e identificadas, primero, en el plasma sanguíneo de mujeres gestantes y posteriormente en extractos placentarios. Las primeras publicaciones al respecto reflejaron la exclusiva producción de éstas proteínas por la placenta, si bien posteriormente, han sido detectadas algunas de ellas en el plasma sanguíneo de mujeres no embarazadas, en varones normales, en pacientes portadores de neoplasias e incluso ROSEN y cols.(170,172), han demostrado su producción por fibroblastos cultivados "in vitro".

HORNE y cols.(180) mediante inmunofluorescencia indirecta y WALSTROM y cols.(235) mediante inmunoperoxidasas, han puesto de manifiesto la existencia de P.S.B.G. en el sincitiotrofoblasto de la placenta humana y en el trofoblásto de la mola hidatiforme y del coriocarcinoma; por otra parte HEIKINHEIMO y cols.(103) han demostrado su síntesis por sincitiotrofoblasto humano cultivado "in vitro". Por otra parte, ROSEN y cols.(172) y YANG CHOU y cols.(247) han demostrado la producción "in vitro" de P.S.B.G. en treinta y dos líneas celulares diferentes, procedentes de diferentes

tipos tumorales (carcinomas, glioblastomas, fibrosarcomas). Si bien no hay referencia de su localización inmunohistoquímica en el testículo, ha sido descrita en el plasma seminal de varones portadores de teratoma maligno del testículo (121).

La alfa<sub>2</sub> -PAG aparentemente no deriva de la placenta, su aparición en extractos placentarios parece ser debida a su constante presencia en la sangre materna (32).

Se ha demostrado la síntesis de alfa<sub>2</sub> -PAG en cultivos in vitro de leucocitos y macrófagos del hígado, bazo y retículo endotelial humanos. Por otra parte, ha sido identificada en los leucocitos de la sangre periférica así como en los hepatocitos, de los cuales, actualmente se piensa que podría ser la principal fuente de producción del organismo humano (232).

La PAPP-A ha sido localizada, mediante técnicas inmunohistoquímicas, en el sincitiotrofoblasto de la placenta humana (147). Inicialmente se pensó que se trataba de una proteína producida exclusivamente por la placenta; la duda surgió cuando SMITH y cols (203) demostraron idéntica concentración de PAPP-A en sangre periférica y en la sangre de la vena uterina, mientras que

en las mismas gestantes encontraban niveles más bajos de PAPP-A en sangre retroplacentaria; lo que apuntaba a la posible existencia de una fuente extraplacentaria de producción de PAPP-A, que posteriormente fué confirmada cuando SINOSICH y cols(201) demostraron la presencia de PAPP-A en el líquido folicular de mujeres no embarazadas. Por otra parte, ha sido demostrada su existencia en el endometrio decidualizado(21), en el plasma seminal y recientemente, por técnicas inmunocitoquímicas, en las células de Leydig y en las células epiteliales de la rete testis (25).

La PAPP-B, proteína peor conocida que la PAPP-A, ha sido también localizada en el sincitiotrofoblasto de la placenta humana por LIN y cols.(147).

La  $B_1$ -PAM se demostró mediante inmunofluorescencia en el sincitiotrofoblasto y aunque no ha sido detectada en sujetos normales, ha podido ser demostrada su presencia en sujetos con neoplasias ováricas(209, 211). La  $\alpha_2$ -PAM, por el contrario, es detectable en sujetos normales(32).

Todas las proteínas solubles han sido aisladas de la placenta y la mayor parte de ellas demostradas mediante técnicas inmunohistoquímicas en los dife-

rentes compartimentos (70,71,113,191) de la placenta humana. Por otra parte, PP<sub>5</sub>; PP<sub>10</sub>; PP<sub>11</sub>; PP<sub>12</sub>; PP<sub>13</sub> y PP<sub>17</sub> no han podido ser demostradas en extractos de otros tejidos humanos, por lo que para BOHN (32) son más ó menos específicas de la placenta. En contraste, PP<sub>7</sub>; PP<sub>8</sub> y PP<sub>9</sub> se han encontrado en todos los tejidos humanos. La PP<sub>15</sub> no ha podido ser aún investigada, por no disponerse actualmente del antisuero específico y la PP<sub>14</sub> ha sido detectada en el endometrio y en el plasma seminal (166).

Finalmente, todas las proteínas solubilizadas han sido aisladas en extractos de placenta humana y si bien han sido insuficientemente estudiadas, PAGE-FAULK y McINTYRE (163), han descrito algunas de ellas en las microvellosidades del sincitiotrofoblasto, en el citotrofoblasto endovascular e intersticial y en el amniocorion.

#### 1.2.5.-Las proteínas placentarias durante la gestación.

Desde hace varias décadas, se ha investigado exhaustivamente en la búsqueda de uno ó varios parámetros bioquímicos, que reflejasen de forma eficaz la función de la unidad feto-placentaria y el estado fetal.

Si bien hasta el momento no se ha encontrado ningún marcador fidedigno de dicha función, son numerosos los grupos ocupados de investigar la utilidad que las proteínas onco-placentarias podrían tener en éste sentido.

1.2.5.1.- Niveles plasmáticos: La característica común de todas las proteínas onco-placentarias durante la gestación normal, excepto la H.C.G., es su concentración creciente en el plasma sanguíneo a medida que avanza el embarazo. Son muy numerosos los trabajos realizados hasta éste momento, lo cual ha permitido conocer con gran precisión su distribución (64,65,127, 147,173,194,223,225).

Se ha tratado de establecer la relación existente entre los niveles plasmáticos de éstas proteínas con diferentes parámetros obstétricos y neonatales, fundamentalmente con el peso placentario y del neonato; siendo contradictorios los resultados obtenidos hasta el momento (17,69).

Sin embargo, el mayor interés despertado por las proteínas placentarias en cuanto a su aplicación en Obstetricia, ha sido sin duda, la búsqueda de modificaciones de sus niveles plasmáticos en las diferentes

situaciones patológicas concomitantes con el embarazo, con el fin de conocer su utilidad como marcadores bioquímicos de la función feto-placentaria y del estado fetal (68). Así, la P.S.B.G. se ha demostrado como un buen indicador del estado del concepto en la amenaza de aborto (66,116,126,183), mientras que no ofrece mayor utilidad que otros parámetros, en el control de la diabetes gravídica (53,67), en las gestantes con hipertensión arterial (61), en el síndrome del R.C.I. (54,62), en el embarazo prolongado (63) y cómo no resulta un buen parámetro en la predicción del riesgo fetal (78). La elevación de la  $PP_5$  por encima del rango de normalidad, resulta de gran utilidad para el diagnóstico precoz y profilaxis del parto prematuro (176,178) y del abrupcio placentae (177,179).

Al igual que ocurre con la  $PP_5$ , una elevación de los niveles de PAPP-A por encima del rango de normalidad, debe hacer sospechar precozmente la génesis de una toxemia (111,134), mientras que la ausencia de ésta proteína, es patognomónica del síndrome de Cornelia de Lange (100).

El resto de las proteínas onco-placentarias han sido escasamente estudiadas durante la gestación. Se conocen las concentraciones plasmáticas durante



la gestación normal y la distribución en el líquido amniótico y sangre fetal de la PP<sub>14</sub> (127) y de la PP<sub>12</sub> (173), pero aún no se han realizado estudios de sus modificaciones en las situaciones patológicas inherentes a la gestación.

1.2.5.2.- Funciones: Las funciones que se han postulado sobre las proteínas onco-placentarias durante la gestación han sido de cinco tipos: Endocrinas, metabólicas, inmunológicas, transportadoras de otras sustancias y hematológicas (coagulación).

Como funciones de la P.S.B.G. se han propuesto, las de: agente inmunosupresor (40), proteína transportadora de estrógenos (27) y la de hormona implicada en el metabolismo de los hidratos de carbono (67, 220).

La PZP ha demostrado tener propiedades inmunosupresoras en tests "in vitro" (232) y se piensa que podría jugar un papel importante en el transporte de estrógenos durante la gestación, ya que se ha demostrado, cómo sus niveles ascienden en mujeres tratadas con terapias estrogénicas, mientras que descienden en aquellas que se trataron con gestágenos y cortisol (232).

De la PAPP-A, BISCHOF (18) ha demostrado que

ejerce un efecto inmunosupresor por inhibir la actividad del complemento, así como reduce el tiempo de transformación de los linfoblastos a linfocitos (22), efectos, que eventualmente podrían acrecentar la tolerancia inmunológica del feto por la madre, como consecuencia de una disminución local de las defensas maternas.

De la  $PP_5$  se demostró su capacidad para formar complejos de gran peso molecular con la heparina, inhibir la plasmina y poseer propiedades antitripsina; todas ellas similares a las que posee la antitrombina III (68). Por otra parte, SIITERI y cols (197) refieren la existencia de interacción inmunológica entre la urocinasa y la  $PP_5$ , por la gran analogía existente entre ésta proteína y el UKI ó inhibidor de la urocinasa de la placenta humana. Finalmente, la actividad antiplasmina de la  $PP_5$  está en relación con la observación de SALEM y cols (177), los cuales, la encuentran muy elevada en todos los casos de abruptio placentae, donde se forman depósitos diseminados de fibrina seguidos de una elevada fibrinólisis, siendo muy posible que los niveles elevados de  $PP_5$  en éstas pacientes desempeñan un importante papel en el mantenimiento de la homeostasis.

Las funciones de la  $PP_{12}$  y de la  $PP_{14}$  son

en la actualidad desconocidas, de ellas, únicamente se sabe que la PP<sub>12</sub> es dependiente de la progesterona y quizás sea el signo biológico de la respuesta del endometrio a la estimulación ovárica de la progesterona (196).

Para GORDON y CHARD (93) el proponer una u otra función para las proteínas placentarias, sería razonable si se tratase solamente de un pequeño número de proteínas. Teniendo en cuenta el gran número de proteínas identificadas, éstos autores propusieron una hipótesis que en caso de ser aceptada, simplificaría enormemente el problema de la función de éstas proteínas. Para estos mismos autores (93) éstas proteínas no tendrían ninguna función biológica esencial para la madre o el feto, sino que serían simplemente productos de un proceso más fundamental concerniente al funcionamiento y mantenimiento de la placenta como organismo individual e independiente. Utilizando las mismas palabras de los autores: "La producción de proteínas placentarias indicaría simplemente que la placenta se encuentra presente".

1.2.5.3.- Significación clínica: En 1982, CHARD (49) propuso la clasificación de las proteínas placentarias, teniendo en cuenta su significación clínica, en dos grandes grupos:

\*Grupo I: Agruparía a aquellas proteínas que tienen como factor común el hecho de que sus actividades (hormonales y enzimáticas) son ejercidas en un lugar distante de la placenta (enzimas, esteroides, H.C.G., H.P.L., P.S.B.G.).

\*Grupo II: Por el contrario, las actividades de éste grupo se ejercerían localmente (inmuno-supresoras y anticoagulantes) ya que hasta el momento, no hay evidencia de que ejerzan ninguna actividad significativa en la circulación periférica (PAPP-A y PP<sub>5</sub>).

En 1985, CHARD Y GRUDZINKAS (49), a la vista de los progresos realizados durante los años anteriores en el aislamiento de nuevas proteínas, proponen la creación de un tercer grupo:

\*Grupo III: Incluye a todas aquellas proteínas que no siendo específicas del embarazo, presentan sin embargo, un ascenso llamativo durante la misma. Se trata de proteínas producidas por tejidos maternos como el hígado (PZP) ó por el endometrio/decídua (PP<sub>12</sub> - PP<sub>14</sub>).  
(TABLA 1.26)

TABLA 1.26

Clasificación funcional de las proteínas placentarias

Grupo I	Grupo II	Grupo III
Enzimas	PP <sub>5</sub>	Proteínas ligadoras
Esteroides	PAPP-A	PZP ó $\alpha_2$ -PAG
H.C.G.;H.P.L.		PP <sub>12</sub> ;PP <sub>14</sub>
P.S.B.G.		

Tomado de CHARD Y GRUDZINKAS(49)

Desde el punto de vista clínico, unos niveles bajos de las proteínas que forman parte del grupo I indicaría que el feto se encuentra en situación de "riesgo" ,aunque no informarían sobre la causa que le daría origen.En definitiva,éstas proteínas,revelarían la existencia de patología fetal (TABLA 1.27).

Por el contrario, las proteínas del grupo II reflejan estrictamente "patología placentaria",en el sentido de que unos niveles elevados se asociarían con situaciones específicas que afectarían a la placenta, reflejando alteraciones bioquímicas,que darían lugar a patología placentaria mucho antes de que pueda hacerse patente la aparición de patología fetal.

TABLA 1.27

Características biológicas y significación clínica de los diferentes grupos de proteínas placentarias.

	Grupo I	Grupo II	Grupo III
LUGAR DE PRODUCCION	Trofoblasto	Trofoblasto	Higado materno ó Endometrio/decid.
MECANISMOS DE CONTROL	Masa trofoblastica y flujo utero-placentario	Masa trofoblastica, flujo utero placentario y otros factores	Estrógenos placentarios y Progesterona
FUNCIONES POSTULADAS	Hormonal y Enzimática	Local(Inmunitaria y coagulac.)	Proteínas transportadoras de pequeña molecula
SIGNIFICACION CLINICA	Reducidas en presencia de patología fetal(CIR-SFA)	Elevadas en presencia de patología placentaria (abruptio, preeclampsia, parto prematura)	Reflejan la respuesta materna a la gestación

Tomado de CHARD Y GRUDZINKAS (49)

En cuanto a los componentes del grupo III, actualmente se piensa que podrían proporcionar información diagnóstica importante, especialmente en lo que se refiere a las anomalías de la gestación precoz.

### 1.2.6.- Las proteínas onco-placentarias como marcadores tumorales.

Uno de los grandes retos de la medicina actual, es el diagnóstico precoz de la neoplasias. Un gran número de grupos de investigación dirige sus esfuerzos hacia la búsqueda de nuevos marcadores tumorales que permitan realizar grandes "screening" de población, con el fin de poder diagnosticar precozmente y de forma fácil y económica los diferentes tipos de neoplasias.

El desarrollo de técnicas sensibles y sofisticadas como el R.I.A., han permitido el estudio masivo de muestras de plasma o suero, en la búsqueda de diferentes sustancias producidas de forma ectópica ó específica por los tumores. Tradicionalmente han sido la Gonadotrofina Coriónica, especialmente la subunidad Beta (Beta-H.C.G.) y el Antígeno Carcinoembrionario (CEA), los mejores y más ampliamente estudiados.

El aislamiento de algunas proteínas onco-placentarias en el suero de pacientes portadoras de enfermedades neoplásicas, ha despertado un enorme interés y la esperanza de muchos investigadores en el sentido de que algunas de ellas, pudieran ser utilizadas en el diagnóstico precoz de los tumores, especialmente

de los de origen genital.No obstante,el interés no se centra exclusivamente en su empleo para el diagnóstico precoz,sino también,como marcadores tumorales capaces de evaluar la eficacia terapéutica,la aparición de metástasis y el pronóstico.

#### 1.2.6.1.- Niveles plasmáticos en sujetos

normales: La P.S.B.G. es una proteína que habitualmente no aparece en el plasma sanguíneo de sujetos normales,si bien algunos autores empleando radioinmunoanálisis altamente sensible,han descrito su presencia (6,188,195) en un pequeño porcentaje de casos.

La  $\alpha_2$ -PAG se encuentra presente en la circulación sanguínea de todas las personas,encontrándose sus niveles directamente relacionados con la edad.Sin embargo,no aparece existir correlación,ni con la paridad,ni con los niveles de gonadotropina, ni con los niveles de estrógenos (232).(TABLA 1.28)

La presencia de PAPP-A en el plasma de sujetos normales ha sido ampliamente discutida.En los trabajos iniciales de SINOSICH y cols,(200,201) sólo pudo ser detectada la presencia en la circulación periférica de PAPP-A en el 1.5% de los casos,sin embar-

go éstos mismos autores, la detectan en más del 90% de los fluidos y secreciones humanas estudiadas, incluidos el plasma seminal y el líquido folicular. El desarrollo por BISCHOF y cols(19) de un método de R.I.A. altamente específico, ha permitido demostrar la presencia de PAPP-A en la circulación periférica tanto de varones, como de mujeres normales no embarazadas.

La  $B_1$ -PAM no ha podido ser detectada en el plasma sanguíneo de varones normales y solamente en el 2% de mujeres sanas no embarazadas. Por el contrario, la  $\alpha_2$ -PAM está presente en todos los sujetos normales, no existiendo diferencias significativas entre los niveles en el varón y la mujer(211).

TABLA 1.28  
Niveles plasmáticos de  $\alpha_2$ -PAG en sujetos normales

	Media	Rango
Mujer Joven (15-24 años)	10 mg/l.	5-25 mg/l.
Mujer Adulta(55-64 años)	100 mg l.	10-200mg/l.
Hombre Joven(15-24 años)	8 mg/l	5-15 mg/l.
Hombre Adulto(55-64años)	20 mg/l	5-40 mg/l

Tomado de von SCHOULTZ, B y STIGBRAND, T (232)

El grupo de las proteínas solubles ha sido peor estudiado en su conjunto que las anteriores. Hasta el momento, no han sido detectadas en el plasma sanguíneo de mujeres sanas no embarazadas ni de varones sanos; ni la PP<sub>5</sub>, PP<sub>11</sub>, PP<sub>13</sub> ni la PP<sub>17</sub>. Las comprendidas entre la PP<sub>15</sub> y PP<sub>21</sub>, no han podido aún ser estudiadas por no haberse desarrollado un método de determinación plasmática eficaz.

Por el contrario, la PP<sub>10</sub> y la PP<sub>14</sub> se encuentran presentes en el plasma sanguíneo de todos los sujetos normales (30, 127). En el caso de la PP<sub>12</sub>, RUTANEN y cols. (173) la han descrito en el plasma de todas las mujeres sanas no embarazadas, mientras que sólo está presente en el 71% de los varones (TABLA 1.29).

TABLA 1.29

Niveles plasmáticos de PAPP-A;  $\alpha_2$ -PAM; PP<sub>10</sub>; PP<sub>12</sub> y PP<sub>14</sub> en el plasma sanguíneo de sujetos normales

Proteínas	Varones	Mujeres	Autores
PAPP-A (ng/ml)	117 <sup>±</sup> 17	137 <sup>±</sup> 28	BICHOF y col (23)
$\alpha_2$ -PAM ( $\mu$ g/ml)	25.5 <sup>±</sup> 7.6	25.3 <sup>±</sup> 9.8	STIMSOM Y FARQUASOB (211)
PP <sub>10</sub> (mUI/l)	-	0.006	BOHN (31)
PP <sub>12</sub> ng/ml	12.8 <sup>±</sup> 3.5	19.0 <sup>±</sup> 7.8	RUTANEN Y cols. (173)
PP <sub>14</sub>	-	15 <sup>±</sup> 40	JULKUNEN y cols. (127)

1.2.6.2.- Niveles plasmáticos en la enfermedad trofoblástica:

\*Subunidad Beta de la H.C.G.: La enfermedad trofoblástica ha sido asociada tradicionalmente a la secreción de H.C.G., por lo que la B-H.C.G. es el marcador preferentemente empleado en el control pretratamiento de este tipo de enfermedad.

\*Pregnancy Specific B<sub>1</sub> Glycoprotein: Casi desde su aislamiento se ha utilizado en el estudio de la evolución y seguimiento de la enfermedad trofoblástica. la cauística más numerosa es la de TATARINOV y SOKOLOV (216,217 y 219), si bien muchos autores han comunicado sus resultados (91,92,143,144,184,193,216,217, 219 y 227). Al hacer una revisión de la literatura al respecto (TABLA 1.30), puede observarse cómo la P.S.B.G. se encuentra presente en el plasma del 88.2% de los pacientes con coriocarcinoma y en el 92.8 de los que presentan una mola hidatiforme. Sin embargo, la P.S.B.G. se ha estudiado exhaustivamente en comparación con la B-H.C.G. en pacientes con enfermedad trofoblástica, con el fin de discernir cual de los dos parámetros refleja con mayor fiabilidad la eficacia del tratamiento, la aparición de metástasis, la existencia de residuos tumorales, etc... . Para ELVERS y cols (75) la B-H.C.G. sería mejor indicador de la presencia de tumores trofoblásticos que la P.S.B.G., ya que en su experiencia, de cien casos positivos a la B.H.C.G.

TABLA 1.30

Presencia de P.S.B.G. en el plasma de pacientes con enfermedad trofoblástica.

Autores	CORIOCARCINOMA		MOLAS		Referen.
	Nº Casos	% Posit.	Nº casos	% Post.	
TATARINOV y SOKOLV, 1977	12	66.6	91	76.9	(216)
TATARINOV, Y.S.; 1978 y 79	60	80.0	38	73.3	(216,217)
SEARLE y cols.; 1978	27	59.2	--	--	(188)
SCHUSIER Y WEPPELMANN, 1979	7	100.0	--	--	(184)
SEPPALA y cols 1978	17	100.0	8	100.0	(193)
LEE y cols; 1981	9	100.0	14	100.0	(143)
LEE y cols.; 1982	10	100.0	21	100.0	(144)
TSAKOK y cols.; 1983	--	--	31	100.0	(227)
GONZALO y cols.; 1983,84	1	100.0	3	100.0	(91,92)
Total	143	88.2 %	206	98.8 %	

sólo encontraron treinta y seis positivos a la P.S.B.G. y de veintiun plasmas B-H.C.G. negativos, sólo uno de ellos fué positivo a la P.S.B.G.. Por el contrario, para SCHUSTER (185) y SEARLE(188), la P.S.B.G. sería de gran utilidad en aquellos casos en que hay ausencia de B-H.C.G.. Finalmente para HO y MA (106), la determinación de P.S.B.G. en el líquido cerebroespinal de pacientes con enfermedad trofoblástica, es especialmente útil en el diagnóstico de metástasis cerebrales y para SEP-PALA y cols (193) y BOHN (29) tendría un gran valor en el diagnóstico precoz de la aparición de metástasis ó de la existencia de tumores residuales.

En cualquier caso, todos los autores admiten que la P.S.B.G. asociada al estudio de la B.H.C.G. en el diagnóstico, control pretratamiento y evolución de la enfermedad trofoblástica, ofrecen en la actualidad la máxima eficacia.

\*Pregnancy Associated Plasma Protein-A: La PAPP-A ha sido escasamente estudiada en la enfermedad trofoblástica, posiblemente, debido a las conclusiones extraídas en el trabajo de BISCHOF y cols.(20), los cuales concluyen en que a pesar de que en todos los casos estudiados la PAPP-A presentaba elevaciones significativas, su empleo no aportaba ninguna ventaja sobre la B-H.C.G. y la P.S.B.G..

\*Placental Protein 5 (PP<sub>5</sub>): La PP<sub>5</sub> ha sido estudiada en el plasma de pacientes con enfermedad trofoblástica, con una frecuencia mucho menor que la B-H.C.G. ó la P.S.B.G.. Si bien la PP<sub>5</sub> fué detectada por varios autores (99,143,144) en el 100 % de las pacientes con mola hidatiforme, la mayor parte de ellos (99,143,144 y 194), la encuentran ausente en las pacientes con coriocarcinoma (TABLA 1.31).

TABLA 1.31

Presencia de PP<sub>5</sub> en el plasma de pacientes con enfermedad trofoblástica

Autores	<u>CORIOCARCINOMA</u>		<u>MOLAS</u>		Ref.
	Nº casos	% positiv.	Nº c.	% Post.	
SEPPALA y cols, 1979	5	0.0	3	33.3	(194)
GRUDZINKAS y cols 1980	-	-	3	100.0	(99)
LEE y cols.; 1981	9	0.0	14	100.0	(143)
LEE y cols.; 1982	10	0.0	21	100.0	(144)
NISBET y cols. 1982	2	100.0	11	54.5	(161)
TSAKOK y cols 1983	-	-	31	100.0	(227)
Total	26	7.6	83	81.3	

El hallazgo más importante en opinión de SEPPALA y cols.(194) y LEE y cols.(143) es que la presencia en el plasma de niveles elevados de B-H.C.G. y de P.S.B.G., asociados a la ausencia de PP<sub>5</sub>, serían reflejo de la existencia de trofoblasto maligno; es decir, que en el caso de la enfermedad trofoblástica, los niveles plasmáticos de PP<sub>5</sub> permitirían valorar la capacidad invasiva del trofoblasto.

El trabajo más completo realizado hasta el momento es el de TSAKOK y cols.(227), los cuales determinan en el plasma de treinta y una mujeres con mola hidatiforme, B-H.C.G.; P.S.B.G.; PP<sub>5</sub> y PAPP-A, encontrando niveles elevados en todos los casos estudiados; si bien en siete mujeres de su casuística, se desarrolló posteriormente un coriocarcinoma y en tres de ellas, metástasis pulmonares, no encontrando éstos autores ningún valor predictivo de las determinaciones en ninguno de los casos.

\*Placental Proteins 12 (PP<sub>12</sub>): La única publicación existente hasta el momento, referida al estudio de los niveles plasmáticos de la PP<sub>12</sub> en la enfermedad trofoblástica, es la de RUTANEN y cols.(173), los cuales tras estudiar veinte pacientes con coriocarcinoma y ocho con molas hidatiformes y encontrar en sólo algunos casos niveles elevados, concluyen en que

la  $PP_{12}$  no es un buen marcador de la enfermedad trofoblástica.

En cuanto a la  $\alpha_2$ -PAG ó PZP, la  $\alpha_2$ -PAM, la  $B_2$ -PAM, la  $PP_{10}$  y la  $PP_{14}$ , no existe hasta el momento en la literatura, ninguna referencia sobre su cuantificación plasmática en pacientes con enfermedad trofoblástica.

1.2.6.3.- Niveles plasmáticos en las neoplasias del ovario: Los tumores malignos del ovario pueden sintetizar y secretar una gran variedad de proteínas fetales y placentarias ectópicas (TABLA 1.32). La detección de éstas moléculas, tanto en las células tumorales como en el plasma de éstas pacientes, ha permitido evaluar la capacidad que como marcadores tumorales presentan éstas sustancias y su utilidad en la evaluación de las pacientes con neoplasias ováricas.

Los marcadores tumorales más ampliamente estudiados han sido: La B-H.C.G. (33, 169, 180, 212 y 229), el H.P.L. (180), el antígeno carcinoembrionario (14, 55, 92, 130, 145, 192, 212) y la alfa-fetoproteína. (145, 192)

El aislamiento y caracterización de las protei-

TABLA 1.32

Proteínas fetales y placentarias producidas por  
tumores no trofoblásticos del ovario

Proteína	% de tumores	autor/Referencia
H.C.G.	42	ROSEN y cols.(169)
H.C.G.	50	STONE y cols.(212)
H.C.G.	41	SAMAAN y cols.(180)
H.C.G.	0	BRAUSTEIN y cols.(33)
H.C.G.	40	VAITUKAITIS(229)
H.P.L.	76	SAMAAN y cols.(180)
C.E.A.	35	STONE y cols.(212)
C.E.A.	36	BARRELET y cols.(14)
C.E.A.	44	Di SAIA y cols.(55)
C.E.A.	67	KHOO y MACKAZ (130)
C.E.A.	28	LEVIN y cols.(145)
C.E.A.	21	SEPPALA y cols.(192)
A.F.P.	0	LEVIN y cols.(145)
A.F.P.	1 caso	SEPPALA y cols.(192)

Modificada de CROWTHER y cols.(48)

nas placentarias permitió que, desde finales de los años setenta, numerosos grupos se hayan interesado por la utilidad de éstas proteínas como marcadores tumorales en las neoplásias ováricas.

\*Pregnancy Specific B<sub>1</sub> Glycoprotein: Cuando se realiza una revisión de la literatura, se observa que de trescientas dieciseis pacientes con tumores malignos del ovario estudiadas por los diferentes autores (48, 92, 184, 188, 214, 217, 219, 244 y 245), tan sólo el 14,6% de las pacientes presentaron unos niveles plasmáticos detectables de P.S.B.G (TABLA 1.33).

Sin embargo, es preciso tener en cuenta algunos hechos importantes. El más importante, es que salvo CROWTHER y cols. (48) y GONZALO y cols. (92) que describen el tipo histológico de los tumores de los ovarios estudiados, el resto de los autores no hacen mención a tan importante dato. CROWTHER y cols. (48) encontraron niveles detectables en cinco pacientes, de las cuales tres, correspondieron a mujeres con carcinomas serosos, una presentaba un endometrioides y la quinta, un carcinoma indiferenciado. Estos últimos autores encontraron en dos casos niveles positivos de B-H.C.G. (un carcinoma seroso y uno mucoso) pero que sin embargo, no coincidían con ninguna de las pacientes que tenían niveles plasmáticos de P.S.B.G.

TABLA 1.33

Presencia en el plasma de P.S.B.G. en pacientes con  
tumores malignos del ovario.

Autor	Numero	% Positivos	Referen.
TATARINOV y cols, 1976	149	00.0	(214)
TATARINOV 1977	6	17.0	(217)
SEARLE y cols. 1978	17	70.5	(188)
TATARINOV, 1979	6	00.0	(219)
SCHUSTER Y WEPPELMAN, 1979	38	23.7	(184)
CROWTHER y cols. 1979	37	13.5	(48)
WURZ , 1979	14	85.7	(244)
WURZ y cols. 1979	12	50.0	(245)
GONZALO y cols. 1983	37	00.0	(92)
TOTAL	316	14.6	

Otro hecho importante a destacar es que en los primeros estudios realizados, especialmente los de TATARINOV y cols.(214,217), no se había perfeccionado aún un buen método de R.I.A. para la determinación de P.S.B.G., por lo que podría ocurrir que por dificultades metodológicas se hubiera producido algún falso negativo.

Finalmente, es en la casuística de SEARLE y cols.(188) donde mayor porcentaje de plasmas P.S.B.G. positivos se obtienen(70.5). Sin embargo es preciso resaltar que tan sólo el 11.8% de los pacientes presentaban niveles superiores a 3  $\mu\text{g/l.}$ , límite aceptado por la mayoría de los autores de aquel momento.

Los resultados obtenidos por los diferentes autores(TABLA 1.33), están de acuerdo con SEARLE y cols.(188) cuando afirman el escaso valor que tiene la P.S.B.G. en la monitorización de las neoplasias del ovario.

Sobre el papel que la presencia de P.S.B.G. podría jugar en las neoplasias malignas del ovario, se ha postulado por TATRA (221), que por sus propiedades inmunosupresoras demostradas por JOHANNSEN y cols.(119) y por CERNI y cols.(40) in vitro, la producción de ésta proteína por tumores malignos, podría impedir el recono-

cimiento inmunológico del tumor por el organismo y de ésta forma facilitar su crecimiento. Si ésta hipótesis se confirmase, la capacidad de síntesis de proteínas inmunosupresoras de los tumores malignos podrían ser el factor determinante de la supervivencia de las pacientes.

\*Pregnancy Associated Plasma Protein-A: La PAPP-A ha sido estudiada por BISCHOF y cols.(20) en veintitres mujeres con neoplasias ováricas, encontrando unos niveles medios de 280,4 ng/ml.(rango:12-850 ng/ml) y no existiendo diferencias estadísticamente significativas con los niveles plasmáticos de sujetos normales. Los resultados de BISCHOF y cols(20) han permitido afirmar a ROSEN(172) el escaso valor que éste parámetro tiene en el estudio de las neoplasias ováricas.

No se han realizado estudios, en el plasma sanguíneo de mujeres con neoplasias ováricas, de  $\alpha_2$ -PAG;  $\alpha_2$ -PAM; PP<sub>5</sub>; PP<sub>10</sub>; PP<sub>12</sub> y PP<sub>14</sub> que permitan aventurar la posibilidad de servir como marcadores en éste tipo de tumores.

1.2.6.4.-Niveles plasmáticos en el carcinoma de endometrio: El carcinoma de endometrio es posiblemente la neoplasia menos estudiada, desde el punto de vista de las proteínas onco-placentarias.

Sólo tenemos referencia del estudio de un caso, por WURZ y cols.(245), los cuales estudiaron la presencia de P.S.B.G.,  $\alpha_2$ -PAG, A.F.P.; B-H.C.G. y C.E.A., en un grupo de tumores entre los que se encontraba un sólo caso de carcinoma de endometrio; por lo que no es posible establecer ningún patrón.

BISCHOF y cols.(20) estudian los niveles plasmáticos de PAPP-A en dos mujeres con carcinoma de endometrio, no encontrando diferencias significativas respecto del grupo de control.

1.2.6.5.-Niveles plasmáticos en las neoplasias del testículo: El estudio más completo sobre la presencia en plasma de proteínas oncoplacentarias de pacientes portadoras de tumores testiculares, es el de ROSEN y cols.(171), los cuales detectaron la presencia de P.S.B.G., en el plasma del 17.8% de los pacientes que presentaron tumores no seminomatosos. Además, los niveles existentes en éstos pacientes, se encontraron significativamente elevados con respecto al grupo de control. Por el contrario, no encontraron P.S.B.G. en ninguno de los pacientes con seminomas ó con orquitis que estudiaron. (TABLA 1.34).

Por otra parte, TATARINOV en 1978(217) detec-

tó la presencia de P.S.B.G. en el plasma de un paciente (33.0%) con un corioteratoma testicular y en 1979 (219) describe la existencia de un 8.5% de pacientes con carcinomas testiculares con niveles detectables de P.S.B.G. (TABLA 1.35). Finalmente, BISCHOF y cols. (20) estudiaron los niveles de PAPP-A en ocho sujetos con carcinoma testicular, no encontrando diferencias estadísticamente significativas con el grupo de control.

TABLA 1.34

Presencia de P.S.B.G. en el plasma de pacientes con tumores testiculares

Tipo histológico	Número	% Positivos
SEMINOMAS	24	00.0
CORIOCARCINOMAS	6	50.0
CARCINOMAS EMBRIONARIOS	50	10.0
TERATOCARCINOMAS	17	29.4

Tomado de ROSEN y cols. (171)

En resumen, en los datos registrados en

La literatura, se han detectado niveles plasmáticos de P.S.B.G. en el 30% de los Teratocarcinomas testiculares (n=20), en el 50% de los coriocarcinomas (n=6) y en el 9% de los carcinomas testiculares (n=97).

1.2.6.6.-Niveles plasmáticos en la neoplasias de la mama : Uno de los parámetros actualmente más empleados como factor pronóstico en la evolución de las neoplasias mamarias, son los receptores de estrógenos (R.E.), si bien su papel en la actualidad es controvertido. Numerosos autores(84,101) han comunicado que aquellas pacientes con tumores que contenían receptores estrogénicos positivos, presentaban un intervalo libre de enfermedad superior a aquellas cuyos tumores eran receptores estrogénicos negativos. Sin embargo, otros autores han demostrado, que cuando se estudia la supervivencia a largo plazo, no sólo hay diferencias, sino que en algunos casos presentan peor pronóstico.

En la actualidad, ha despertado un gran interés el estudio de las proteínas onco-placentarias en pacientes portadoras de neoplasias mamarias, especialmente su valor pronóstico, su utilidad como marcadores tumorales y su relación con la presencia de receptores estrogénicos.

\*Gonadotrofina coriónica: La subunidad Beta de la H.C.G. ha sido estudiada en el plasma de pacientes con neoplasias mamarias por WURZT y cols.(245) y encontrando niveles positivos en el 16% de los casos.

\*Pregnacy Specific B<sub>1</sub> Glycoprotein: La presencia de P.S.B.G. en el plasma de mujeres con neoplasias mamarias varían según los diferentes autores, mientras que para WURZ y cols.(245) y SEARLE y cols.(188) oscila entre el 22 y el 29% respectivamente (TABLA XVI), para HORNE y cols.(110) aparece solamente en el 5,4% de los casos. Sin embargo, es preciso comentar, que cuando se estudia la caústica de HORNE, se observa que la P.S.B.G. fué negativa en todos los casos de neoplasias mamarias en un estadio muy avanzado, mientras que fué positiva en el 11% de los casos en aquellas pacientes que presentaban cancer de mama sin tumor residual.

Por otra parte, SEARLE y cols.(188) y HORNE y cols. (110) han detectado la presencia de P.S.B.G. en el plasma de un 12% de mujeres con patología mamaria benigna, lo que pone en tela de juicio su utilidad como marcador tumoral en éste tipo de neoplasias.

TABLA 1.35

Presencia de P.S.B.G. en el plasma de mujeres  
con neoplasias mamarias

Autores	Nº Total de casos	% Positivos	Referencia
WURZ y cols. 1979	75	29.0	(245)
SEARLE y cols.1979	27	22.0	(188)
HORNE y cols. 1979	37	5.4	(110)

\*  $\alpha_2$ -PAG: La  $\alpha_2$ -PAG ha sido estudiada en el plasma de mujeres con neoplasias mamarias, fundamentalmente por STIMSON (209) el cual, encuentra una buena correlación entre las concentraciones de  $\alpha_2$ -PAG y la evolución de la enfermedad, así como la utilidad de ésta proteína en el diagnóstico de la aparición de metástasis. Dos años más tarde BAUER y cols. (15) confirmaron los resultados obtenidos por STIMSON.

\*PAPP-A: BISCHOF (20) analizando los resultados obtenidos en la determinación plasmática de PAPP-A en mujeres con neoplasias mamarias, no encontró diferencias estadísticamente significativas con el grupo de control.

\*PP<sub>10</sub> y PP<sub>12</sub> : Han sido estudiadas únicamente por WURZ y cols.(246) los cuales han comunicado que un 85% de las ciento tres mujeres con neoplasias mamarias presentaban niveles plasmáticos elevados de PP<sub>10</sub> mientras que solamente un 20% de ellas presentan niveles detectables de PP<sub>12</sub> y siempre dentro del rango de normalidad.

1.2.6.7.-Niveles plasmáticos en otras neoplasias: Las proteínas onco-placentarias han sido también estudiadas, en el plasma de individuos con neoplasias de localización extragenital. Si bien la mayor parte de los trabajos adolecen de presentar una casuística escasa y de utilizar diferentes umbrales de sensibilidad del método de determinación (RIA); hemos recopilado doscientos veintiun casos de neoplasias de diferentes localizaciones (TABLA 1.36), estudiadas por los autores que se expresan en la TABLA 1.37.

Resultan llamativas las diferencias obtenidas por los diferentes autores, destacando especialmente los resultados de WURZ (244), el cual detecta P.S.B.G en el plasma del 82% de los pacientes con carcinomas pulmonares y en el 79% de los afectados por un mieloma múltiple, en contraste con los datos publicados por

TABLA 1.36

Presencia de P.S.B.G. en el plasma sanguíneo de  
pacientes con diversas neoplasias no genitales

Localización de la neoplasia	Nº Total de casos	% de casos positivos
Pulmón	19	5.20
Hígado	14	0.00
Tracto grasto Intestinal	65	15.30
Mielomas	57	79.00
Melanomas	20	0.00
Miscelánea	46	32.60

TABLA 1.37

Presencia de P.S.B.G. en el plasma sanguíneo de  
pacientes con diversas neoplasias no genitales según  
diferentes autores

Autores	Nº total de casos	% Positivos	Referencia
TATARINOV, 1978-79	102	1.9	(217,219)
SEARLE y cols. 1978	31	32.3	(188)
WURZ, 1979	88	77.2	(244)

TATARINOV (217,219), quien detecta P.S.B.G., solamente en el 1.25% de los casos de carcinoma pulmonar. Estas grandes diferencias podrían haber sido debidas a diferencias metodológicas en la técnica de determinación.

En conjunto, la P.S.B.G. estuvo presente en el plasma sanguíneo del 36.8% de las pacientes con neoplasias no genitales estudiadas, lo que sugiere una elevada proporción si tenemos en cuenta los datos expresados en los capítulos anteriores. (TABLA 1.38)

En cuanto a la PAPP-A, BISCHOF y cols. (20) la estudiaron en el plasma de sesenta y nueve pacientes con diferentes tipos de neoplasias no genitales, encontrando PAPP-A en todos los plasmas estudiados, pero siempre dentro de los niveles existentes en los sujetos normales.

#### 1.2.6.8. Análisis conjunto de los resultados:

Del análisis conjunto de los resultados sobre el estudio de los niveles plasmáticos de las proteínas onco-placentarias en los diferentes tipos de neoplasias, publicado en la literatura y recopilados por nosotros, se extraen algunas consecuencias dignas de comentar: En primer lugar, la casuística publicada hasta el presente es muy escasa (1.098 casos estudiados con la P.S.B.G., mien-

TABLA 1.38

Presencia de diferentes proteínas onco-placentarias en el plasma sanguíneo de pacientes portadoras de diferentes tipos de neoplasias

Tipo de neoplasia	P.S.B.G.		PAPP-A		PP <sub>5</sub>		PP <sub>10</sub>		PP <sub>12</sub>	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Enf.Trofoblástica	349	90.5	3	100.0	109	44.5	-	-	20	10.0
N.del ap.reproductor	528	17.5	43	0.0	-	-	103	85.0	103	0.0
*Ováricas	316	14.6	23	0.0	-	-	-	-	-	-
*Ad.de endometrio	-	-	2	0.0	-	-	-	-	-	-
*Testiculares	73	16.4	8	0.0	-	-	-	-	-	-
*de la mama	139	21.5	10	0.0	-	-	103	85.0	103	0.0
Neoplasias no genitales	221	36.8	69	0.0	-	-	-	-	-	-
TOTAL	1.098		115		109		103		123	



tras que las otras proteínas no superan los ciento veinte casos cada una) por lo que resulta muy difícil extraer conclusiones definitivas. Por otra parte, no se ha realizado ningún estudio con la PP<sub>14</sub>, por no disponerse en la actualidad de un método de determinación plasmática adecuado. En segundo lugar, la P.S.B.G. presenta una gran utilidad como marcador de la enfermedad trofoblástica. Sin embargo su escasa presencia en plasma de pacientes con tumores del aparato reproductor, no permite a nuestro juicio, afirmar que se trata de un buen marcador tumoral, ya que los estudios realizados lo han sido siempre a corto plazo y no se ha analizado la posible correlación entre su existencia en el plasma y la evolución posterior y pronóstico de la enfermedad.

La PAPP-A no se muestra como un buen marcador tumoral, a pesar de estar presente siempre en el plasma de todos los individuos con neoplasias; debido, a que no presenta diferencias estadísticamente significativas con los sujetos normales excepto en el caso de la enfermedad trofoblástica, donde por otra parte ha sido escasamente estudiada.

La PP<sub>5</sub>, PP<sub>10</sub> y PP<sub>12</sub> han sido parcialmente estudiadas y será preciso esperar nuevos resultados en los diferentes tipos de tumores, para poder conocer su valor como marcador tumoral.

1.2.6.9. Significación clínica: Para explicar la presencia de proteínas onco-placentarias en el plasma de pacientes con neoplasias e incluso, su producción por algunos tumores, se han propuesto varias teorías. La principal de ellas, propone la existencia en el sujeto normal, de un pequeño grupo de células capaz de sintetizar éstas proteínas, que proliferarían en asociación con el desarrollo de la neoplasia; dando lugar a la regresión de las mismas al estado embrionario.

GORDON Y CHARD (93) han propuesto dos teorías al respecto: La primera, que podríamos denominar "teoría del contacto directo", propone la existencia de grupos de células en los tumores que debido a su capacidad invasiva y su naturaleza sincitial, se pondrían en contacto directo con la circulación sanguínea. Este contacto podría desencadenar la producción de proteínas onco-placentarias por éstas células tumorales, actuando como estímulo de la síntesis. La segunda teoría propuesta por éstos autores y a nuestro juicio más coherente, propone, que todos los tumores, podrían producir todas las proteínas onco-placentarias y que la detección o no de una determinada proteína en cada caso, estaría en función del grado de sensibilidad del método de ensayo empleado para su cuantificación.

Finalmente es preciso añadir, que ninguna de las teorías tiene gran base de sustentación y que si bien no somos capaces por el momento de establecer su significación clínica, no podemos a la vista de los resultados, negar su existencia.

#### 1.2.7. Localización inmunohistoquímica de las proteínas onco-placentarias.

Las proteínas onco-placentarias, además de presentar un interés evidente desde el punto de vista clínico para la monitorización bioquímica del curso evolutivo de las pacientes con neoplasias y para la evaluación del tratamiento, pueden llegar a representar una gran ayuda para los patólogos, a la hora de facilitar el diagnóstico de carcinomas poco diferenciados e incluso, evaluar el grado de malignización.

El estudio de la presencia ó ausencia de proteínas onco-placentarias en el tejido neoplásico, se realiza mediante el empleo de técnicas inmunohistoquímicas. De ellas, la que proporciona una mayor sensibilidad y fiabilidad, es la técnica de la inmunoperoxidasa, la cual mediante el empleo de antisueros monoespecíficos y realizada con las precauciones necesarias para evitar las tinciones de fondo que pueden inducir a errores

diagnósticos, permite la localización específica de antígenos en cortes de tejidos, con una sensibilidad que según PRETRALI y cols. (165) supera a la del radio-inmunoanálisis específico.

1.2.7.2. Enfermedad trofoblástica: La presencia de proteínas onco-placentarias en la placenta humana normal y patológica, ha sido estudiada desde 1976 por los autores que se expresan en la TABLA 1.39. De todas las proteínas las más estudiadas han sido la P.S.B.G. y la PAPP-A y las menos conocidas desde el punto de vista inmunohistoquímico, la PP<sub>12</sub> y PP<sub>14</sub>. Una vez conocida su distribución en los diferentes compartimentos de la placenta humana, surgió un gran interés por investigar su presencia en la enfermedad trofoblástica.

TATARINOV y cols (214,215) y HORNE y cols. (109), han estudiado mediante inmunofluorescencia indirecta e inmunoperoxidasas respectivamente, la presencia de P.S.B.G. en la mola y en el coriocarcinoma. Todos ellos coinciden en localizar la presencia de P.S.B.G. en el sincitiotrofoblasto y en las células de Langhans del corioepitelioma, siendo en éste último caso el grado de tinción, más variable que el observado en la mola. Idénticos resultados han comunicado WAHLSTROM u cols. (235).

TABLA 1.39

Proteínas oncoplacentarias estudiadas en la placenta humana mediante técnicas inmunohistoquímicas

Autores	PSBG	$\alpha_2$ -PAG	PAPP-A	PP <sub>5</sub>	PP <sub>10</sub>	PP <sub>11</sub>	PP <sub>12</sub>	PP <sub>14</sub>	Referencia
HORNE y cols. 1976	+	-	-	-	-	-	-	-	(108)
SEDLACEK y cols. 1976	+	+	-	+	-	-	-	-	(191)
INABA Y COLS. 1980	-	-	-	-	+	+	+	-	(112,113)
WAHLSTROM y cols. 1981	-	-	+	-	-	-	-	-	(234)
WAHLSTROM y cols. 1982	+	-	+	+	+	+	+	-	(235)
McINTYRE y cols. 1981	-	-	+	+	+	+	+	-	(155)
TORNEHAVE y cols. 1984	-	-	+	-	-	-	-	-	(224)
DOBASHI y cols. 1984	-	-	+	-	-	-	-	-	( 57)
CHEMNITZ y cols. 1984	+	-	+	-	-	-	-	-	( 50)
DUEÑAS y cols.	+	+	+	+	+	-	+	+	(70,71,72)

La PP<sub>5</sub> parece ser una proteína onco-placentaria importante, en la diferenciación de la capacidad invasora del trofoblasto. Los resultados comunicados por los diferentes autores, coinciden en que está presente en el 100% de los casos en la mola hidatiforme, mientras que son discordantes en el caso del coriocarcinoma y en la mola invasora. Mientras que para SEPPALA y cols. (194) y WAHLSTROM y cols. (235) nunca está presente en el coriocarcinoma y en muy escasa proporción en la mola invasora, para NISBET y cols (161) estaría presente en el 89% de los casos de mola invasora y en el 67% de los coriocarcinomas por ellos estudiados (TABLA 1.40).

Los resultados obtenidos en conjunto por los diferentes autores en cuanto a la presencia de PP<sub>5</sub> en la mola invasora y el coriocarcinoma, hacen pensar a SALEM y CHARD (178) la posibilidad de que la PP<sub>5</sub> pudiera jugar algún papel modulador en la capacidad invasiva del trofoblasto, ya que está ausente en aquellos coriocarcinomas de mayor potencial invasor.

Finalmente la presencia de PAPP-A, PP<sub>10</sub>, PP<sub>11</sub> y PP<sub>12</sub> en la enfermedad trofoblástica, ha sido estudiada recientemente por WAHLSTROM y cols. (235) los cuales mediante inmunoperoxidasas, describen la

existencia de todas ellas en el sincitiotrofoblasto de la mola hidatiforme, sin embargo en el caso de la mola invasiva y el coriocarcinoma solamente encuentran PAPP-A y PP<sub>11</sub>, pero en ningún caso PP<sub>10</sub> y PP<sub>12</sub>. Por el contrario, no tenemos constancia de que se haya realizado ningún estudio inmunohistoquímico sobre la PP<sub>14</sub> en la enfermedad trofoblástica.

TABLA 1.40

Presencia de PP<sub>5</sub> en la enfermedad trofoblástica según diferentes autores

Autores	Mola hidatidica	Mola invasora	Coriocarcinoma	Referencia
SEPPALA y cols.	100%	10 %	0 %	(194)
WAHLSTROM y cols.	100%	0 %	0 %	(235)
NISBET y cols.	100%	89 %	67 %	(161)

1.2.7.2. Neoplásias no trofoblásticas: Son muy escasas las publicaciones referidas al estudio inmunohistoquímico de las proteínas oncoplacentarias en los tumores no trofoblásticos. Sin embargo, expondremos los diferentes resultados obtenidos según la localización de las neoplásias.

\*Neoplásias ováricas: Cuando se revisa la literatura al respecto, llama la atención en primer lugar (TABLA 1.41), el hecho de que la mayor casuística corresponde al estudio de la B-H.C.G. (182), si bien los resultados son muy dispares; mientras que para VAITUKAITIS (229) la B-H.C.G. está presente en el 40% de las neoplásias por él estudiadas, sólo aparecen en el 7% de la casuística de CASPER y cols. (38), mucho más numerosa y en la que además, diferencia los distintos tipos histológicos. En el trabajo de CASPER, es preciso destacar, que si bien la B-H.C.G. fué positiva en el 7% del conjunto, lo fué en el 22% de los tumores de células claras y no estuvo presente en ninguno de los doce carcinomas indiferenciados estudiados.

Centrándonos en las proteínas onco-placentarias de nueva generación, puede observarse que tan sólo han sido estudiadas por INABA y cols. en 1980 (112) y en 1981 (113), con una casuística muy escasa. En el

primero de sus trabajos estudia siete neoplasias del ovario, de las cuales no especifica el tipo histológico, encontrando ausencia de P.S.B.G. en todos los casos y la presencia en proporción variable de la PP<sub>5</sub> (42,8%); PP<sub>10</sub> (28,6) y de la PP<sub>12</sub> (14,28%). En un trabajo posterior, INABA y cols.(114), estudian la presencia de PP<sub>5</sub>, PP<sub>10</sub> y PP<sub>12</sub> en treinta y seis cistoadenocarcinomas del ovario, oscilando la existencia de las tres proteínas entre un 9,5 % para la PP<sub>10</sub> y un 77,8 % para la PP<sub>5</sub>.

Finalmente, no tenemos referencias de ningún estudio inmunohistoquímico de localización de la PP<sub>14</sub> en las neoplasias del ovario. Por otro lado INABA y cols.(114) que estudiaron la PP<sub>5</sub>; PP<sub>10</sub>; PP<sub>11</sub> y PP<sub>12</sub> en el ovario normal, no pudiendo demostrar su existencia en ningún caso.

\*Carcinoma de endometrio: La presencia de proteínas onco-placentarias de nueva generación en el carcinoma de endometrio, ha sido estudiada en tres casos por INABA y cols.(112), el cual describe la ausencia de P.S.B.G.(0%) y la presencia de PP<sub>5</sub> (66,6%); PP<sub>10</sub> (66,6%) y PP<sub>12</sub> (33,3%). No tenemos referencia del estudio de ninguna de éstas proteínas por técnicas inmunoperoxidásicas en el endometrio normal.

TABLA 1.41

Localización inmunohistoquímica de B-H.C.G.;P.S.B.G.;PP<sub>5</sub> ;PP<sub>10</sub>;PP<sub>12</sub>;  
en neoplasias ováricas

Autores	B-HCG.		P.S.B.G.		PP <sub>5</sub>		PP <sub>10</sub>		PP <sub>12</sub>		Referencias
	Nº	% +	Nº	% +	Nº	%+	Nº	%+	Nº	%+	
INABA y cols.1980	-	-	7	0.0	7	42.8	7	28.6	7	14.2	(112)
INABA y cols.1981	-	-	-	-	36	77.8	36	9.5	36	23.8	(114)
VAITUKAITIS, 1982	45	40.0	-	-	-	-	-	-	-	-	(229)
CASPER, 1984	137	7.0	-	-	-	-	-	-	-	-	( 38)
TOTAL	182		7		43		43		43		

\* Neoplasias del testículo: También estudiadas por INABA y cols.(112),el cual pone de manifiesto la existencia de PP<sub>5</sub> en el 75% de los casos;PP<sub>10</sub> en el 58% y PP<sub>12</sub> en el 37.5%.No obstante tampoco el autor discrimina los tipos histológicos,así como no estudia éstas proteínas en el testículo normal.

VAITUKAITIS (229) refiere la presencia de subunidad Beta de la H.C.G. en el 62% de los ciento dos tumores del testículo estudiadas por él,si bien no refiere el tipo histológico.

\*Neoplasias de la mama: Mediante técnicas de inmunofluorescencia indirecta,HORNE y cols.(110) han demostrado la presencia de P.S.B.G. en el epitelio ductal del tejido mamario no maligno.Utilizando la técnica de las inmunoperoxidasas,EIERMAN y cols.(73) han detectado la presencia de ésta misma proteína,en las células epiteliales y mioepiteliales en la mama con patología no neoplásica.

La presencia de P.S.B.G. en las neoplasias mamarias varía según los distintos autores;así para HORNE y cols.(107) está presente en el 76% de los casos y sugiere que su presencia es un signo pronóstico desfavorable.Para INABA y cols.(112) aparece en el 52.65

y KUHAJDA y cols.(138) la encuentran en el 34.5% ,los cuales tambien la consideran un indicador de mal pronóstico.(TABLA 1.42).

Aunque BREMNER y cols.(34) han estudiado la existencia de PP<sub>5</sub> en homogenizados de tumores de la mama, encontrándola en el 55% de los malignos y en el 71% de los benignos; por métodos inmunohistoquímicos ha sido estudiada, al igual que la PP<sub>10</sub> y la PP<sub>12</sub> , sólo por INABA y cols.(112), los cuales la detectan en el 52.6%, 68.4% y 31.6% respectivamente.

Un análisis más detallado requieren los recientes trabajos de KUHAJDA y cols.(139,140,141), los cuales han estudiado la relación existente entre la presencia de PAPP-A, con el estadio del cancer de mama, con la presencia de necrosis, los receptores estrogénicos y la recurrencia precoz del tumor.(TABLA 1.43). Estos autores han demostrado una elevada correlación estadísticamente significativa, entre la presencia en el tumor de PAPP-A con la aparición de necrosis y la recurrencia precoz del cancer, independientemente de la existencia de receptores estrogénicos y el estadio tumoral, por lo que consideran que la presencia de PAPP-A en las células neoplasias, es un importante factor pronóstico en la evolución clínica de la enfermedad.

TABLA 1.42

Distribución de B-H.C.G.;P.S.B.G.;PP<sub>5</sub>;PP<sub>10</sub>;PP<sub>12</sub> en la neoplasias de la mama.Recopilación de casos

Autores	B-HCG.		P.S.B.G.		PP <sub>5</sub>		PP <sub>10</sub>		PP <sub>12</sub>		Referencias
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	
HORNE y cols, 1976	50	60.0	50	76.0	-	-	-	-	-	-	(170)
INABA y cols. 1980	-	-	19	52.6	19	63.2	19	68.4	19	36.1	(112)
KUHAJDA y cols.1984	-	-	189	34.5	-	-	-	-	-	-	(138)
TOTAL	50		258		19		19		19		

TABLA 1.43

Relación entre la presencia de PAPP-A, el estadio del tumor y la presencia de receptores estrogénicos según KUHAJDA (139,140,141)

Estadio	Nº de casos	PAPP-A negativos	PAPP-A positivos
Estadio I receptores negativos	40	75 %	25 %
Estadio I receptores positivos	30	67 %	33 %
Estadio II	30	60 %	40 %

\*Otras neoplasias: Excluidos los tumores del aparato reproductor, diferentes autores se han ocupado del estudio inmunohistoquímico de proteínas onco-placentarias, en neoplasias de otras localizaciones orgánicas.

Las neoplasias extragenitales más frecuentemente estudiadas, han sido las del aparato digestivo (TABLA 1.44). En ellas la proteína estudiada con más frecuencia, ha sido la B-H.C.G, por VAITUKAITIS(229)

que la ha encontrado en el 36.7% de los casos, si bien es el cancer de pancreas donde puede detectarse con mayor frecuencia (78.5%). (TABLA 1.45)

TABLA 1.44

Distribución de B-H.C.G.; P.S.B.G.; PP<sub>5</sub>; PP<sub>10</sub> y PP<sub>12</sub> en diferentes neoplasias del aparato digestivo. Recopilación de casos.

Localización	B-HCG	PSBG	PP <sub>5</sub>	PP <sub>10</sub>	PP <sub>12</sub>
Higado	21/92	2/3	1/3	0/3	0/3
Pancreas	33/42	-	-	-	-
Estómago	22/73	17/30	5/12	8/12	6/12
Colon	-	16/24	1/4	1/4	0/4
TOTAL	76/207	35/57	7/19	9/19	6/19

Nº de casos positivos/Nº total de casos

TABLA 1.45

Distribución de casos positivos de B-HCG;PSBG;PP<sub>5</sub> ;PP<sub>10</sub> y PP<sub>12</sub> en diferentes neoplasias del aparato digestivo según sus autores.

Autores	B-HCG	PSBG	PP <sub>5</sub>	PP <sub>10</sub>	PP <sub>12</sub>	Referencia
INABA y cols. 1979	-	73.6%	36.8%	47.3%	31.6%	(112)
SKINNER y cols. 1981	-	55.2%	-	-	-	(202)
VAITUKAITIS 1982	36.7%	-	-	-	-	(229)

Los resultados obtenidos en la localización de P.S.B.G. presentan diferencias, así para INABA y cols.(112) aparecía en el 73.6% de los casos, mientras que para SKINNER y cols.(202) tan sólo lo haría en el 55.2%.

La PP<sub>5</sub> ;PP<sub>10</sub> y PP<sub>12</sub> han sido estudiadas en diecinueve casos por INABA y cols.(112), el cual las detecta respectivamente en el 36.8% ; 47.3% y 31.6%. Sin embargo hay que precisar, que es precisamente en el cancer gástrico, donde aparecen con más frecuencia del 50 %.

### 1.2.7.3. Análisis conjunto de los estudios

inmunohistoquímicos: Del análisis conjunto de los resultados publicados en la literatura, obtenidos de los estudios inmunohistoquímicos de las proteínas onco-placentarias, realizados en neoplasias, se desprende en primer lugar, la falta de exhaustividad de los mismos en cuanto a la escasa atención prestada a algunas de las proteínas onco-placentarias como la  $\alpha_2$ -PAG; PP<sub>5</sub> ; PP<sub>10</sub> ; PP<sub>12</sub> y sobre todo la PP<sub>14</sub> , de la que no tenemos constancia de ninguna publicación al respecto. En segundo lugar destacar que si bien se ha estudiado con rigor en la enfermedad trofoblástica, no puede decirse lo mismo de las neoplasias del aparato reproductor, donde se observa la ausencia de tipificación histológica de los mismos y la escasa casuística estudiada.

Finalmente, es preciso resaltar la ausencia de estudios seriados de los diferentes tipos de tumores, con un gran número de proteínas onco-placentarias, con el fin de poder relacionar en conjunto, la utilidad que éstas podrían presentar como marcadores tumorales analizados en grupo.

1.2.8. Estado actual del problema: En los apartados anteriores, hemos analizado exhaustivamente los trabajos realizados durante los diez años de vida de las proteínas onco-placentarias, referidas especialmente a su posible utilidad como marcadores tumorales. Las esperanzas que inicialmente se pusieron en éste sentido, no se han visto confirmadas, cuando se extraen las conclusiones de los resultados obtenidos por los diferentes autores, que han determinado su concentración en el plasma sanguíneo de pacientes con neoplasias; fundamentalmente las del aparato reproductor. En éste sentido hay que admitir, que si bien los resultados no han sido todo lo prometedores que se esperaban, la casuística estudiada ha sido muy escasa, la metodología ha variado de unos autores a otros y no ha existido hasta hace poco tiempo, una sistematización de los métodos de ensayos; ello hace, que analizados con rigor algunos de los trabajos, especialmente los más antiguos, carezcan hoy de validez.

En la actualidad, los diferentes grupos de investigación en el mundo que se ocupan del estudio de las proteínas onco-placentarias, en el plasma sanguíneo periférico, han dado preferencia al estudio de éstas proteínas como marcadores de la función feto-placentarias; como se desprendió en el 5<sup>th</sup> International Congress

on Placental Protein, celebrado en 1984, en el que el 90% de los trabajos presentados, se referían a su aplicación como marcadores bioquímicos en Perinatología. Este hecho hay que interpretarlo, a nuestro juicio, más como el deseo de obtener resultados a corto plazo y más espectaculares, que los que se obtienen en el estudio y seguimiento de las neoplasias; y también, porque éstos últimos, requieren estudios de supervivencia a largo plazo, con el consiguiente encarecimiento económico, que a veces las instituciones científicas no están dispuestas a costear.

En lo que se refiere a los estudios inmunohistoquímicos de localización de las proteínas oncoplacentarias, la situación actual es diferente a los estudios realizados en el plasma. Se ha despertado un enorme interés sobre todo en los cinco últimos años, a partir de los resultados comunicados por algunos autores, en cuanto a la relación existente entre la presencia de éstas proteínas en las células tumorales y su potencial maligno; lo que en algunos casos, las puede conferir capacidad pronóstica respecto de la evolución de la enfermedad.

Los estudios inmunohistoquímicos realizados en neoplasias, como se desprende de la revisión biblio-

gráfica que hemos resumido en los apartados anteriores, se caracterizan en primer lugar, de ser muy escasos y limitados en sus casuísticas; en segundo lugar, de no valorar adecuadamente el tipo histológico del tumor y su relación con la presencia ó ausencia de las proteínas onco-placentarias y en tercer lugar, de ser muy incompletos, ya que excepcionalmente, no estudian más que una ó dos proteínas.

La gran calidad conseguida en la obtención de los anticuerpos específicos anti-proteínas onco-placentarias, la elevada fiabilidad de la técnica de las inmunoperoxidasas, la simplicidad técnica y el escaso coste económico, hacen que actualmente, el estudio de las proteínas onco-placentarias como marcadores tumorales a partir de técnicas inmunohistoquímicas, sea de las líneas de investigación de mayor actualidad e interés, de los principales grupos internacionales de trabajo que se ocupan de éstos problemas.

II.-HIPOTESIS DE TRABAJO.

## II.-HIPOTESIS DE TRABAJO.

Teniendo en cuenta el estado actual de las investigaciones, referidas al estudio de las proteínas onco-placentarias de nueva generación como marcadores tumorales y la necesidad de avanzar en los estudios sobre su localización inmunohistoquímica en los diferentes tipos histológicos de neoplasias del aparato reproductor; nos hemos propuesto estudiar, mediante la técnica de las inmunoperoxidasas, la presencia de la subunidad Beta de la Gonadotropina coriónica (B-H.C.G.), de la Pregnancy Specific B<sub>1</sub> Glycoprotein (P.S.B.G.) de la alfa-2 Pregnancy Associated Globulin ( $\alpha$ <sub>2</sub>-PAG ó PZP)

y de las proteínas placentarias 5,10,12 y 14 (PP<sub>5</sub> - 10-12-14), en los siguientes tejidos normales y neoplásicos:

1. En el ovario, trompa de Falopio, endometrio en fases proliferativa y secretora y en el miometrio normales.
2. En la enfermedad trofoblástica (mola hidatídica y coriocarcinoma).
3. En los diferentes tipos histológicos de las neoplasias del ovario.
4. En el adenocarcinoma de endometrio.
5. En las neoplásias del testículo.
6. En las neoplásias de la mama, tanto en aquellas que contienen receptores estrogénicos, como en las que éstos están ausentes.
7. Analizar la relación existente entre la presencia de éstas proteínas, individualmente y en conjunto, con el tipo histológico del tumor, el grado de malignización y la evolución posterior de la enfermedad neoplásica.

III.- MATERIAL

### III.- MATERIAL.

Para la realización de éste trabajo, hemos procedido al estudio de ciento nueve casos (TABLA 3.1) distribuidos en dos grandes grupos: Un primer grupo, constituido por diecisiete pacientes (15.6%) sin patología tumoral (grupo de control) y un segundo grupo, de noventa y dos pacientes (84,4%) portadoras de diferentes tipos de neoplasias del aparato reproductor.

Todos los casos han sido estudiados, tanto desde el punto de vista clínico como histopatológico, en el Hospital Universitario de Sevilla, en el periodo

comprendido entre 1975 y el primer semestre de 1986.

TABLA 3.1

Distribución del número de pacientes, según el grupo de estudio.

Grupo de Estudio	Nº de casos	%
Pacientes normales	17	15.6
Pacientes con neoplasias	92	84.4
TOTAL	109	

### 3.1.- APARATO REPRODUCTOR NORMAL.

Las biopsias del aparato reproductor normal han sido obtenidas de pacientes, a las que les había sido practicada una intervención por motivos no relacionados con la patología tumoral del aparato reproductor. En todos los casos, presentaban unas características morfohistológicas de normalidad.

La distribución según el tipo de tejido de los casos incluidos en éste grupo, se presentan en la TABLA 3.2.

TABLA 3.2

Aparato reproductor normal

Tipo de Tejidos	Nº casos	%
Ovario	3	17.6
Trompa	3	17.6
Miometrio	3	17.6
Endometrio Secretor	3	17.6
Endometrio Proliferativo	3	17.6
Testículo	2	11.8
<b>TOTAL</b>	<b>17</b>	

La edad media de las mujeres que constituyen éste grupo, fué de  $32.6 \pm 20$  ( $\bar{x} \pm 2DS$ ) y la paridad de  $1.8 \pm 3.3$ . Ninguna de ellas, era menopaúsica y el motivo de la intervención fué: En seis casos, la existencia de patología funcional, en cinco casos hemorragias

del cuerpo lúteo, en tres casos para practicar un legrado diagnóstico y en un caso por alteración de la estática uterina.

Los dos testículos estudiados, corresponden a dos varones orquitectomizados de veintiseis y veintisiete años respectivamente. En el primer caso, la intervención fué realizada por un error diagnóstico (carcinoma testicular) y el segundo, fué obtenido en el curso de una necropsia.

### 3.2.- PACIENTES CON NEOPLASIAS DEL APARATO REPRODUCTOR.

Se han estudiado en total, noventa y dos pacientes portadoras de neoplasias del aparato reproductor, cuya distribución según el tipo de tumor y su localización se representan en la TABLA 3.3.

La edad de las pacientes presentó importantes variaciones según la localización del tumor, oscilando entre 27.5 en las mujeres con enfermedad trofoblástica y 58.5 años en las que presentaban un adenocarcinoma de endometrio (TABLA 3.4).



TABLA 3.3

Distribución de las pacientes portadoras de neoplasias, según el tipo de tumor y su localización.

Localización	Número	%
Enf. trofoblástica	12	13.0
Neoplasias del Ovario	59	64.1
Adenocarcinomas de endometrio	6	6.5
Neoplasias del testículo	3	3.3
Neoplasias de la Mama	12	13.0
TOTAL	92	

TABLA 3.4

Relación entre edad de la paciente y el tipo tumoral

Tipo tumoral	Años					x +/-2 DS
	30	31-40	41-50	51-60	60	
Enf. Trofoblástica	8	3		1		27.5+/-22
T. del Ovario	13	4	12	16	14	46.3+/-36.8
Adenocarcinoma de Endometrio			1	3	2	58.5+/-11.4
T. Testiculares	2	1				29.6+/-9.3
T. de la Mama	1		1	7	3	57.5+/-23.3
TOTAL	24	8	14	27	19	= <u>92</u>

En cuanto a la paridad, la mayor frecuencia la presentaron las nulíparas (34.1%), seguida de las mujeres que habían tenido cuatro ó más hijos (25%) (TABLA 3.5).

TABLA 3.5

Relación de la paridad con el tipo tumoral

Tipo Tumoral	0	1	2	3	4	más de 4
Enf. Trofoblástica*	5	3	1			2
T. del Ovario	21	5	9	11	5	8
Adenocarcinoma de Endometrio	2		1	1		2
T. de la Mama	2	2	2	1	3	2
TOTAL = 88 :	30	10	13	13	8	14
% =	(34.1)	(11.4)	(14.8)	(14.8)	(9.1)	(15.9)

\* De una paciente se desconocía la paridad (autopsia)

En el caso de los tres varones con carcinoma testicular, dos de ellos habían tenido hijos anteriormente.

El 51.6% de las mujeres estudiadas eran menopáusicas en el momento del diagnóstico, no existiendo apenas diferencias, en cuanto a la edad de instauración de la misma en relación con la localización del tumor (TABLA 3.6).

TABLA 3.6

Distribución de pacientes menopáusicas en el momento del diagnóstico.

Tipo de tumor	Número	Edad de aparición ( $\bar{x} \pm 2 DS$ )
Tumores del Ovario	30	48.2 +/- 10.2
Adenocarcinoma de Endometrio	6	47.1 +/- 9.4
Tumores de la mama	10	47.8 +/- 9.9
TOTAL	46	

Presentaron algún tipo de sintomatología previa al diagnóstico, el 96.7% de las pacientes estudiadas, (TABLA 3.7). El síntoma más frecuente fue el dolor y/o la distensión abdominal (35.9%), seguido de las

metrorragias (33.8%). Con menor frecuencia las pacientes refirieron la existencia de una masa palpable (19.1%) y del alteraciones del tracto digestivo y/o urinario (6.7%). El apartado "otra sintomatología" incluye fundamentalmente, astenia, anorexia y un caso de edema facial. Dos de las pacientes con tumores del ovario presentaron como única sintomatología, alteraciones digestivas en el curso del embarazo; momento en que fué realizado el diagnóstico de tumor ovárico.

TABLA 3.7

Presencia de sintomatología previa al diagnóstico  
en neoplasias del aparato reproductor

Tipo de Tumor	Dolor y/o distension abdominal	Metro- rragia	Alt.Digest. y/0 Alt. urinarias	Tumor palpa.	otra sinto	TOTAL
Enf.Trofoblástica	1	8			1	10
T.del Ovario	26	17	6	6	3	58
Adenocarcinoma de endometrio	--	5	-	1	-	6
T.del testículo	1	-	-	2	-	3
T. de la Mama	4	-	-	8	-	12
<b>TOTAL</b>	<b>32</b>	<b>30</b>	<b>6</b>	<b>17</b>	<b>4</b>	<b>89</b>
<b>%</b>	<b>(35.9)</b>	<b>(33.8)</b>	<b>(6.7)</b>	<b>(19.1)</b>	<b>(4.5)</b>	

En aquellas pacientes en que hubo un cortejo sintomático previo al diagnóstico, el tiempo transcurrido entre su aparición y el momento del mismo, fué variable (TABLA 3.8); sin embargo, la sintomatología se hizo patente en un período inferior a doce meses antes del diagnóstico, en el 74.4% de los casos.

TABLA 3.8

Relación entre el tiempo transcurrido desde la aparición de los síntomas y el momento del diagnóstico, con el tipo y localización del tumor

Tipo de tumor	Edad comienzo síntomas-edad diagnóstico						TOTAL
	3 meses	3-6	6-9	9-12	12-24	24 m.	
Enf. Trofoblástica	5	2	1	1		1	10
T. del Ovario	11	14	8	6	6	13	58
Adenocarcinoma de endometrio	3	-	-	1	-	2	6
T. Testiculares	-	2	-	1	-	-	3
T. de la Mama	2	2	3	3	1	1	12
TOTAL	21	20	12	12	7	17	89
%	(23.6)	(22.8)	(13.5)	(13.5)	(7.9)	(19.1)	

El diagnóstico de sospecha fué realizado mediante la ecografía, en la mayor parte de los casos (38%), seguido de la exploración clínica (31.5%), (TABLA 3.9).

TABLA 3.9

Método mediante el cual se estableció el diagnóstico de sospecha

Tipo de tumor	Explor. clínica	Eco	Citología	Legrado	Otros	TOTAL
Enf. Trofoblástica	-	6	-	3	3	12
T. del Ovario	23	28	3	-	5	59
Adenocarcinoma de endometrio	1	-	-	4	1	6
T. del testículo	2	-	-	-	1	3
T. de la Mama	3	1	4	-	4	12
<b>TOTAL</b>	<b>29</b>	<b>35</b>	<b>7</b>	<b>7</b>	<b>14</b>	<b>92</b>
<b>%</b>	<b>(31.5)</b>	<b>(38)</b>	<b>(7.6)</b>	<b>(7.6)</b>	<b>(15.2)</b>	

En el apartado "otros métodos diagnósticos" se incluyen, cuatro casos de neoplasias mamarias sospechadas mediante mamografía, un caso de neoplásia testicular que fué diagnosticado mediante linfografía, un carcinoma de endometrio, que resultó ser un hallazgo histopatológico casual en el transcurso del estudio de un utero procedente de histerectomía por miomatosis generalizada. En cinco casos de tumores del ovario, el diagnóstico fué hallazgo casual del estudio de las piezas operatorias obtenidas tras hiterectomía total, realizadas por diferentes indicaciones. Finalmente, tres coriocarcinomas fueron el resultado del hallazgo casual: Uno, en el transcurso de una autopsia y dos de ellos, en histerectomías totales.

### 3.2.1.- Pacientes con enfermedad trofoblástica:

Dentro de este grupo se estudian en total doce mujeres, de las cuales, seis presentaron una mola hidatiforme y las restantes un coriocarcinoma : Cinco de éstos fueron intrauterinos y uno ovárico. Este último se presentó en una niña de trece años de edad y fué catalogado de coriocarcinoma primitivo del ovario. La edad media de estas mujeres (exceptuando el caso de coriocarcinoma de ovario) fué de  $34.2 \pm 24.8$  años

y la paridad osciló, entre cero ( dos casos) y seis hijos. El 80% de las mujeres presentaron metrorragias previas al diagnóstico y sólo en una paciente, no hubo ningún tipo de sintomatología. El otro caso, fué un hallazgo casual en el curso de una necropsia, realizada por fallecimiento en el momento del ingreso en el hospital.

En todos los casos de mola hidatiforme el diagnóstico fué realizado, mediante ecografía (50%) ó legrado (50%). En cuanto a los coriocarcinomas la sospecha diagnóstica se hizo mediante la ecografía en tres casos y fué un hallazgo ocasional, en las restantes.

Los coriocarcinomas estudiados corresponden según el grado de infiltración: En tres casos, a un estadio I, uno a un estadio II y los restantes a un estadio IV. Una de las mujeres con mola hidatiforme presentó un mes después de la evacuación, una infiltración vaginal, que fué catalogada de coriocarcinoma tras su extirpación quirúrgica.

Todas las mujeres que presentaron una mola hidatiforme, sobreviven en la actualidad, siendo la supervivencia, superior a cuatro años en el 66.6% de los

casos. En cuanto a los coriocarcinomas, fallecieron el 50% de las mujeres, en dos casos, antes de transcurrido un año desde la intervención y en el tercer caso después de cinco años. El 50% restante sobrevive en la actualidad (TABLA 3.10).

TABLA 3.10

Tiempo de supervivencia en años de las mujeres con  
Enfermedad trofoblástica

Tipo	Sobreviven					Fallecieron	
	1-2	2-3	3-4	4-5	5	1	5
Molas Hidatiformes	-	1	1	3	1	-	-
Coriocarcinoma	1	-	1	-	1	2	1
<b>TOTAL</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>2</b>	<b>2</b>	<b>1</b>

### 3.2.2.- Neoplasias del Ovario.-

En este grupo, se incluyen cincuenta y nueve

mujeres portadoras de diferentes tipos histológicos de neoplasias ováricas, cuya distribución se expone en la TABLA 3.11.

Los carcinomas serosos fueron catalogados desde el punto de vista histopatológico, en dos casos como cistoadenocarcinomas serosos y los cuatro restantes cistoadenocarcinomas papilares serosos. Los carcinomas mucinosos correspondieron, en cinco casos a cistoadenocarcinomas, uno de ellos Boderline, mientras que el restante se catalogó de adenocarcinoma mucinoso.

Los carcinomas endometrioides fueron tipificados como tales, en cinco casos, uno de los cuales presentó focos de metaplasia escamosa y el caso restante, se trató de un adenocarcinoma endometriode bilateral. Finalmente, los carcinomas de células claras incluyen un caso de carcinoma de células claras propiamente dicho, dos casos de adenocarcinomas y tres casos de carcinomas endometrioides con patron de células claras.

La edad media de las pacientes en relación con el tipo histológico, fué variable. La edad media en los tumores epiteliales y en los de los cordones sexuales, fué superior a los cuarenta años; en contraste con los tumores de células germinales, que hicieron su aparición en mujeres menores de veinticinco años. (TABLA 3.12).

TABLA 3.11

Distribución del número de casos de tumores del  
ovario según el tipo histológico

Tipo Histológico	Nº de casos	%
<b>I TUMORES EPITELIALES</b>		
*Carcinomas serosos	6	10.2
*Carcinomas mucinosos	6	10.2
*Carcinomas Endometrioides	6	10.2
*Carcinomas de células claras	6	10.2
*Carcinoma Indiferenciado	1	1.7
<b>II TUMORES DE LAS CUERDAS SEXUALES Y LA ESTROMA.</b>		
*Tecomomas	6	10.2
*Fibrotecomomas	6	10.2
*Tumor de células de la granulosa y	6	10.2
<b>III TUMORES DE CELULAS GERMINALES</b>		
*Disgerminomas	4	6.8
*Tumores del seno endodermico	2	3.4
*Carcinoma Embrionario	1	1.7
*Teratomas inmaduros	3	5.7
<b>IV TUMORES METASTASICOS</b>		
*Tumor de Krukemberg	6	10.2
TOTAL		59

TABLA 3.12

Relación entre el tipo histológico y la edad de las mujeres

Tipo Histológico	Edad ( $\bar{x}$ +/- 2DS)
<b>I TUMORES EPITELIALES</b>	
*Carcinomas serosos	61.8+/-18
*Carcinomas mucinosos	43.3+/-32.4
*Carcinomas endometrioides	57.3+/-8.5
*Carcinoma de células claras	52.5+/-14.4
*Carcinoma indiferenciado	41 +/- 0
<b>II TUMORES DE LAS CUERDAS SEXUALES Y LA ESTROMA</b>	
*Tecomas	54.3+/-17.1
*Fibrotecomas	60.7+/-17.5
*Tumor de células de la Granulosa	54 +/-35
<b>III TUMORES DE CELULAS GERMINALES</b>	
*Disgerminomas	21.5+/-17.2
*Tumor del seno endodermico	15 +/- 4
*Carcinoma Embrionario	13 +/- 0
*Teratomas Inmaduros	11.6+/-11.4
<b>IV TUMORES METASTASICOS</b>	
*Tumor de Krukemberg	39.5+/-11

Todas las mujeres con tumores de las células germinales y metastásicos eran premenopaúsicas, mientras que el 76% de las afectadas por tumores epiteliales y el 66.7% de las de tumores de los cordones sexuales, eran postmenopaúsicas.

En cuanto a la paridad de las mujeres de este grupo, hemos observado que el 64.4%, habían tenido hijos. Sin embargo cuando se analizaron solamente los antecedentes de mujeres con tumores epiteliales y de los cordones sexuales, la frecuencia desciende al 52.5%.

Todas las mujeres con neoplasias del ovario, excepto una, habían presentado algún síntoma previo al diagnóstico, siendo más frecuente el dolor y/o distensión abdominal (44.1%), seguido de las metrorragias (28.8%).

El diagnóstico de sospecha se realizó mediante exploración ecográfica, en el 47.4% de los casos y por exploración clínica, en el 38.9%.

El tratamiento quirúrgico realizado a estas pacientes, se expone en la TABLA 3.13. Al 64.4% de las mujeres, les fué practicada una histerectomía total con doble anexectomía, en diecisiete casos (28.8%),

se realizó exclusivamente una anexectomía uni ó bilateral y tan sólo en cuatro casos(6.8%), la gran diseminación del tumor, sólo permitió la reducción de la masa tumoral.

TABLA 3.13

Tipo de intervención realizada a las pacientes con neoplasias del ovario

Tipo de tumor	Anexectomía uni ó bilateral	Histerectomía mas anexectomía	Laparotomía exploratoria y biopsia	TOTAL
T.Epiteliales	5	16	4	25
T.de los cordones sexuales y la estroma.	1	17		18
T.de células germinales	8	2		10
T.Metastásicos	3	3		6
TOTAL	17	38	4	59
%	(28.8%)	(64.4%)	(6.8%)	

El estadio clínico en relación con el tipo histológico se representa en la TABLA 3.14. Puede obser-

vase, que el 42.9% de los casos correspondían a un estadio I y tan sólo el 13.5% correspondían a los estadios III y IV.

El tamaño del tumor superó los nueve centímetros de diámetro en el 86.4% de los casos. La distribución del tamaño de la masa tumoral en relación con el tipo histológico se representa en la TABLA 3.15.

TABLA 3.14

Relación entre el tipo histológico y el  
estadio clínico

Tipo de tumor	Estadio			
	I	II	III	IV
I TUMORES EPITELIALES	6	6	6	7
* C.Serosos	-	2	1	3
* C.Mucinosos	2	-	3	1
* C.Endometrioide		2	2	2
* C.celulas claras	4	2	-	-
* C.Indiferenciado-		-	-	1
II TUMORES DE LAS CUERDAS SEXUALES Y DEL ESTROMA	18	-	-	-
*Tecomas	6	-	-	-
*Fibrotecomas	6	-	-	-
*T.celulas de la granulosa	6	-	-	-
III TUMORES DE CELULAS GERMINALES	5	5	-	-
* Disgerminoma	1	3	-	-
* T.del seno endodermico	1	1	-	-
* C.embrionario	1	-	-	-
* Teratomas	2	1	-	-
IV TUMORES METASTASICOS				
* Krukemberg	1	2	2	1
TOTAL = 59:	29	14	8	8
%	(49.2)	(37.7)	(13.5)	(13.5)

TABLA 3.15

Relación entre el tipo histológico y el tamaño del tumor.

Tipo de tumor	Tamaño en cms.				
	3	3-5	6-8	9-10	11
I TUMORES EPITELIALES	-	-	2	3	20
* C.Serosos	-	-	1	1	4
* C.mucinosos	-	-	-	-	6
* C.endometrioides	-	-	1	1	4
* C.de c.claras	-	-	-	-	6
* C.Indiferenciados	-	-	-	1	-
II TUMORES ESTROMICOS DE LAS CUERDAS SEX.	1	1	4	4	8
* Tecomas	1	1	1	1	2
* Fibrotecomas	-	-	2	2	2
* T.de celulas granulosas	-	-	1	1	4
III TUMORES DE CELULAS GERMINALES.	-	-	-	2	8
* Disgerminoma	-	-	-	-	4
* T.del seno endodermico	-	-	-	-	2
*C.embrionario	-	-	-	-	1
* Teratomas	-	-	-	2	1
IV TUMORES METASTASICOS					
* Krukemberg	-	-	-	2	4
TOTAL = 59:	1	1	6	11	40
%	(1.7)	(1.7)	(10.2)	(18.6)	(67.8)

El 57.6% de las mujeres con tumores del ovario sobreviven en la actualidad, de ellas, el 38.2% más de cinco años desde que se instauró el tratamiento (TABLA 3.16). La mayor tasa de supervivencia la presentaron las mujeres con tumores de los cordones sexuales y del estroma (77.8%), sin embargo, es preciso destacar el hecho de que en dos de las cuatro mujeres que fallecieron, la causa de la muerte fue un accidente vascular cerebral. En cuanto a los tumores metastásicos (tumores de Krukemberg), ninguna de las mujeres sobrevive actualmente, habiendo fallecido el 83.3% en menos de tres años transcurridos desde la extirpación del tumor.

### 3.2.3.- Adenocarcinoma de endometrio.

En este grupo hemos incluido seis mujeres de  $58.5 \pm 5.7$  años de edad, todas menopausicas, y el 33.3% sin antecedentes de embarazos. En todos los casos, las mujeres consultaron por presentar sintomatología: Metrorragias (83.3%) y dolor abdominal en un caso. En el 50% de las mujeres, transcurrieron menos de tres meses, entre el comienzo de la sintomatología y el momento del diagnóstico; por el contrario, dos mujeres consultaron tras más de veinticuatro meses de haber cursado con síntomas.

TABLA 3.16

Relacion entre el tiempo de supervivencia y el tipo histológico.

Tipo de Tumor	Tiempo en años											
	Sobreviven						Fallecieron					
	1	1-2	2-3	3-4	4-5	5	1	1-2	2-3	3-4	4-5	5
I T.EPITELIALES	-	4	2	4	1	2	3	5	1	1	1	1
*C.Serosos	-	1	-	1	-	-	2	1	-	1	-	-
*C.Mucinosos	-	2	1	-	1	-	-	2	-	-	-	-
*C.endometrioides	-	-	-	3	-	-	1	1	1	-	-	-
*C.de c.Claras	-	-	1	1	-	2	-	1	-	-	-	1
*C.Indiferenciado	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
II T.DE LAS CUERDAS SEXUALES Y DE LA ESTROMA.	1	2	1	3	1	6	-	-	1	-	3	-
* Tecomas	-	2	-	1	1	1	-	-	-	-	1	-
* Fibrotecomas	-	-	1	1	-	2	-	-	1*	-	1	-
* T.Granulosa	1	-	-	1	-	3	-	-	-	-	1*	-
III T.C.GERMINALES	-	-	1	-	2	3	-	-	-	2	1	1
*Disgerminomas	-	-	-	-	1	1	-	-	-	-	1	1
*T.Seno Endodermico	-	-	-	-	1	-	-	-	-	1	-	-
*C.embriionario	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-
*Teratoma	-	-	1	-	-	1	-	-	-	1	-	-
IV T.METASTASICOS	-	-	-	-	-	-	4	1	1	-	-	-
*Krukemberg	-	-	-	-	-	-	4	1	1	-	-	-

\* Fallecieron a consecuencia de un accidente vascular cerebral

El diagnóstico fué realizado mediante legrado biopsia fraccionado, en el 66.6% de las mujeres, mientras que en dos de ellas, el hallazgo fué ocasional. En cuanto al estadio clínico, el 50% de ellas estaban en estadio I, el 33.3% en estadio II y tan sólo había un caso en estadio IV. Al cierre del estudio, sobreviven el 83.3%. Del total de casos, tan solo una mujer falleció después de transcurridos tres años.

#### 3.2.4.- Neoplasias del testículo.

Los tres pacientes con neoplasias del testículo tenían una edad media de 29.6 +/- 9.3 años y dos de ellos tenían hijos. Los tipos histológicos fueron: Un caso de seminoma, un carcinoma embrionario y finalmente, un teratocarcinoma; correspondiendo los dos últimos, a un estadio II y III respectivamente. Los tres pacientes presentaron sintomatología previa al diagnóstico: En dos casos, los pacientes referían la existencia de la tumoración y edema de escroto, mientras que el tercero consultó por dolor testicular. Los tres fueron orquitectomizados.

El tamaño del tumor osciló entre nueve y diez cms de diámetro, en los casos del teratocarcinoma y del carcinoma embrionario y de cuatro centímetros en el seminoma. En el momento del cierre del estudio, solamente sobrevive el paciente portador del seminoma, mientras que los otros dos, fallecieron antes de transcurridos dos años desde el momento de instaurado el tratamiento.

### 3.2.5.- Neoplasias de la mama.

Hemos procedido al estudio de doce mujeres diagnosticadas de neoplasias de la mama. Las edades oscilaron entre los veintinueve y los sesenta y dos años (57.5 +/- 23.3), dos de ellas eran nulíparas y el 83.3% se encontraban en la etapa postmenopausicas. Todas la mujeres habían presentado sintomatología previa y consultaron por la existencia de tumor en el 83.3% de los casos y por mastodinia el 16.7%. El diagnóstico de sospecha se realizó mediante mamografía y/ó citología (66.7%), exploración clínica (25 %) y ecografía (8.3%). El diagnóstico de certeza fué realizado mediante biopsia intraoperatoria en todos los casos, seguida de mastectomía radical en el 91.7 % y tan solo en un caso fué realizada una mastectomía simple.

De los doce casos estudiados, nueve correspondían a estadio II y los restantes a estadio III; desde el punto de vista histopatológico, en todos los casos se trató de carcinomas ductales infiltrantes. Posteriormente, fué estudiada la presencia de receptores estrogénicos, siendo éstos positivos en el 50% de los casos, todos ellos correspondientes al estadio II.

En cuanto a la evolución posterior, sobreviven al cierre del estudio, tan solo el 25 % , de ellas, dos con más de cinco años y en todos los casos existían receptores estrogénicos positivos (RE +). Todas las mujeres en las que no fueron detectados éstos receptores, fallecieron antes de transcurridos cuatro años después de instaurar el tratamiento. Si bien hay que destacar que una de las mujeres con RE + falleció por causas ajenas al proceso neoplásico.

IV.- METODO.

#### 4.1.- METODO DE SELECCION DE CASOS Y RECOGIDA DE DATOS.

La casuística objeto de nuestro estudio fué seleccionada a partir de las biopsias existentes en la histoteca de la Cátedra de Anatomía Patológica del Hospital Universitario de Sevilla, durante el período comprendido entre 1975 y el primer semestre de 1986.

Para la elección de los casos se procedió previamente al estudio microscópico de cada una de las biopsias, con objeto de determinar el bloque de parafina que presentaba mejores características histoló-

gicas. Fueron eliminados del estudio, todos aquellos casos en los que había escasez de tejido neoplásico ó bien, los bloques no presentaban unas condiciones adecuadas de conservación.

Los datos clínicos de cada uno de los pacientes, así cómo el tratamiento y la evolución posterior, fueron recogidos de las historias clínicas correspondientes. A partir de ellos se elaboró un protocolo específico para cada caso, cuyo modelo se expone en la GRÁFICA 4.1.

#### 4.2.- TÉCNICAS HISTOLÓGICAS.

##### 4.2.1.- Obtención de los cortes histológicos.

A partir de los fragmentos tisulares incluidos en parafina, se realizaron sesenta cortes seriados, de cuatro a siete micras de grosor, con un microtomo marca REICHERT-JUNG modelo 1130/BIOCUT. Cada corte fué depositado en un baño de flotación de agua a 37° C para facilitar su extensión y recogida en los portaobjetos; que habían sido previamente identificados y tratados con una ligera capa de ovoalbúmina glicerinada al 50%. Para conseguir una adhesión definitiva de los cortes histoló-

Tipo de Tumor..... Biopsia Nº.....  
 Protocolo Nº..... Nº Historia.....  
 Departamento.....  
 Nombre..... Edad.....Sexo.....  
 Profesión..... Lugar de residencia.....  
Antecedentes: Familiares de C.A.....  
 Personales (factores de riesgo).....  
 " (generales).....  
 Menarquia a los .....Años F.M...../.....Menopausia.....Edad.....  
 Formula Obstétrica...../...../...../..... Alteraciones menstruales.....  
Sintomatología: Comienzo a los.....años. Hirsutismo.....  
 Dolor mamario.....Crecimiento.....Libido(alt.).....  
 Dolor abdominal.....Infertilidad.....  
 Motivo consulta(otros).....Pérdida peso.....  
 Tratamiento previo.....Hormonal.....  
Diagnóstico: Exploración.....  
 Líquido ascítico..... Paracentesis.....C.C.....  
 Ecografía.....  
 .....  
 Rx Abdominal.....Mamografía.....  
 Mapa oseo.....  
 Gammagrafía ósea.....  
 Analítica general.....  
 Determinación hormonal.....  
 Anatomía patológica.....  
 .....  
 Colpocitología.....Punción.....  
 Legrado.....  
 Citología l.ascítico.....  
Tipo de intervención.....  
 .....Fecha.....  
 Hallazgos operatorios.....  
 Descripción piezas.....  
 Tamaño.....Características.....  
 Biopsia intra-operatoria.....  
 Estadío.....Evolución posterior.....  
 .....  
 Tratamiento posterior.....  
 Second look.....

gicos a los portaobjetos, se secaron en una estufa a 37° C., durante un tiempo que osciló entre veinticuatro y treinta y seis horas. Posteriormente, los cortes histológicos, fueron guardados al abrigo del polvo hasta el momento de la realización del estudio inmunohistoquímico, que no sobrepasó en ningún caso los tres meses.

#### 4.2.2.- Metodo de control de los cortes histológicos.

La evaluación de la calidad morfológica de los cortes, se realizó mediante tinción de la primera preparación de cada bloque, según la técnica de la Hematoxilina Eosina (H.E.). Previamente se procedió a desparafinar e hidratar los cortes según el siguiente protocolo:

- a.- Desparafinación en dos baños de Xileno, de diez minutos cada uno y posterior aclaramiento en Etanol al 100%.
- b.- Hidratación en alcoholes consecutivos de graduación decreciente (96°, 90°, 80°, 70° y 50°) hasta agua destilada.
- c.- Hematoxilina de Harris, cinco minutos.

- d.- Lavado en agua corriente.
- e.- Eosina alcohólica, un minuto.
- f.- Lavado en agua corriente.
- g.- Deshidratación en alcoholes de graduación creciente y aclarado en dos baños de Xileno, de diez minutos cada uno. Finalmente, las preparaciones fueron montadas en DPX.

#### 4.3.- TECNICAS INMUNOHISTOQUIMICAS.

Para la demostración de los antígenos tisulares específicos que nos propusimos estudiar, utilizamos como procedimiento técnico inmunohistoquímico básico, un método de los llamados "INDIRECTOS"; es decir, empleamos anticuerpos específicos "no marcados" a los que se une una inmunoglobulina, marcada con una enzima, que tiene una gran afinidad por los determinantes antigénicos del anticuerpo primario. Esta enzima, en nuestro caso la peroxidasa de rábano, puede revelarse mediante la adición de un medio que contiene peróxido de

hidrógeno y un cromógeno que es coloreado en el estado oxidado, lo que permite la demostración de los antígenos tisulares a nivel de microscopía fotónica.

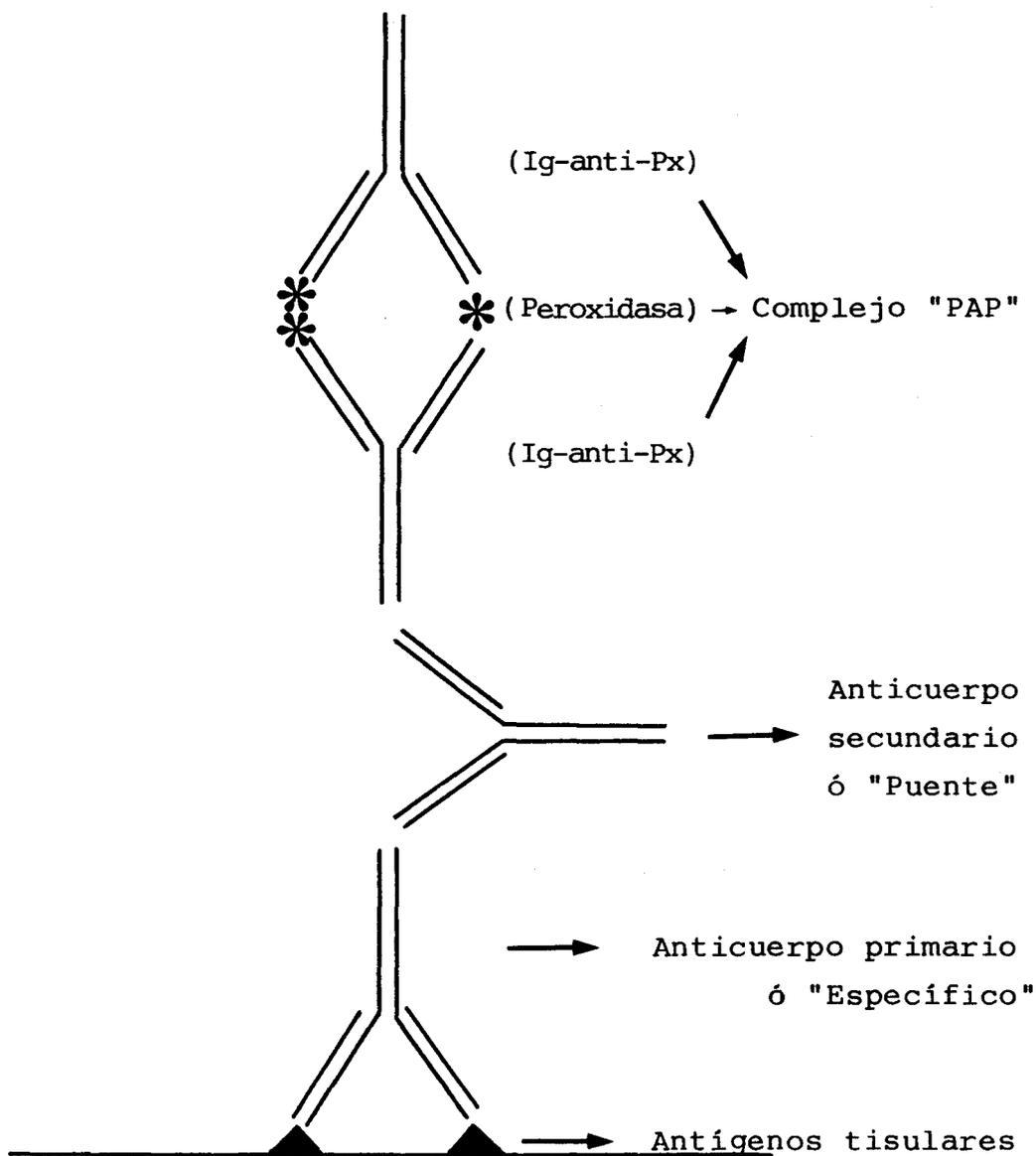
Los métodos indirectos son mucho más sensibles que los directos (anticuerpos primarios marcados) aunque presentan el riesgo de uniones inespecíficas y por otro lado, son bastante más laboriosos de efectuar.

Dentro de las técnicas indirectas, el método de la Peroxidasa-Anti-Peroxidasa (PAP), descrito por STERNBERGER y cols (207) en 1970, es el más empleado por ser el más sensible. Dicho método fué denominado por éste autor "METODO ENZIMATICO DE ANTICUERPOS NO MARCADOS" y consta, de tres etapas básicas (GRAFICA 4.2).

Primera: La incubación del tejido, con un antisuero que contiene el anticuerpo específico del antígeno que se pretende demostrar.

Segunda: La adición de un anticuerpo secundario, que actúa como "puente" y que es específico de las inmunoglobulinas de la especie en la que se obtuvo el anticuerpo primario y el terciario.

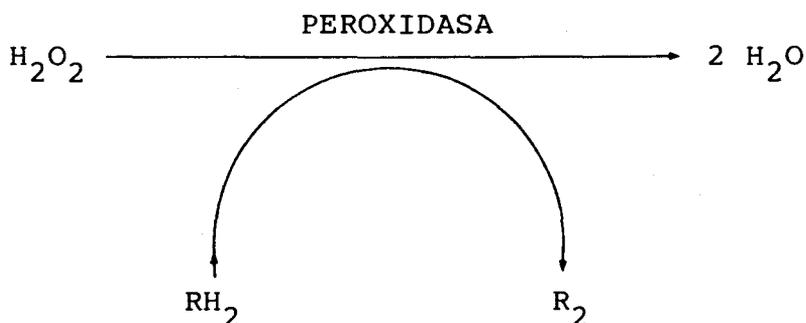
Tercera: La aplicación del complejo PAP, compuesto por Inmunoglobulina anti-peroxidasa y la propia enzima (Peroxidasa-Anti-Peroxidasa) en una proporción 2:3; obtenida en la misma especie animal donde se obtuvo el antisuero primario.



GRAFICA 4.2

Esta tercera etapa es la que diferencia al método de STERNBERGER de otros métodos indirectos, especialmente al propuesto por MASON y cols.(153).

La demostración histoenzimática de la peroxidasa (Px), viene dada por el efecto catalítico que dicha enzima ejerce sobre el substrato, que en éste caso es el peróxido de hidrógeno ( $H_2 O_2$ ), el cual es reducido a agua ( $H_2 O$ ), a través de la oxidación de un dador de electrones (GRAFICA 4.3).

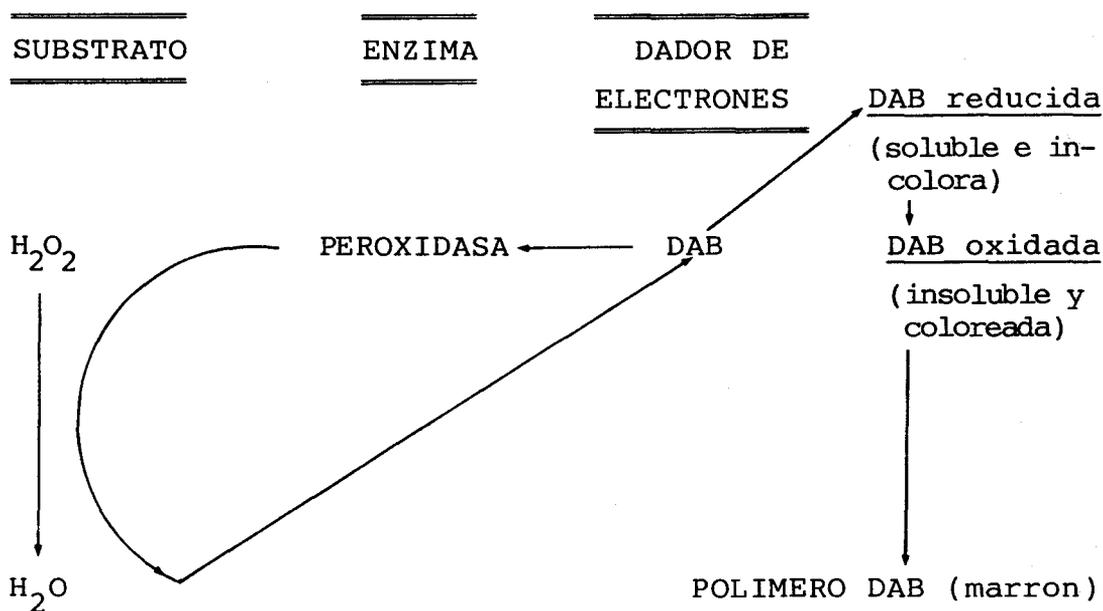


GRAFICA 4.3: Tomado de MONTERO (157)

El dador de electrones, cromógeno ó revelador empleado con mayor frecuencia, es el Tetraclorhidrato de 3-3' Diaminobencidina (DAB), que fué introducido en el año 1966 por GRAHAN Y KARNOVSKY (95) y tiene la ventaja de ir polimerizándose a medida que se va

oxidando,adquiriendo progresivamente un color marrón, con lo que aumenta la intensidad de la reacción (GRAFICA 4.4). Por otra parte,al ser insoluble en solventes orgánicos,permite la deshidratación y aclaramiento de los cortes.Todas éstas propiedades lo convierten en el cromógeno de elección a pesar de su pretendida, pero aún no demostrada,carcinogenicidad.

La utilización de la peroxidasa (Px) de rábano como marcador en el complejo PAP,nos permite poner de manifiesto al microscopio optico,la demostración del antígeno específico.



GRAFICA 4.4: Tomado de MONTERO (157).

La desventaja que presenta el método de STERNBERGER en la práctica, es que simultáneamente al revelado de la peroxidasa (Px) del complejo PAP ó (Px exógena) se ponen de manifiesto las peroxidases propias del tejido; así cómo la actividad pseudoperoxidásica de la hemoglobina, de los granulocitos, de los macrófagos y de otras sustancias (Px y psuedo-Px endógenas). Estas reacciones inespecíficas pueden enmascarar la verdadera reacción inmunoperoxidásica, por presentar ambas la misma coloración. Por ello, se hace necesario un tratamiento previo a la incubación con los antígenos inespecíficos, que permita inhibir dicha actividad. Este tratamiento, se hace imprescindible en aquellos casos en los que existe una gran cantidad de granulocitos y/o glóbulos rojos, como ocurre en los tejidos muy vascularizados.

El método inmunohistoquímico empleado en la realización de éste trabajo, se basa en los fundamentos teóricos anteriormente expuestos y consta de las siguientes etapas:

#### 4.3.1.- Desparafinación e hidratación.

La desparafinación se realiza, mediante pases sucesivos en Xilol y Etanol absoluto. La hidratación

del tejido, requiere varios pasos en alcoholes decrecientes (96%, 90%, 80%, 70% y 50%) con agitación continua.

#### 4.3.2.- Tripsinización.

Introducción de los cortes en un baño de Tampón Tris 0.05M a pH 7.4 con cloruro sódico al 0.85% (TBS), durante diez minutos. Incubación en una solución de Tripsina al 0.1% y  $Cl_2 Ca$  al 0.1% en TBS durante cinco minutos, con el fin de permeabilizar la membrana celular y facilitar la penetración de los anticuerpos en el interior de las células (44).

#### 4.3.3.- Inhibición de la actividad peroxidásica y pseudoperoxidásica endógena.

Para inhibir la actividad peroxidásica y pseudoperoxidásica endógena, se procede a sumergir los cortes en una solución de  $H_2 O_2$  al 3 % en agua destilada durante cinco minutos (230).

#### 4.3.4.- Incubación con suero no inmune.

La siguiente etapa requiere el secado cuidadoso de los portas alrededor del corte, evitando siempre, la deshidratación del tejido. Inmediatamente después, se procede a cubrir las preparaciones con suero normal de cerdo no inmunizado, durante veinticinco minutos. Este suero ha sido previamente diluido al 1:20

en TBS, con ovoalbúmina al 1%.

El fundamento de la incubación del tejido con suero no inmune, consiste en eliminar la tinción inespecífica de fondo; que expresado en palabras de PALACIN (164): "Dificulta y ensombrece en casos extremos, una correcta delimitación de las áreas realmente positivas".

#### 4.3.5.- Incubación con antisuero primario.

Tras los tres lavados de tres minutos cada uno con TBS y posterior secado de las preparaciones, se procedió a incubar los cortes problemas, con el anticuerpo primario ó específico del antígeno que se pretende demostrar.

4.3.5.1.- Antisuero primario: Cada uno de los antisueros primarios utilizados en nuestro estudio, ha sido obtenido, a partir del suero de conejos inmunizados con los antígenos correspondientes. Los antisueros específicos empleados se exponen en la TABLA 4.1.

TABLA 4.1

Anticuerpos primarios utilizados en nuestro estudio.

Antisueros Específicos	Lotes	Casa comercial
Anti-B-H.C.G.	17211	OPERON, S.A.
Anti-P.S.B <sub>1</sub> G.	5854-A	Dr.H.BOHN *
Anti-Alfa <sub>2</sub> PAG	2644-A	"
Anti-PP <sub>5</sub>	6687	"
Anti-PP <sub>10</sub>	377-ZB	"
Anti-PP <sub>12</sub>	25-ZA	"
Anti-PP <sub>14</sub>	201-ZA	"

\* INSTITUTO BEHRING (R.F.A.)

4.3.5.2.-Diluciones óptimas de los antisueros:

Con el fin de conocer las diluciones óptimas y la calidad de cada uno de los antisueros, utilizamos inicialmente cómo tejido problema, la placenta humana normal a término en sus diferentes compartimentos: Placa basal, placa corial, amnio-corion, vellosidades coriales y la decidua basal. Fueron estudiadas varias preparaciones de cada uno de éstos compartimentos en cinco placentas, ensayándose un rango de diluciones que osciló entre 1:40 y 1:1600. Las diluciones óptimas en la placenta humana se exponen en la TABLA 4.2.

La preparación de las diferentes diluciones

TABLA 4.2.

Diluciones optimas en placenta humana de los  
antisueros estudiados.

Antisuero Especifico	Dilución optima(placenta)
Anti-B-H.C.G.	1:200
Anti-P.S.B <sub>1</sub> G.	1:400
Anti-Alfa <sub>2</sub> PAG	1:400
Anti-PP <sub>5</sub>	1:400
Anti-PP <sub>10</sub>	1:400
Anti-PP <sub>12</sub>	1:400
Anti-PP <sub>14</sub>	1:400

se realizó mezclando las proporciones correspondientes del antisuero específico con TBS (pH=7.4), mediante una micropipeta graduada entre cinco y veinticinco microlitros(µl), ( CAPILETOR nº=240265). El proceso fué realizado siempre sobre hielo picado.

Una vez comprobada la calidad de los diferentes antisueros en la placenta humana y demostrada su utilidad cómo control positivo de las reacciones problemas, fueron ensayadas para cada tipo de tumor, un rango

de diluciones de los antisueros que oscilaron entre 1:100 y 1:400.

4.3.5.3.- Controles positivos y negativos:

Para cada caso problema y cada una de las proteínas estudiadas, se incluyeron las siguientes preparaciones:

\* Cuatro preparaciones problemas: En las cuales se empleaban diferentes diluciones del antisuero primario en función del tipo de tumor.

\* Dos controles positivos: Se empleó placenta humana a término ó decídua, en el caso de la PP<sub>10</sub> ; la PP<sub>12</sub> y la PP<sub>14</sub> .

\* Dos controles negativos: Sustituyendo el antisuero primario en una de las preparaciones, por suero de conejo no inmune y por el amortiguador empleado en la dilución del antisuero, en la otra.

4.3.5.4.- Incubación del anticuerpo primario:

Una vez preparadas las diferentes diluciones de los anticuerpos, se procedió a la incubación de las preparaciones problemas e de los diferentes controles positi-



vos y negativos, en cámara húmeda a 4º C., durante un período de tiempo, que osciló entre veinte y veinticuatro horas.

#### 4.3.6.- Incubación con el antisuero "puente".

El antisuero puente ó secundario, consiste en una anti-Inmunoglobulina G de conejo, obtenida por inmunización de otro animal, en nuestro caso, en el cerdo. Este antisuero (lote nº 034.DAKOPATTS), fué utilizado en todos los casos a dilución 1:100.

Una vez finalizada la incubación con el antisuero primario y haber procedido al lavado abundante con TBS (pH = 7.4) y posterior secado del portaobjetos, se procede a la incubación del tejido con el anticuerpo puente a temperatura ambiente, durante veinticinco minutos.

#### 4.3.7.- Incubación con el antisuero terciario.

El antisuero terciario o complejo PAP, se haya constituido por dos moléculas de Inmunoglobulina (Ig G) anti-peroxidasa de rábano, obtenidas por inmunización del conejo y tres moléculas de peroxidasa. Este complejo (lote nº 045 DAKOPATTS) ha sido utilizado a una dilución 1:100.

Finalizada la incubación del tejido con el antisuero secundario, procedimos tras varios lavados sucesivos con TBS y el secado de los portaobjetos, a realizar la incubación con el complejo PAP a temperatura ambiente durante veinticinco minutos.

#### 4.3.8.- Revelado de la reacción.

Ya habíamos mencionado anteriormente las ventajas de emplear como cromógeno la 3-3' D.A.B. Tetra-hidroclorhídrica. Para su preparación, hemos utilizado la técnica descrita por GRAHAN y KARNOVSKY (95):

* D.A.B.	3 mgr.
* TB 0.05 M pH=7.4	10 ml
* H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	10 lambdas

La mezcla reveladora fué preparada inmediatamente antes de su utilización y filtrada en todos los casos.

Al final de la incubación con el antisuero terciario, se procedió a realizar varios lavados con el tampón TRIS 0.05 M pH = 7.4 (TB); posterior secado de los portaobjetos. Inmediatamente despues, se procedió al revelado con la solución reveladora, siempre bajo

control microscópico y nunca excediendo los diez minutos de exposición del tejido a la solución reveladora.

Una vez obtenido el revelado, la reacción se detiene introduciendo las preparaciones en agua destilada, para posteriormente realizar una suave contra-tinción nuclear con Hematoxilina de Harris y una deshidratación en Etanol al 100% en tres pasos sucesivos, para finalizar con el aclaramiento en Xilol.

Por último se realiza el secado de los porta-objetos y a su montaje en DPX para proceder a la adecuada valoración de los resultados.

#### 4.3.9.- Valoración de los resultados.

La interpretación de los resultados se basa en la aparición de una coloración marrón más ó menos intensa, que contrasta con el color azulado de la contra-tinción nuclear con hematoxilina.

La valoración de los resultados ha sido realizada inmediatamente por dos personas, utilizando un microscopio fotónico marca WILD M - 11 y empleando las siguientes equivalencias:

- Reacción negativa.

- + Positiva débil
- ++ Positiva moderada
- +++ Positiva intensa

Finalmente, fueron seleccionadas las preparaciones más demostrativas para su traducción fotográfica; para lo cual empleamos películas de color KODAK de 100 asas de sensibilidad.

V.- RESULTADOS.

## V.-RESULTADOS.

### 5.1. APARATO REPRODUCTOR NORMAL.

Hemos estudiado desde el punto de vista inmuno histoquímico, siete proteínas placentarias (Subunidad beta de H.C.G.; P.S.B.G.;  $\alpha_2$ -PAG; PP<sub>5</sub> ; PP<sub>10</sub>; PP<sub>12</sub> y PP<sub>14</sub> ) en diecisiete biopsias procedentes de diferentes tejidos del aparato reproductor, tanto femenino como masculino (ovario, trompa de Falopio, miometrio, endometrio proliferativo, endometrio secretor y testículo normal) con el fin de establecer la presencia ó ausencia de los mismos, en los diferentes componentes de dicho aparato.

Los resultados obtenidos se expresan en la TABLA 5.1. Tanto en ovario como en el miometrio, todas las proteínas han sido negativas en el 100% de los casos estudiados. La subunidad Beta de la H.C.G., la P.S.B.G. y la PP<sub>12</sub> también fueron negativas en el resto de los tejidos normales estudiados.

La  $\alpha_2$ -PAG ó P.Z.P. se encuentra presente, en el estroma que rodea a las células de Leydig del testículo. (FIGURA 5.1) de los casos estudiados.

La PP<sub>5</sub> ha sido la proteína que con mayor frecuencia ha estado presente en los diferentes tejidos estudiados (64.7%), localizándose en el endosalpinx de la trompa de Falopio, con una intensidad moderada y en algunos casos, adoptando una distribución focal en las zonas proximales a la luz tubárica. En el endometrio en fase proliferativa, la PP<sub>5</sub> se localiza en el estroma y sobre todo en el citoplasma del tejido glandular, siendo de moderada intensidad, pero con una distribución muy uniforme en todos los campos. (FIGURA 5.2). Los mismos resultados se han obtenido en el endometrio en fase secretora, pero a diferencia del caso anterior, la intensidad de la reacción fué muy superior en el citoplasma de epitelio glandular. Finalmente, también hemos podido demostrar la existencia

Fig.5.1.A.- Testículo normal.Caso nº 1.Reacción positiva a la pregnancy associated  $\alpha_2$  globulin ( $\alpha_2$ -PAG)(1:200) en el estroma intertubular (x 200).

Fig.5.1.B.- Testículo normal.Caso nº 1.Testigo. (x 200).

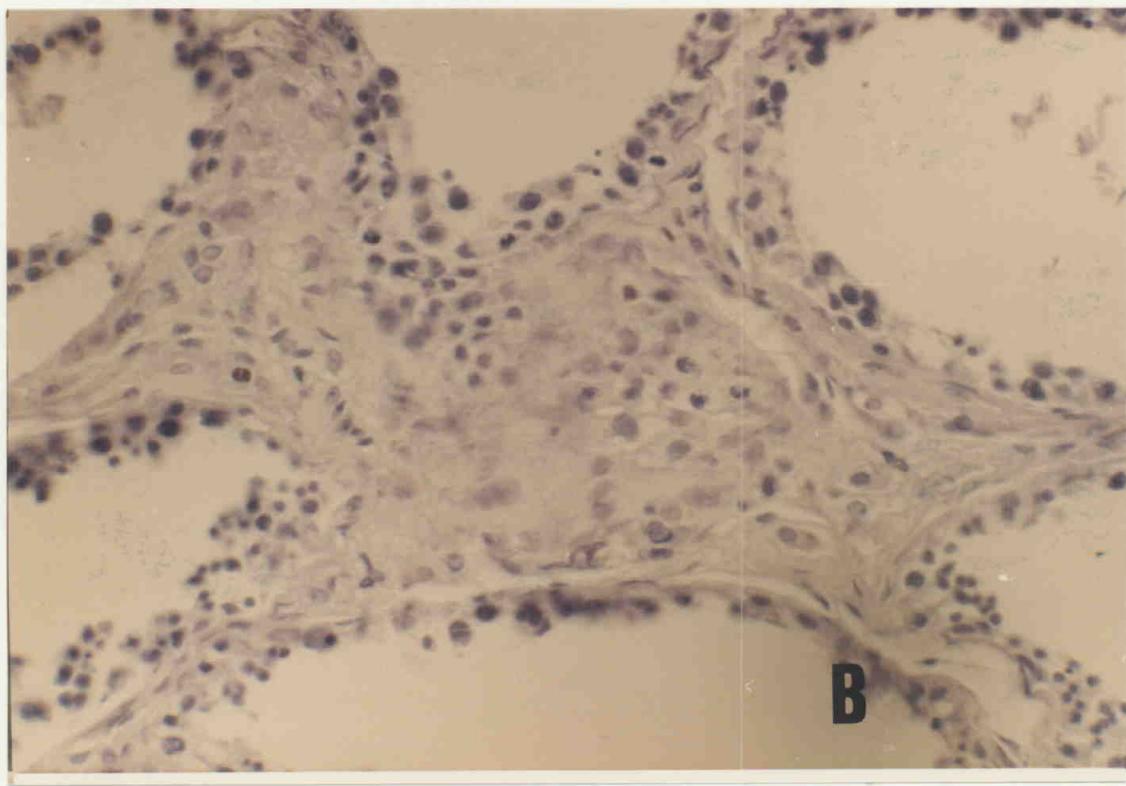
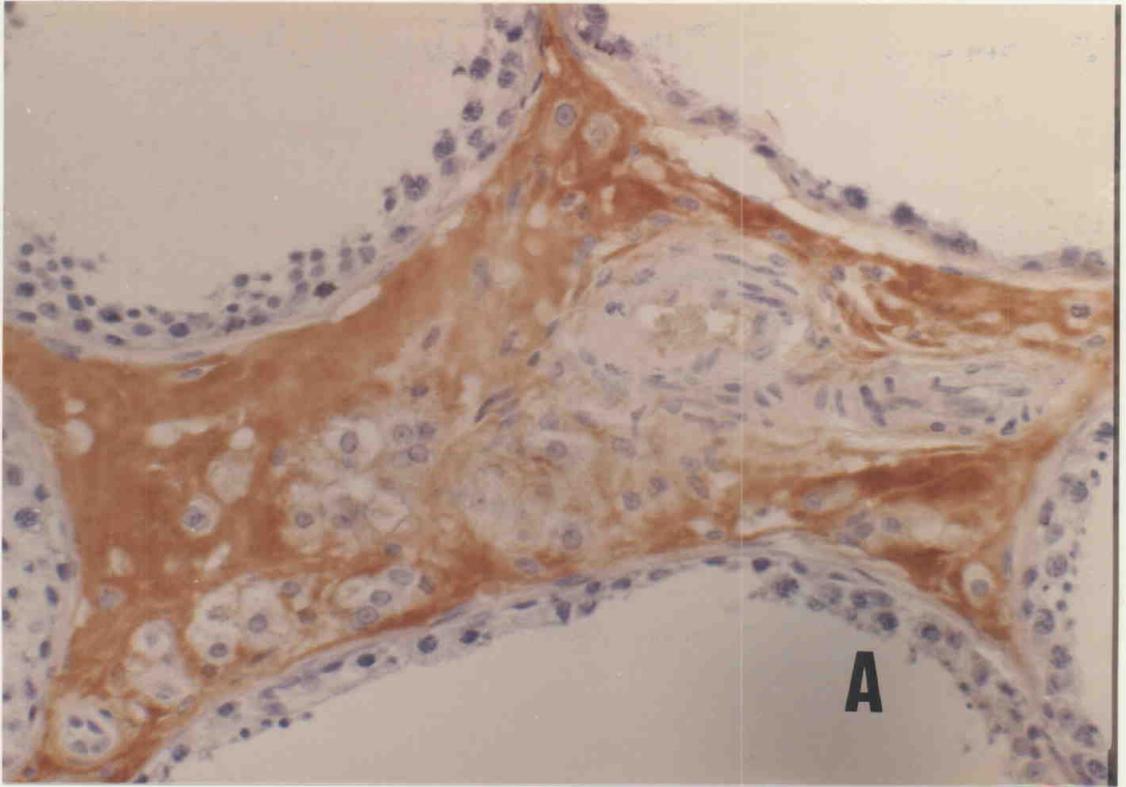


Fig.5.2.A.- Endometrio en fase proliferativa.Caso nº 1.Reacción positiva a la placentar protein 5 (PP<sub>5</sub>)(1:200) en el epitelio glandular(■) y en el estroma(→)(x 400).

Fig.5.2.B.- Endometrio en fase proliferativa.Caso nº 1.Testigo.(x 400).

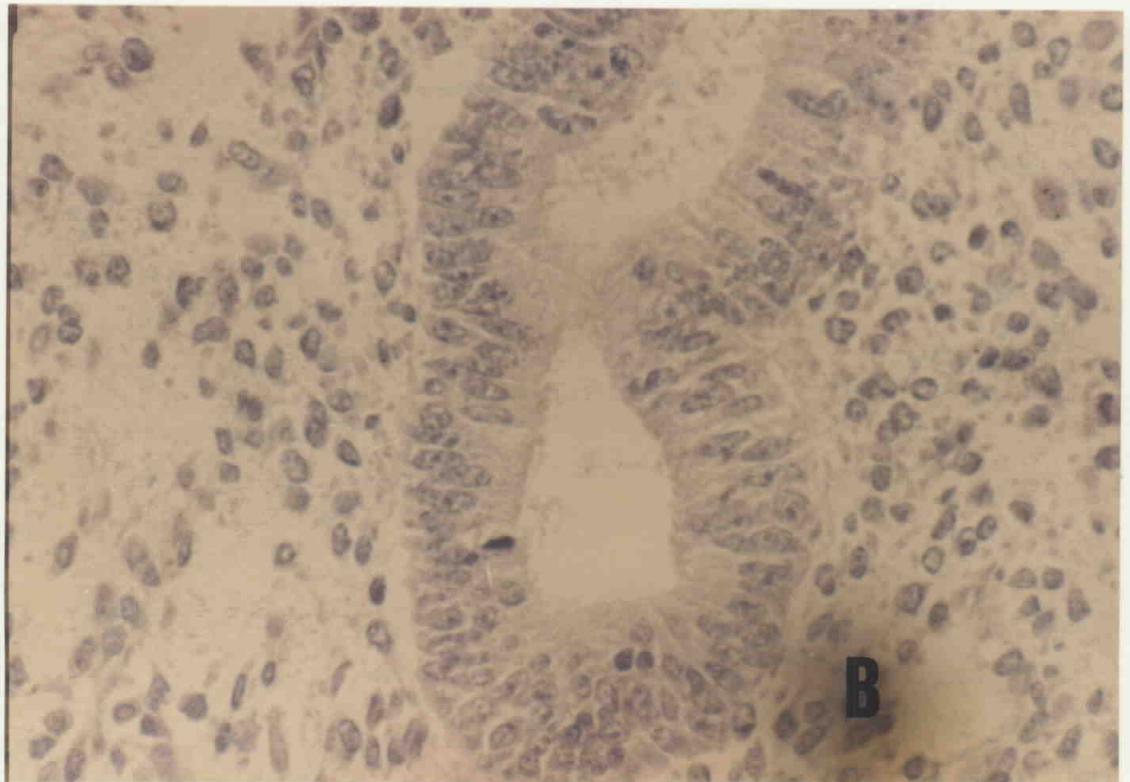
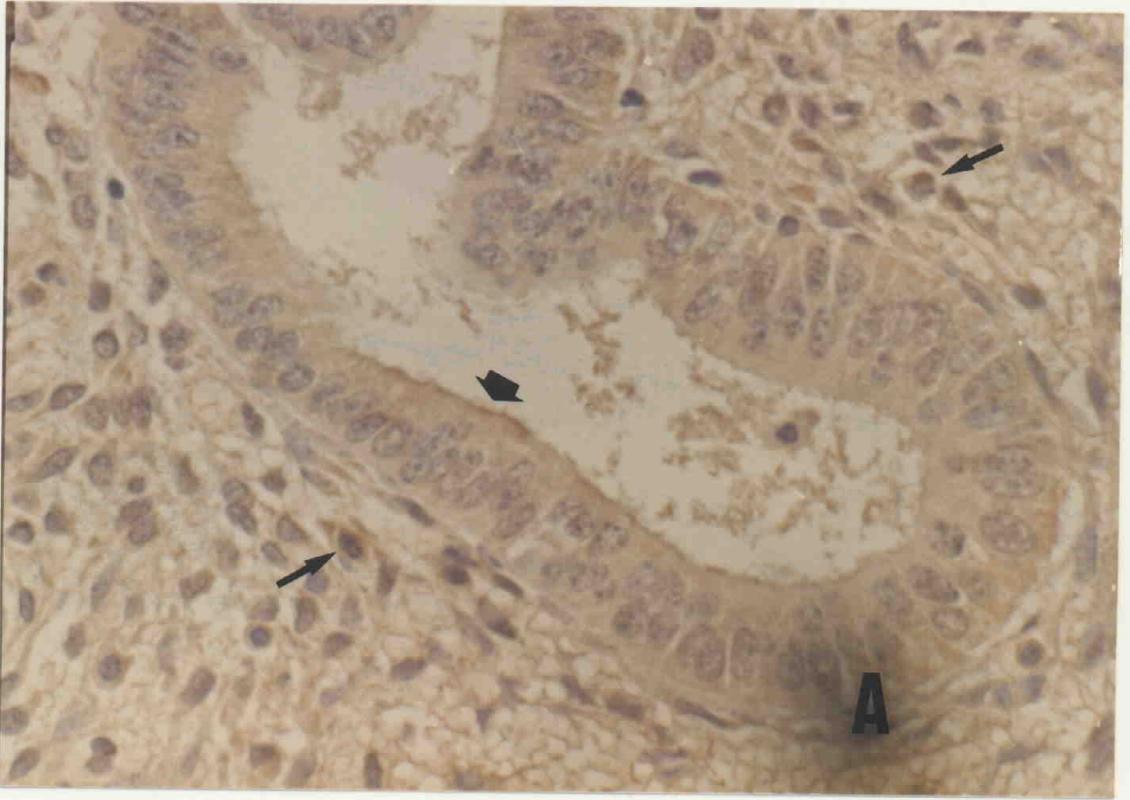


TABLA 5.1

Localización inmunohistoquímica de las proteínas  
onco-placentarias en el aparato preproductor

	B-HCG	PSBG	$\alpha_2$ -PAG	PP <sub>5</sub>	PP <sub>10</sub>	PP <sub>12</sub>	PP <sub>14</sub>
Ovario	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3
Miometrio	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3
Trompa	0/3	0/3	0/3	3/3	0/3	0/3	0/3
Endometrio (proliferativo)	0/3	0/3	0/3	3/3	0/3	0/3	0/3
Endometrio (secretor)	0/3	0/3	0/3	3/3	0/3	0/3	0/3
Testículo	0/2	0/2	2/2	2/2	2/2	0/2	2/2
TOTAL	0/17	0/17	2/17	11/17	2/17	0/17	8/17

Nº de casos positivos/Nº total de casos

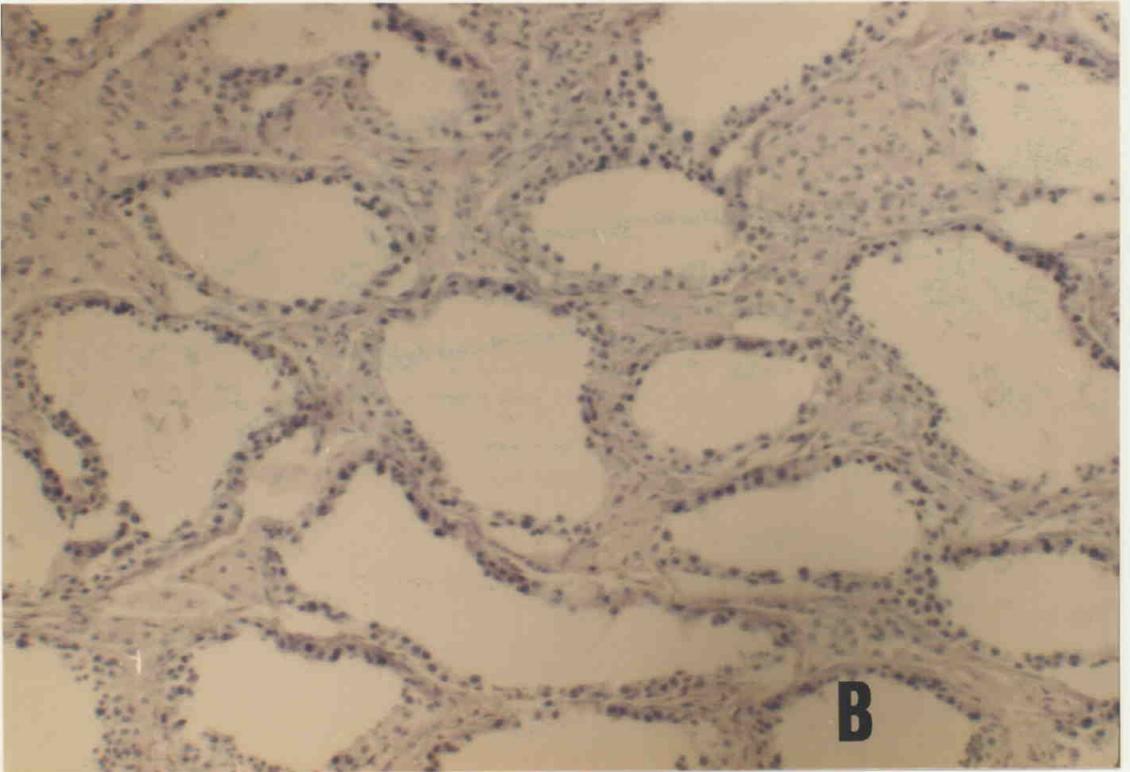
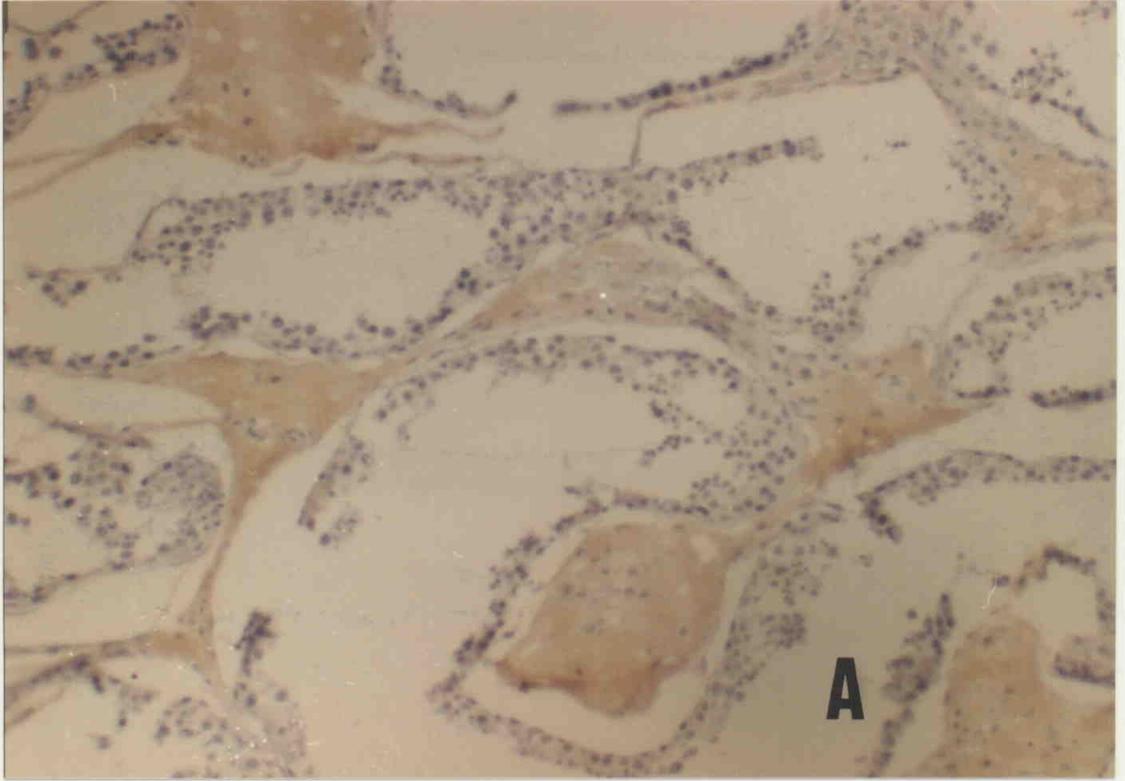
de  $PP_5$ , tanto en la células de Leydig, como en el citoplasma de las células del túbulo seminífero.

La  $PP_{10}$ , al igual que la  $\alpha_2$ -PAG, solamente se encuentra presente en el testículo y dentro de la arquitectura histológica, sólo hemos podido constatar su existencia en el citoplasma de las células de Leydig.

Finalmente, la  $PP_{14}$  está presente en el citoplasma de las células del epitelio glandular, tanto en fase proliferativa como secretora; si bien en éste último caso, la reacción es de mayor intensidad. En el testículo, se encuentra presente en el estroma intertubular y en el citoplasma de las células de Leydig, estando ausente en las células del interior del túbulo seminífero. (FIGURA 5.3.)

Fig.5.3.A.- Testículo normal.Caso nº 1.Reacción positiva a la placentar protein 14 (PP<sub>14</sub>)(1:200) en el estroma intertubular.(x 100).

Fig.5.3.B.- Testículo normal.Caso nº 1.Testigo.(x100)



## 5.2.NEOPLASIAS DEL APARATO REPRODUCTOR.

Los resultados obtenidos en el estudio inmunohistoquímico de siete proteínas placentarias (subunidad Beta de la H.C.G.; P.S.B.G.;  $\alpha_2$ -PAG; PP<sub>5</sub> ; PP<sub>10</sub> ; PP<sub>12</sub> y PP<sub>14</sub> ) en noventa y dos tumores del aparato reproductor femenino y masculino (enfermedad trofoblástica, neoplasias del ovario, del endometrio, del testículo y de la mama) se exponen de acuerdo con la localización y el tipo histológico de las diferentes neoplasias estudiadas

### 5.2.1.Enfermedad trofoblástica.

Dentro de éste grupo, hemos incluido el estudio de seis casos de mola hidatiforme no invasora y seis coriocarcinomas; cinco de ellos localizados en el útero y el sexto fué catalogado como primitivo del ovario, en una niña de trece años.

Los resultados obtenidos tras el estudio inmunohistoquímico, se exponen en la TABLA 5.2.. Con excepción de la PP<sub>10</sub> , que tan sólo estuvo presente en un caso de mola hidatiforme y la PP<sub>12</sub> que estuvo ausente también en un caso; las demás proteínas han

sido localizadas en el sincitiotrofoblasto de todas las molas estudiadas.(FIGURAS 5.4 y 5.5).

TABLA 5.2

Localización inmunohistoquímica de las proteínas onco-placentarias en la enfermedad trofoblástica

Proteínas	Molas		Coriocarcinoma		Total	
	*	%	*	%	*	%
B-H.C.G.	6/6	100.0	5/6	83.3	11/12	91.7
P.S.B.G.	6/6	100.0	5/6	83.3	11/12	91.7
$\alpha_2$ -PAG	6/6	100.0	2/6	33.3	8/12	66.7
PP <sub>5</sub>	6/6	100.0	5/6	83.3	11/12	91.7
PP <sub>10</sub>	1/6	16.6	2/6	33.3	3/12	25.0
PP <sub>12</sub>	5/6	83.3	2/6	33.3	7/12	58.3
PP <sub>14</sub>	6/6	100.0	2/6	33.3	8/12	66.7

\* N<sup>o</sup> casos positivos/N<sup>o</sup> total de casos

% Porcentaje de casos positivos

En cuanto a los coriocarcinomas, los resultados fueron muy variables. La subunidad Beta de la H.C.G., la P.S.B.G. y la PP<sub>5</sub> ; estuvieron presentes en el 83.3%

Fig.5.4.A.- Mola hidatiforme.Caso nº 3.Reacción positiva a la pregnancy specific B<sub>1</sub> glycoprotein (P.S.B.G.)(1:200) en el sincitiotrofoblasto (■) (x 400).

Fig.5.4.B.- Mola hidatiforme.Caso nº 3.Testigo.(x400).

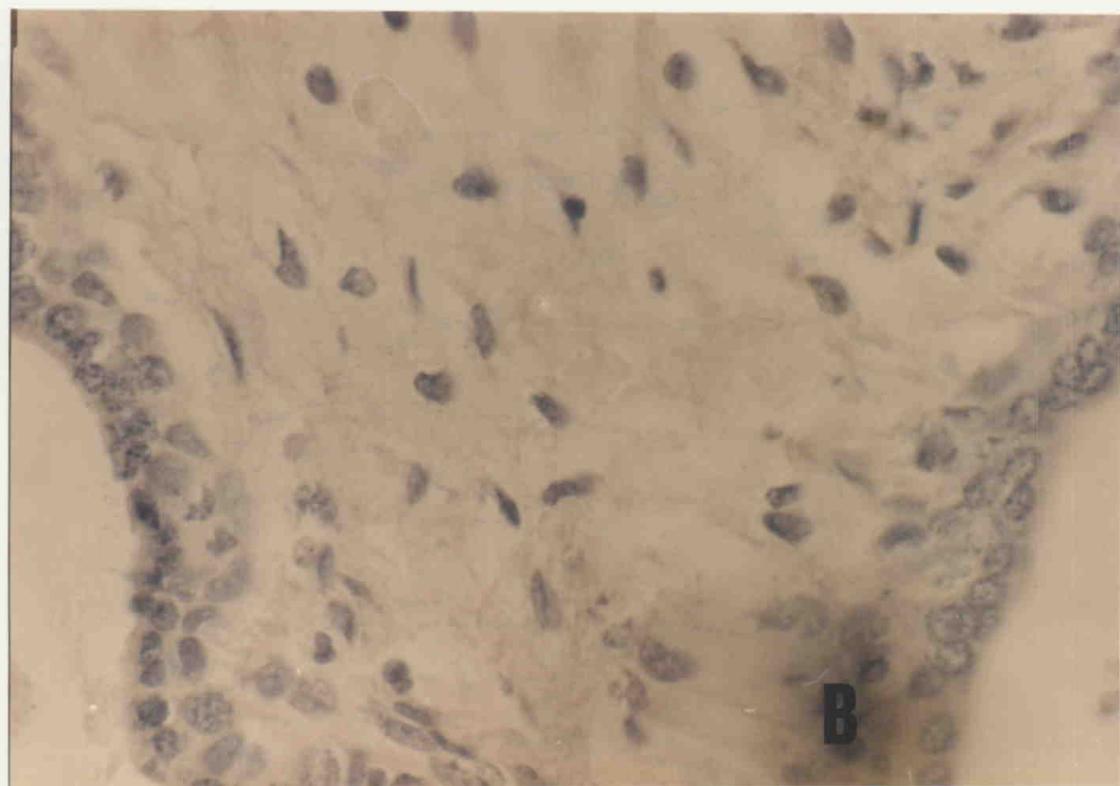
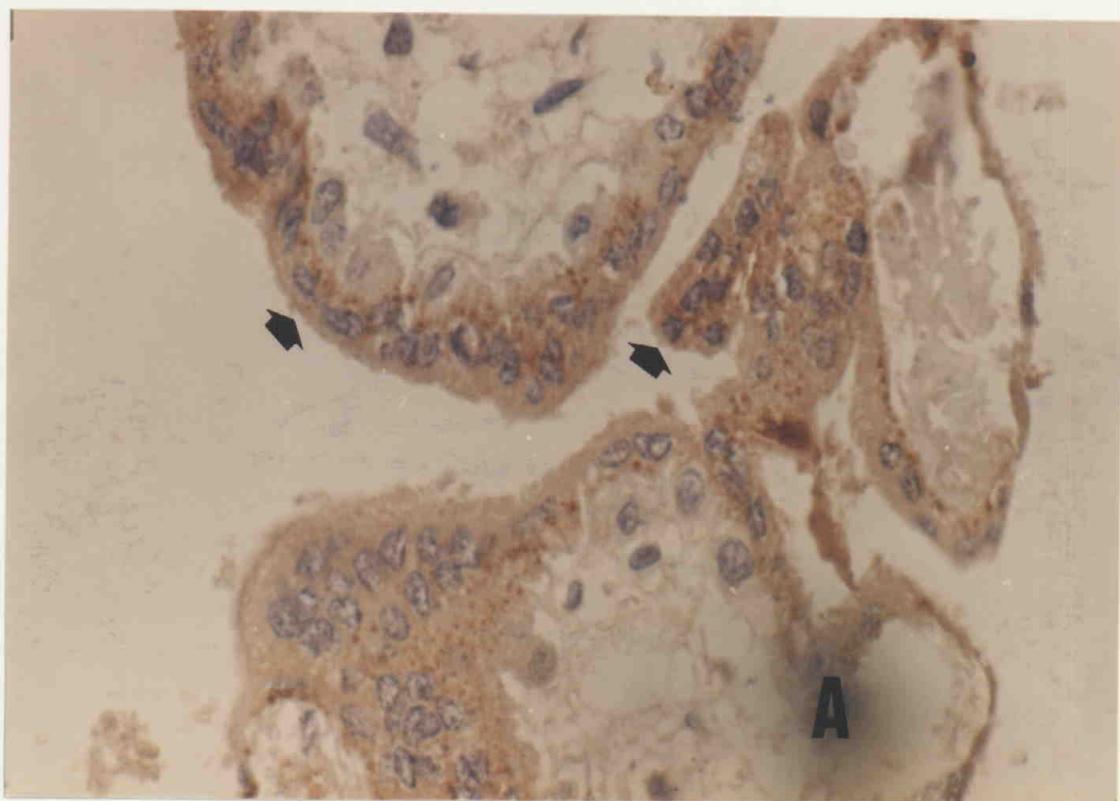
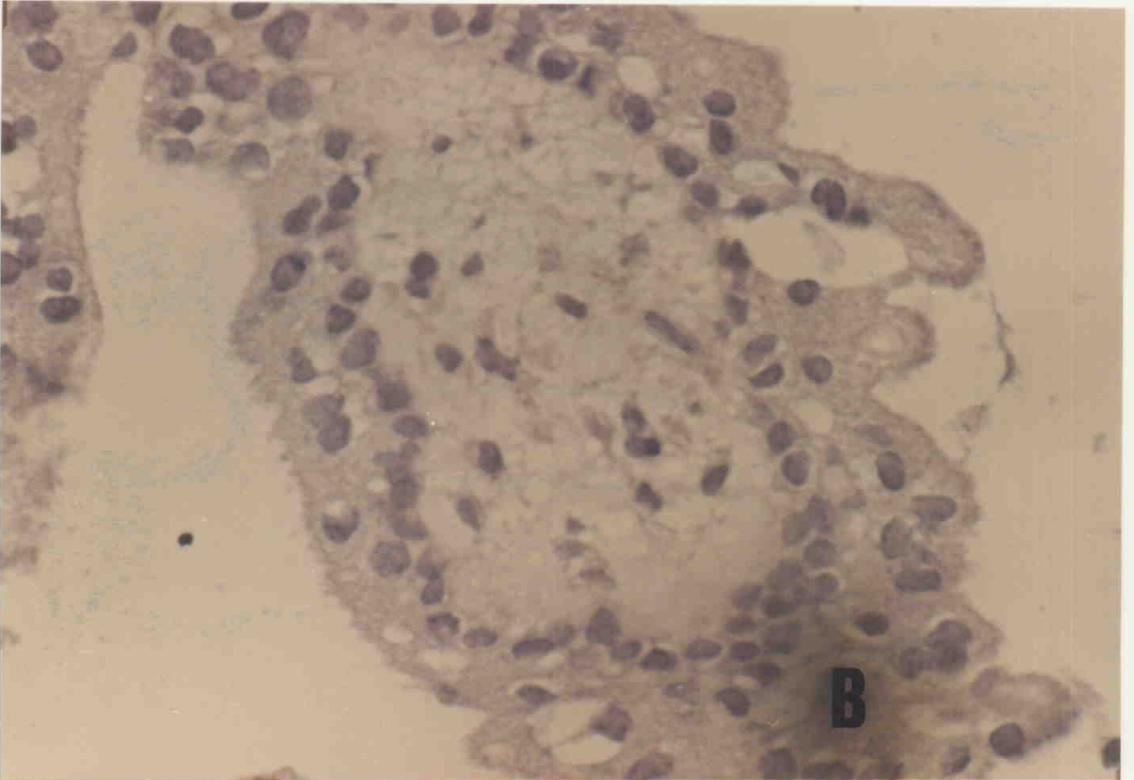
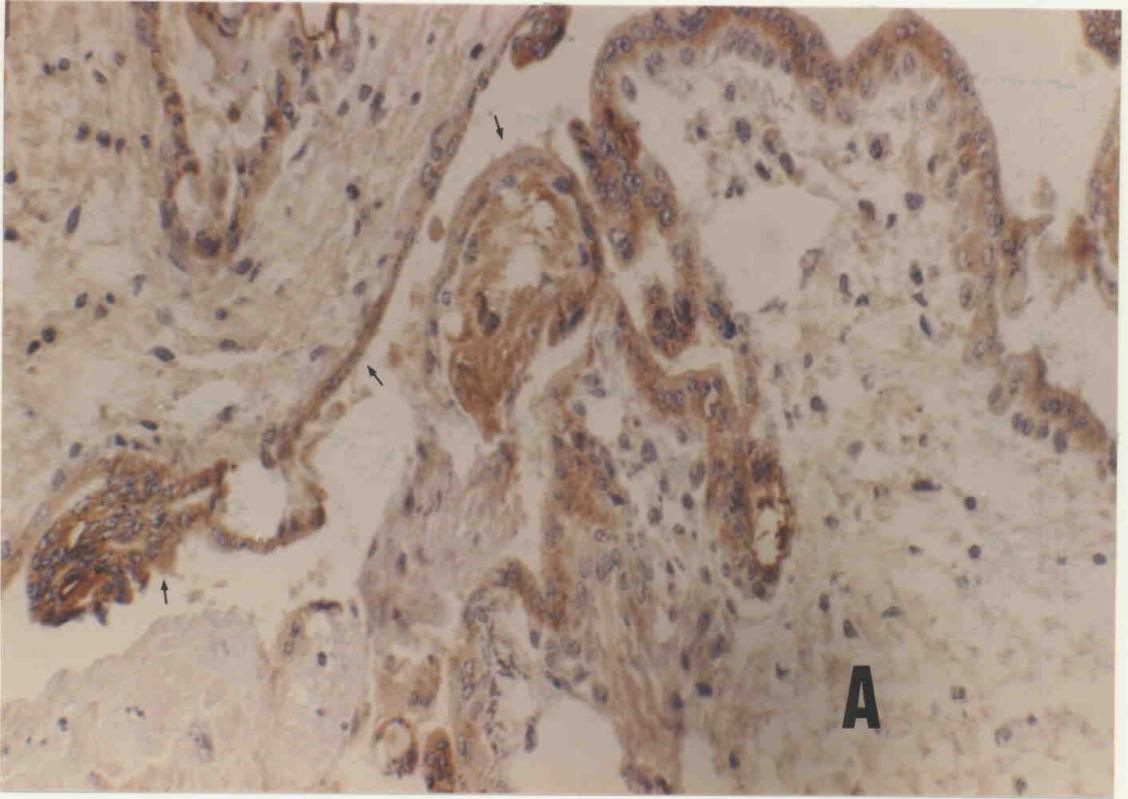


Fig.5.5.A.- Mola hidatiforme.Caso nº 1.Reacción positiva a la placentar protein 5 (PP<sub>5</sub>) (1:200) en el sincitiotrofoblasto (→) (x 200).

Fig.5.5.B.- Mola hidatiforme.Caso nº 1.Testigo (x400).



de los casos, mientras que la  $\alpha_2$ -PAG, la PP<sub>10</sub> (FIGURA 5.6.), la PP<sub>12</sub> y la PP<sub>14</sub> tan sólo fueron puestas de manifiesto en el 33.3%.

Cuando se analiza la intensidad de la innumorreacción, de forma comparativa entre las molas hidatídicas y los coriocarcinomas (TABLA 5.3) puede observarse, que la subunidad Beta de H.C.G.; la P.S.B.G. y la  $\alpha_2$ -PAG, presentaron una coloración más intensa en los coriocarcinomas que en las molas. Por el contrario, la PP<sub>10</sub>; la PP<sub>12</sub> y la PP<sub>14</sub>, dieron lugar a una reacción moderada (+); que se puso de manifiesto en mayor proporción, en las molas hidatiformes.

Finalmente, cuando se comparan los resultados obtenidos en las molas y los coriocarcinomas, sólo se observan diferencias estadísticamente significativas, en el caso de la  $\alpha_2$ -PAG ( $p < 0,01$ ).

Al relacionar el número total de casos estudiados, con el número total de proteínas detectadas (TABLA 5.4), se observa cómo todos los casos de mola hidatiforme contenían cinco o más proteínas, mientras que solamente en dos coriocarcinomas, estaban presentes seis proteínas.

Fig.5.6.A.- Coriocarcinoma ovarico.Caso nº 4.Reacción  
positiva a la placentar protein 10(PP<sub>10</sub>)  
(1:400) en una célula multinucleada.(x400)

Fig.5.6.B.- Coriocarcinoma ovárico.Caso nº 4,Testigo.  
(x 400).

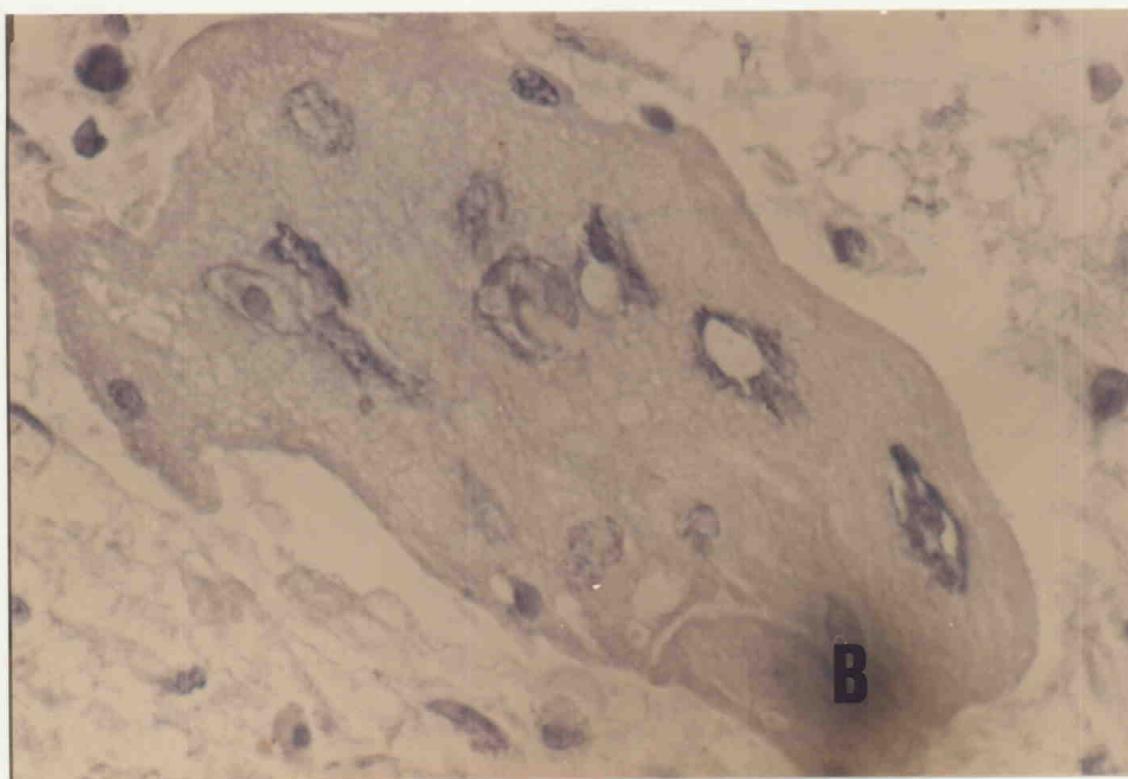
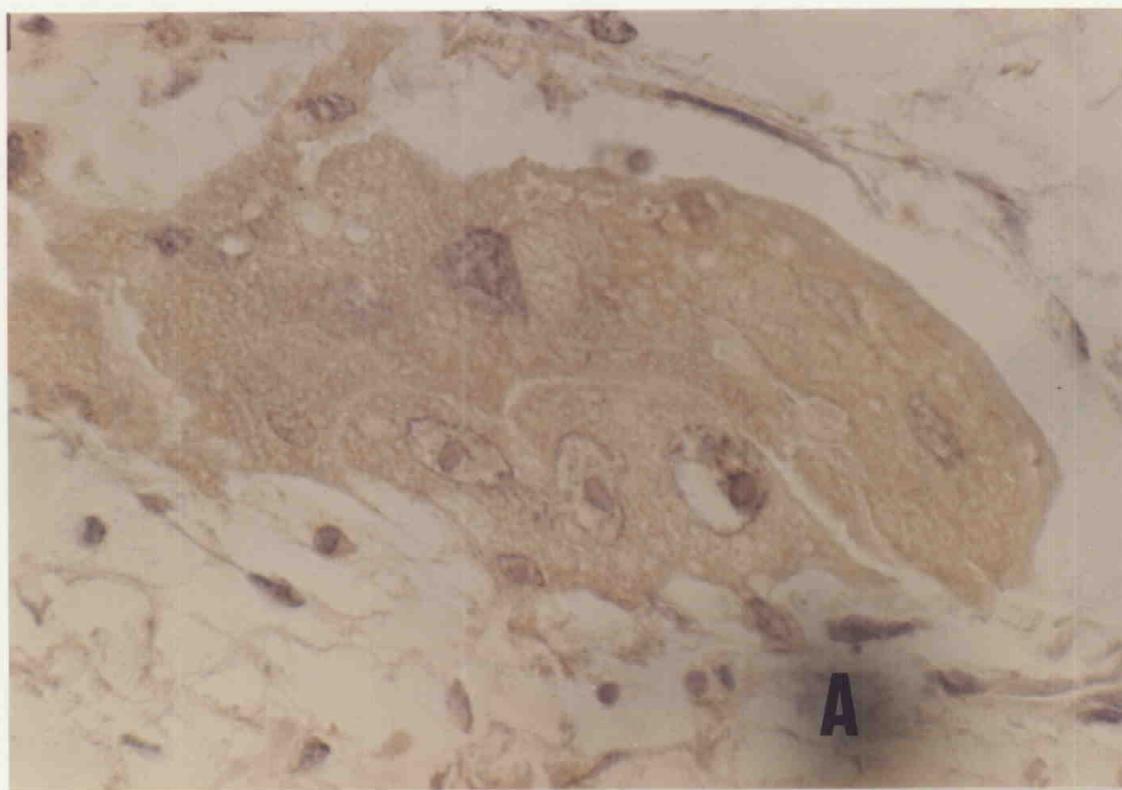


TABLA 5.3

Intensidad de las inmunorreacciones en la enfermedad trofoblástica

Proteínas		Inmunorreacción							
		Negativa		(+)		(++)		(+++)	
		Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
B.H.C.G.	M.	-	-	-	-	3	50.0	3	50.0
	C.C.	1	16.6	-	-	1	16.6	4	66.6
P.S.B.G.	M	-	-	4	66.6	2	33.3	-	-
	C.C.	1	16.6	-	-	3	50.0	2	33.3
$\alpha_2$ -PAG	M.	-	-	6	100.0	-	-	-	-
	C.C.	4	66.6	-	-	1	16.6	1	16.6
PP <sub>5</sub>	M.	-	-	-	-	2	33.3	4	66.6
	C.C.	1	16.6	2	33.3	3	50.0	-	-
PP <sub>10</sub>	M.	5	83.3	1	16.6	-	-	-	-
	C.C.	4	66.6	2	33.3	-	-	-	-
PP <sub>12</sub>	M.	1	16.6	5	83.3	-	-	-	-
	C.C.	4	66.6	2	33.3	-	-	-	-
PP <sub>14</sub>	M.	-	-	5	83.3	1	16.6	-	-
	C.C.	4	66.6	2	33.3	-	-	-	-

M = Mola hidatídica ; C.C. = Coriocarcinoma

(+) = Reacción moderada (++) = Reacción intensa (+++) = Reacción muy intensa

N.S. = No significativo

TABLA 5.4

Relación entre el número de proteínas  
y el número de casos estudiados

Tipo	Número de proteínas presentes							
	0	1	2	3	4	5	6	7
Molas	-	-	-	-	-	1	4	1
Coriocarcinomas	1	-	-	1	2	-	2	-
Total	1	0	0	1	2	1	6	1
%	(8.3)			(8.3)	(16.7)	(8.3)	(50.0)	(8.3)

Cuando se analiza individualmente el número de proteínas presentes en cada caso de mola hidatiforme, se observa que sólo en un caso, fué positiva la PP<sub>10</sub> y en otro diferente la PP<sub>12</sub>. Al tratar de establecer una relación con los datos clínicos o histopatológicos no se observa ninguna diferencia respecto de los otros cuatro casos estudiados. Realizando el mismo tipo de análisis en los coriocarcinomas, hemos observado que tan solo en un caso todas las proteínas fueron negativas y que el carcinoma primitivo del ovario contenía todas

las proteínas excepto la PP<sub>14</sub>. No hemos encontrado ningún tipo de relación entre la presencia o ausencia y el grado de intensidad de la reacción de la subunidad Beta de la H.C.G., la P.S.B.G.; la  $\alpha_2$ -PAG; la PP<sub>5</sub> y la PP<sub>14</sub>, con el tiempo de supervivencia de las pacientes que presentaron un coriocarcinoma. La relación entre la presencia de PP<sub>10</sub> y PP<sub>12</sub> y la evolución de las pacientes con coriocarcinoma, se expone en la TABLA 5.5; si bien, hay que destacar que no existen diferencias y significativas.

TABLA 5.5

Relación entre la evolución de las pacientes con coriocarcinoma y la presencia de PP<sub>10</sub> y PP<sub>12</sub>.

Evolución	PP <sub>10</sub> y PP <sub>12</sub> positivas	PP <sub>10</sub> y PP <sub>12</sub> negativas
Sobreviven	2	1
Fallecieron	-	3

### 5.2.2. Neoplasias del ovario

El análisis de los resultados obtenidos tras el estudio inmunohistoquímico de las proteínas oncoplacentarias (B-H.C.G.; P.S.B.G.;  $\alpha_2$ -PAG; PP<sub>5</sub> ; PP<sub>10</sub> ; PP<sub>12</sub> y PP<sub>14</sub> ) en las neoplasias del ovario, se expone de acuerdo con la clasificación de estos tumores.

#### 5.2.2.1. Neoplasias epiteliales del ovario:

Dentro de éste grupo, hemos estudiado desde el punto de vista inmunohistoquímico, veinticinco neoplasias epiteliales del ovario. Los resultados obtenidos para cada una de la proteínas , se expresa en la TABLA 5.6.

TABLA 5.6

Las proteínas oncoplacentarias en los tumores epiteliales del ovario

Tipo de tumor	B-HCG	PSBG	$\alpha_2$ -PAG	PP <sub>5</sub>	PP <sub>10</sub>	PP <sub>12</sub>	PP <sub>14</sub>
Carcinomas Serosos	3/6	0/6	0/6	0/6	1/6	4/6	3/6
Carcinomas mucinosos	4/6	0/6	0/6	0/6	2/6	2/6	2/6
Adenocarcinomas Endometrioides	0/6	6/6	3/6	2/6	6/6	6/6	6/6
Carcinomas de celulas claras	6/6	0/6	3/6	1/6	5/6	4/6	6/6
Carcinomas indiferenciados	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1
<b>TOTAL</b>	13/25	6/25	6/25	3/25	14/25	14/25	17/25
%	(52.0)	(24.0)	(24.0)	(12.0)	(56.0)	(64.0)	(68.0)

Tanto en los cistoadenocarcinomas papilares serosos como en los cistoadenocarcinomas mucinosos, la P.S.B.G.; la  $\alpha_2$ -PAG y la PP<sub>5</sub> fueron negativas en todos los casos. Por el contrario, hemos detectado la presencia de la B-H.C.G. (50.0%); de la PP<sub>12</sub> (66.6%) y de la PP<sub>14</sub> (50.0%) en los cistoadenocarcinomas papilares serosos y de la B-H.C.G. (66.6%) y de las PP<sub>10</sub>, PP<sub>12</sub> y PP<sub>14</sub> (33.3%) en los cistoadenocarcinomas mucinosos.

En los adenocarcinomas endometrioides estuvieron presentes todas las proteínas estudiadas, excepto la B-H.C.G., en proporciones que oscilaron entre el 33.3% y el 100.0% de los casos (FIGURA 5.7).

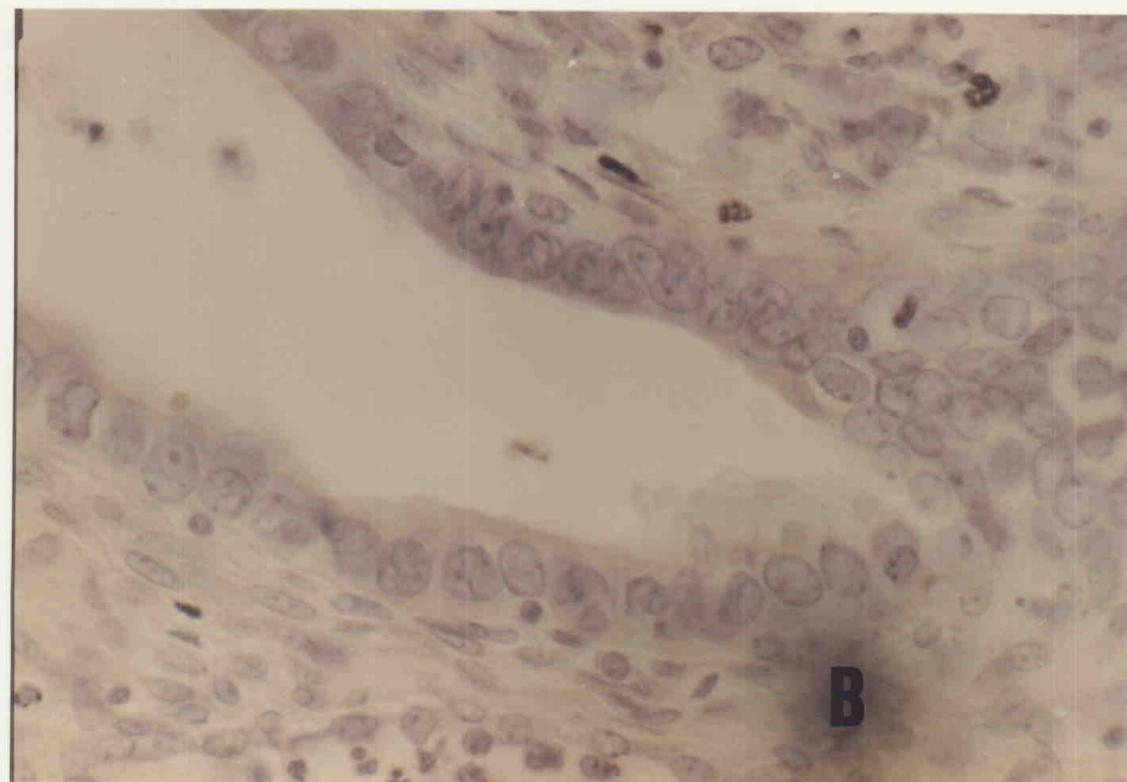
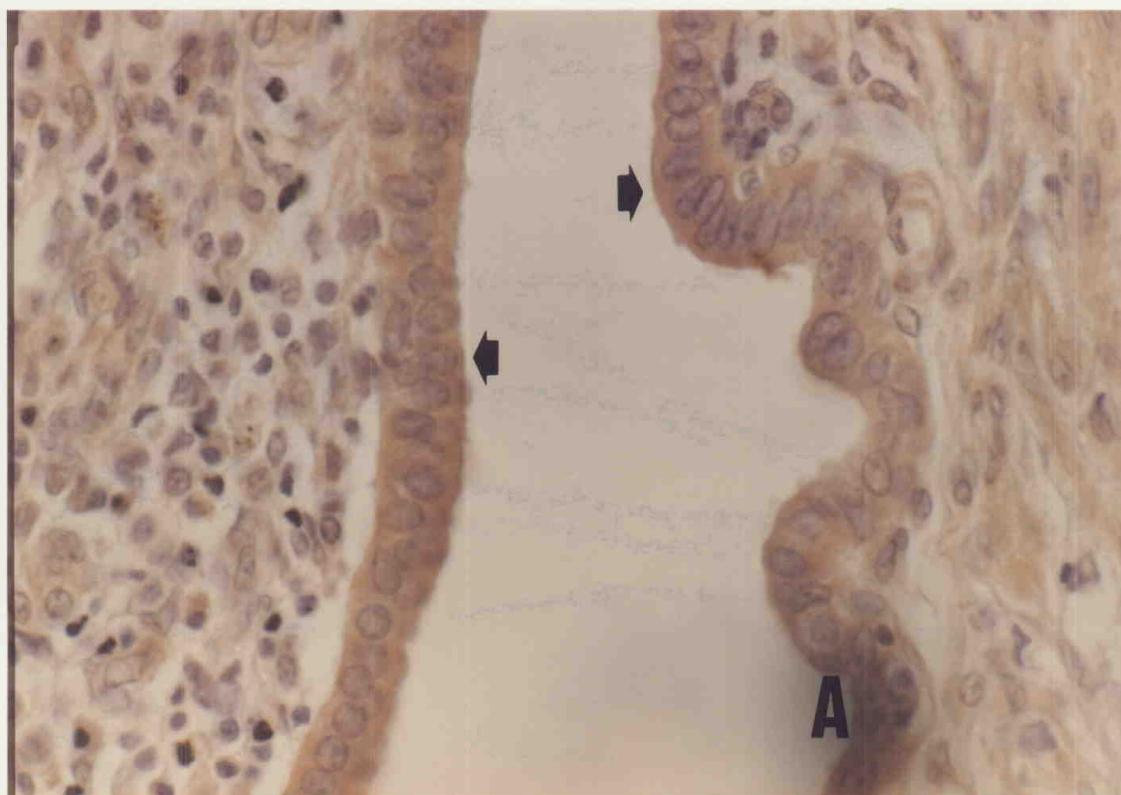
Los carcinomas de células claras contenían todas las proteínas estudiadas, excepto la P.S.B.G.; no existiendo diferencias entre el tipo histológico (adenocarcinomas de células claras y carcinomas endometrioides con patrón de células claras) y la presencia ó ausencia de las diferentes proteínas.

En el único caso de carcinomas indiferenciado estudiado, no pudimos poner en evidencia la existencia de ninguna de las proteínas.

Finalmente, las proteínas que con mayor frecuen-

Fig.5.7.A.- Carcinoma endometriode del ovario.Caso nº 4.Reacción positiva (  ) a la placentar protein 14 (PP<sub>14</sub>) (1:200) (x 400).

Fig.5.7.B.- Carcinoma endometriode del ovario.Caso nº 4.Testigo.(x 400).



cia se detectan en los tumores epiteliales del ovario, fueron la PP<sub>14</sub> (68%) y la PP<sub>12</sub> (64%), mientras que la PP<sub>5</sub> tan sólo estuvo presente en el 12% de los casos estudiados.

En cuanto a la intensidad de las reacciones positivas, lo fueron de moderada intensidad en todos los casos.

Cuando se relaciona el número total de neoplasias estudiadas, distribuidas según el tipo histológico, con el número total de proteínas presentes (TABLA 5.7), puede observarse que en el 80% de los casos, al menos una proteína estaba presente en el tejido neoplásico.

No hemos encontrado ninguna relación, entre el estadio clínico de la tumoración y el número de proteínas presentes en el tejido tumoral (TABLA 5.8). Los mismos resultados se obtienen, cuando se relaciona el tiempo de supervivencia con el tipo histológico y el número de proteínas presentes en el tejido (GRAFICA 5.1); si bien hemos observado que en el caso de los carcinomas mucinosos, todas las mujeres que sobreviven, presentaban positividad de al menos una de las proteínas estudiadas.

TABLA 5.7

Relación entre el número de proteínas presentes con el tipo de tumor

Tipo de tumor	Número de proteínas presentes						
	0	1	2	3	4	5	6
C.Serosos	2	1	-	2	1	-	-
C.Mucinosos	2	1	1	1	1	-	-
C.Endometrioides	-	-	-	-	2	3	1
C.células claras	-	-	-	2	2	1	1
C.Indiferenciado	1	-	-	-	-	-	-
TOTAL	5	2	1	5	6	4	2
%	(20.0)	(8.0)	(4.0)	(20.0)	(24.0)	(16.0)	(8.0)

TABLA 5.8

Relación entre el estadio clínico y el número de proteínas presentes en el tejido tumoral

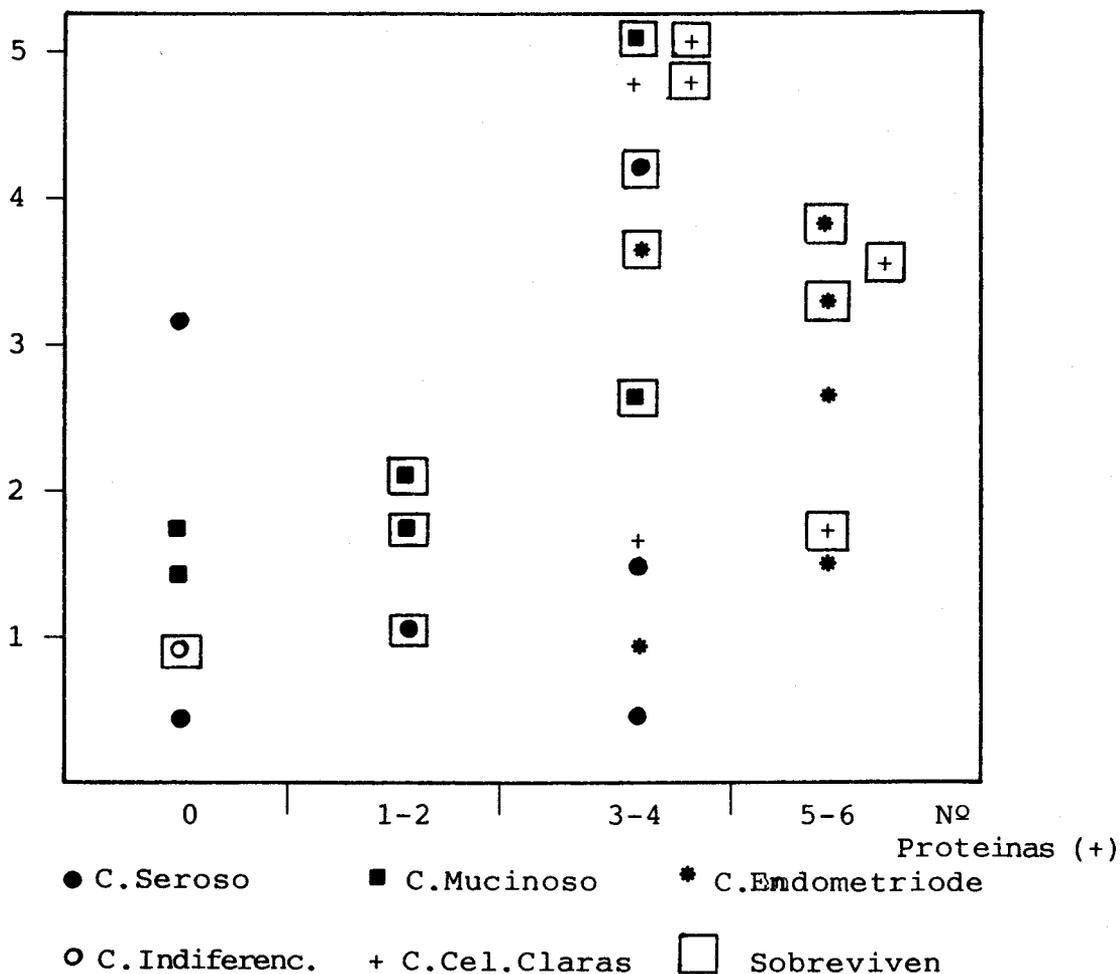
Estadio	0	1-2	3-4	5-6
I	-	2	2	2
II	1	-	3	2
III	1	1	3	1
IV	3	-	3	1

Finalmente, tampoco hemos encontrado ninguna relación entre la intensidad de la reacción de cada una de las proteínas, ni con el estadio tumoral, ni con el tiempo de de supervivencia.

GRAFICA 5.1

Relación entre el tiempo de supervivencia, el tipo histológico y el número de proteínas presentes en el tejido tumoral.

Años



5.2.2.2. Tumores de los cordones sexuales y del estroma: Dentro del grupo de los tumores de los cordones sexuales y de la estroma del ovario, hemos estudiado dieciocho biopsias distribuidas según el tipo histológico en: Seis tecomas, seis fibrotecomas y seis tumores de células de la granulosa. En la TABLA 5.9, puede observarse cómo ninguna de las proteínas estudiadas, ha podido ser detectada en estos tipos de tumores.

TABLA 5.9

Resultados obtenidos en el estudio inmunohistoquímico de los tumores de los cordones sexuales y del estroma

Tipo de tumor	B-HCG	PSBG	$\alpha_2$ -PAG	PP <sub>5</sub>	PP <sub>10</sub>	PP <sub>12</sub>	PP <sub>14</sub>
Tecomas	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6
Fibrotecomas	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6
T.de células de la granulosa	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6
<b>TOTAL</b>	<b>0/18</b>	<b>0/18</b>	<b>0/18</b>	<b>0/18</b>	<b>0/18</b>	<b>0/18</b>	<b>0/18</b>

Nº de casos estudiados/Nº total de casos estudiados

5.2.2.3. Tumores de células germinales: Hemos estudiado un total de diez biopsias de tumores de células germinales, distribuidas según el tipo histológico en : Cuatro disgerminomas, dos tumores del seno endodérmico, un carcinoma embrionario y finalmente, tres teratomas sólidos inmaduros, dos de ellos grado I de THURLBECK y SCULLY y el tercero, catalogado de grado III. Los resultados obtenidos tras el estudio inmunohistoquímico de la subunidad Beta de la H.C.G.; la P.S.B.G.; la  $\alpha_2$ -PAG; la PP<sub>5</sub>; la PP<sub>10</sub>; la PP<sub>12</sub> y la PP<sub>14</sub>, se expresan en la TABLA 5.10

La subunidad Beta de la gonodotrofina coriónica y la PP<sub>10</sub>, fueron negativas en todos los casos estudiados. Cuando se analizan los resultados según el tipo histológico del tumor, se observa que todas las proteínas fueron negativas en los tumores del seno endodérmico. Analizados los resultados en su conjunto, las proteínas onco-placentarias más frecuentemente detectadas en los tumores de las células germinales fueron: La  $\alpha_2$ -PAG (50.0%) (FIGURA 5.8), seguido de la P.S.B.G.; PP<sub>5</sub> y PP<sub>14</sub> (40.0%).

Cuando se relaciona el tipo del tumor con el número de proteínas onco-placentarias presentes en el tejido tumoral (TABLA 5.11), puede observarse,

Fig.5.8.A.- Carcinoma embrionario del ovario.Caso nº 1.Reacción positiva (→) a la pregnancy associated  $\alpha_2$  globulin ( $\alpha_2$ -PAG) (1:400) (x 400).

Fig.5.8.B.- Carcinoma embrionario del ovario.Caso nº 1.Testigo. (x 400).

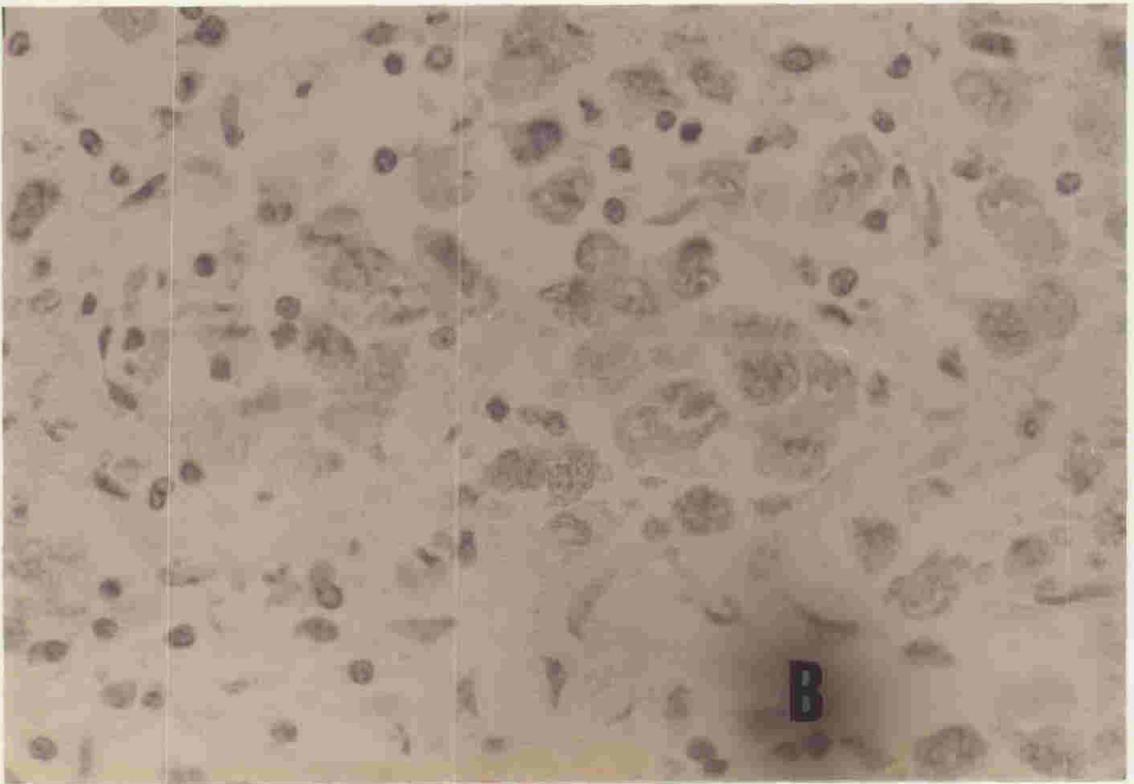
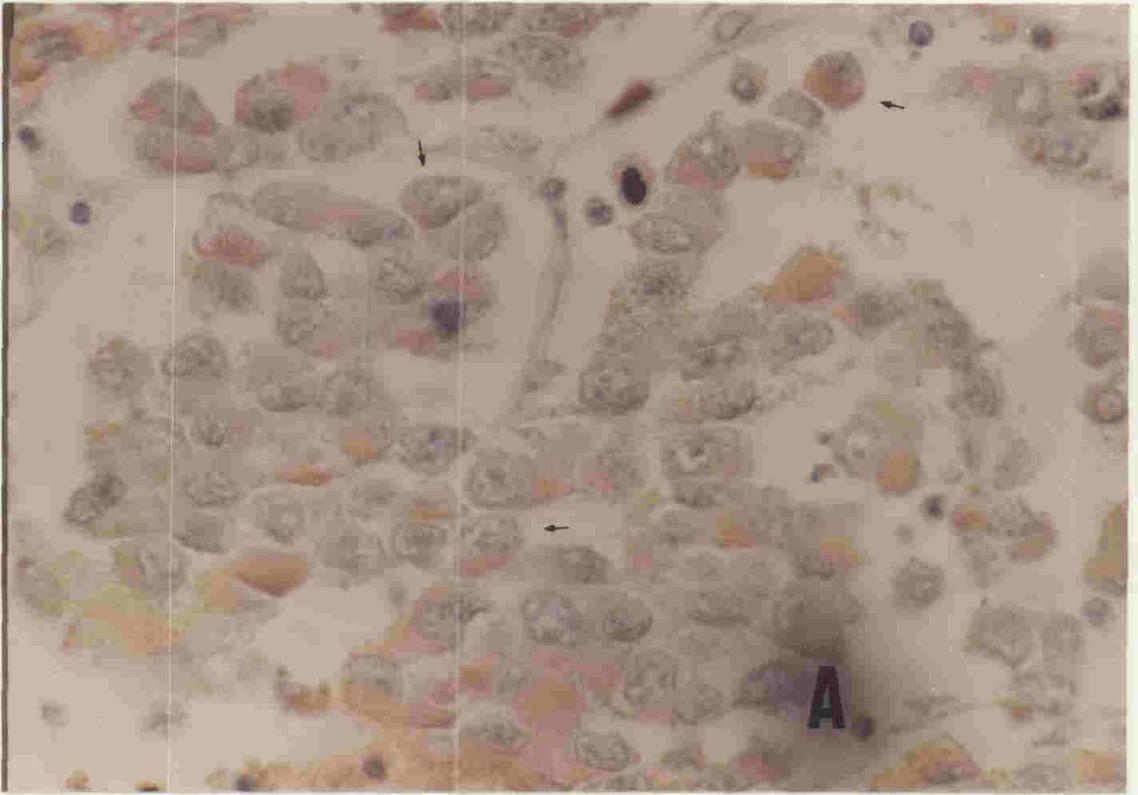


TABLA 5.10

Estudio inmunohistoquímico de los tumores de  
las células germinales

Tipo	B-HCG	PSBG	$\alpha_2$ -PAG	PP <sub>5</sub>	PP <sub>10</sub>	PP <sub>12</sub>	PP <sub>14</sub>
Disgerminomas	0/4	0/4	3/4	3/4	0/4	0/4	0/4
T.del seno Endodérmico	0/2	0/2	0/2	0/2	0/2	0/2	0/2
Carcinoma Embrionario	0/1	1/1	1/1	1/1	0/1	0/1	0/1
Teratomas Inmaduros	0/3	3/3	1/3	0/3	0/3	1/3	1/3
TOTAL	0/10	4/10	5/10	4/10	0/10	1/10	4/10
%	(0.0)	(40.0)	(50.0)	(40.0)	(0.0)	(10.0)	(40.0)

TABLA 5.11

Relación entre el número total de proteínas presentes  
en el tejido con el tipo histológico de tumor

Tipo histológico	Número de proteínas presentes				
	0	1	2	3	4
Disgerminomas	1	-	-	3	-
T.del seno endodermico	2	-	-	-	-
Carcinoma embrionario	-	-	-	1	-
Teratomas inmaduros	-	2	-	-	1
TOTAL	3	2	-	4	1
%	(30.0)	(20.0)	(0)	(40.0)	(10.0)

cómo la mayor parte de los disgerminomas (75.0%), tenían tres proteínas positivas, al igual que el único caso de carcinoma embrionario estudiado. En los teratomas inmmaduros, el 66.6% tuvo solamente una proteína positiva, mientras que en el caso restante, se detectó la existencia de cuatro proteínas.

No hemos encontrado ninguna relación entre la presencia ó ausencia de proteínas con la mortalidad, el tiempo de supervivencia y el estadio tumoral.

#### 5.2.2.4. Tumores secundarios ó metastásicos:

Estudiamos la presencia de proteínas onco-placentarias en seis tumores de KRUKEMBERG, de los cuales, tan sólo en un caso detectamos la presencia de P.S.B.G. (TABLA 5.12).

El único caso en que fué positiva la P.S.B.G., se trataba de un adenocarcinoma bien diferenciado del ovario, con invasión del intestino delgado, grado C de DUKES. No encontramos ningún rasgo diferencial entre los datos clínicos de ésta paciente y los de las restantes mujeres con con tumor de KRUKEMBERG.

TABLA 5.12

presencia de proteínas onco-placentarias en los  
Tumores de Krukemberg.

T. de Krukemberg	B-HCG	PSBG	$\alpha_2$ -PAG	PP <sub>5</sub>	PP <sub>10</sub>	PP <sub>12</sub>	PP <sub>14</sub>
Positivo	-	1	-	-	-	-	-
Negativo	6	5	6	6	6	6	6

5.2.2.5. Análisis conjunto de los resultados  
obtenidos en neoplasias del ovario:

Una vez finalizado el análisis de los resultados obtenidos, tras realizar el estudio inmunohistoquímico de las proteínas onco-placentarias, en los diferentes tipos de tumores del ovario, es imprescindible realizar un análisis conjunto de los resultados, en orden a poder compararlos con los otros autores.

En la TABLA 5.13, puede observarse, que la proteína detectada con mayor frecuencia en los tumores del ovario, ha sido la PP<sub>14</sub> (35.6%) seguida de la PP<sub>12</sub> (25.4%), de la PP<sub>10</sub> (23.7%) y de la B-H.C.G. (22%). Sin embargo, si se excluyen los tumores de los cordones

TABLA 5.13

Las proteínas onco-placentarias en las neoplasias del ovario

Tipo de tumor	B-HCG	PSBG	$\alpha_2$ -PAG	PP <sub>5</sub>	PP <sub>10</sub>	PP <sub>12</sub>	PP <sub>14</sub>
T.Epiteliales	13/25	6/25	6/25	3/25	14/25	14/25	17/25
T.de los cordones sexuales y del estroma	0/18	0/18	0/18	0/18	0/18	0/18	0/18
T.de las células germinales	0/10	4/10	5/10	4/10	0/10	1/10	4/10
T.secundarios ó metastásicos	0/6	1/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6
<b>TOTAL</b>	<b>13/59</b>	<b>11/59</b>	<b>11/59</b>	<b>7/59</b>	<b>14/59</b>	<b>15/59</b>	<b>21/59</b>

sexuales y del estroma y los metastásicos, la mayor proporción de casos positivos correspondería a la PP<sub>14</sub> (60.0%) seguida de la PP<sub>12</sub> (42.8%); de la PP<sub>10</sub> (40.0%); de la B-HCG (34.3%); de la  $\alpha_2$ -PAG (31.4%); de la P.S. B.G. (28.5%) y finalmente, de la PP<sub>5</sub> (20%).

Cuando se analiza la relación existente entre el número de proteínas presentes en el tejido tumoral, con el número total de neoplasias del ovario (TABLA 1.14), se observa que en el 52.5% de los casos, todos

todos los marcadores tumorales fueron negativos, si bien el 27.1% contenían entre tres y cuatro proteínas y el 10.1%, cinco o más.

TABLA 5.14

Relación entre el número de proteínas presentes en el tejido y el tipo de tumor

Tipo de tumor	Número de proteínas			
	0	1-2	3-4	5-6
T.Epiteliales	5	3	11	6
T.de los cordones sexuales y del estroma	18	-	-	-
T.de las células germinales	3	2	5	-
T.secundarios	5	1	-	-
<b>TOTAL</b>	<b>31</b>	<b>6</b>	<b>16</b>	<b>6</b>
<b>%</b>	<b>(52.5)</b>	<b>(10.0)</b>	<b>(27.1)</b>	<b>(10.0)</b>

Si se excluyen los tumores de los cordones sexuales y del estroma y los tumores secundarios, tan sólo fueron negativos el 28.5% de los casos, mientras que contenían tres ó cuatro proteínas el 45.7%, más de cinco el 17.1% y una ó dos el 14.3% de los casos.

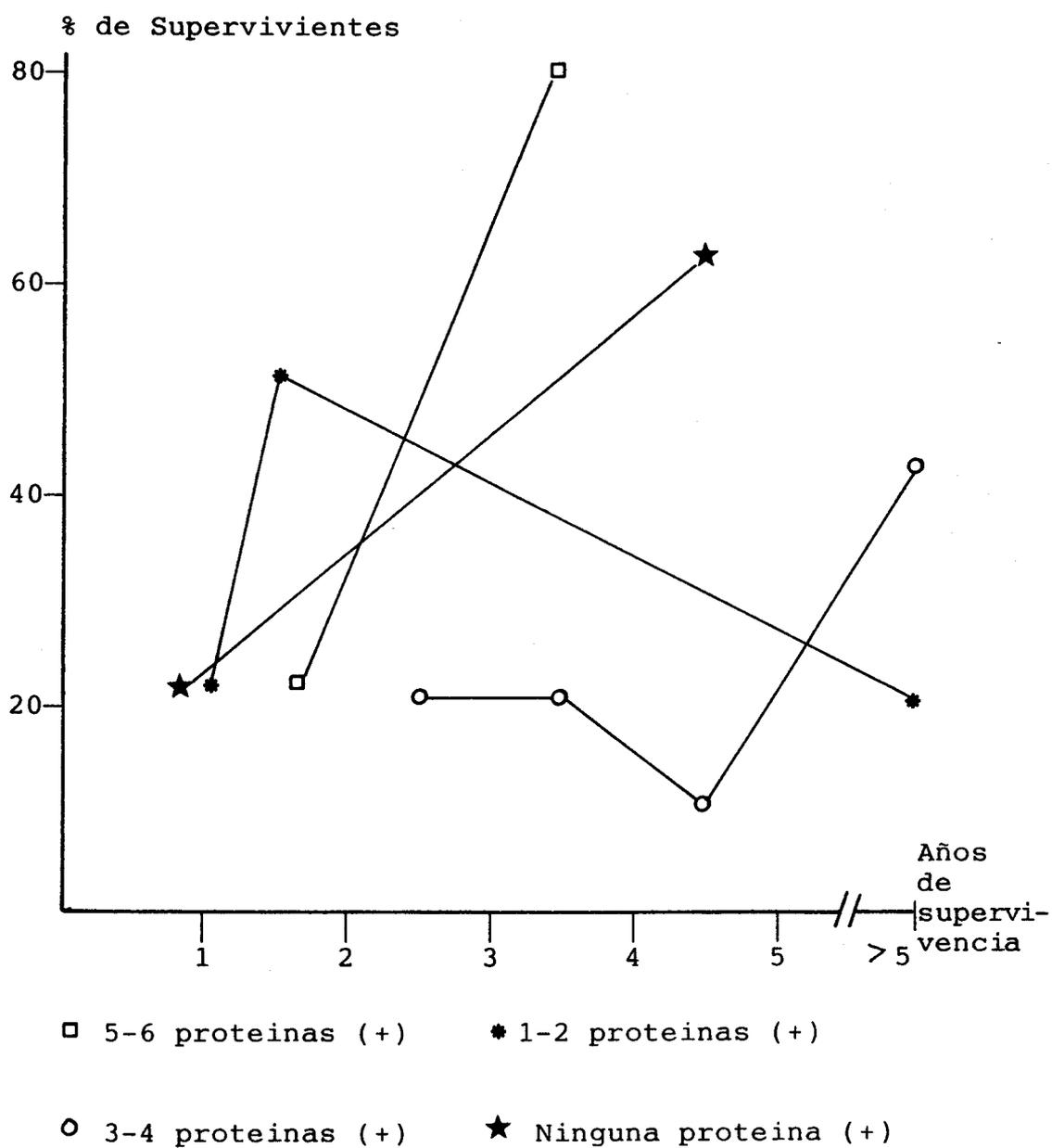
Cuando se relaciona el tiempo de supervivencia, expresado en años, después de realizado el diagnóstico, con el porcentaje de las mujeres que han sobrevivido al cierre del estudio (GRAFICA 5.2) y el de las que fallecieron (GRAFICA 5.3), con el número de proteínas presentes en el tejido tumoral de las neoplasias epiteliales y de las células germinales; se observa, que no existen diferencias significativas entre ambos grupos. No existe tampoco, ninguna relación con el estadio tumoral.

### 5.2.3. Adenocarcinomas de endometrio.

El estudio ha incluido: Seis casos de adenocarcinoma de endometrio, dos de ellos bien diferenciados, uno mal diferenciado y el sexto, se trataba de un carcinoma adenoescamoso. Los resultados obtenidos en el estudio inmunohistoquímico, se expresan en la TABLA 5.15.

Al relacionar los resultados obtenidos con el tipo de carcinoma, se observa, cómo el único caso de adenocarcinoma mal diferenciado, contenía tanto P.S. B.G. como  $\alpha_2$ -PAG. El carcinoma adenoescamoso, fue positivo a la  $\alpha_2$ -PAG y tan sólo uno de los adenocarcinomas bien diferenciados, presentó una reacción positiva a la P.S.B.G.. No hemos encontrado ninguna relación ni con la supervivencia ni con el estadio del tumor.

GRAFICA 5.2.



GRAFICA 5.3.

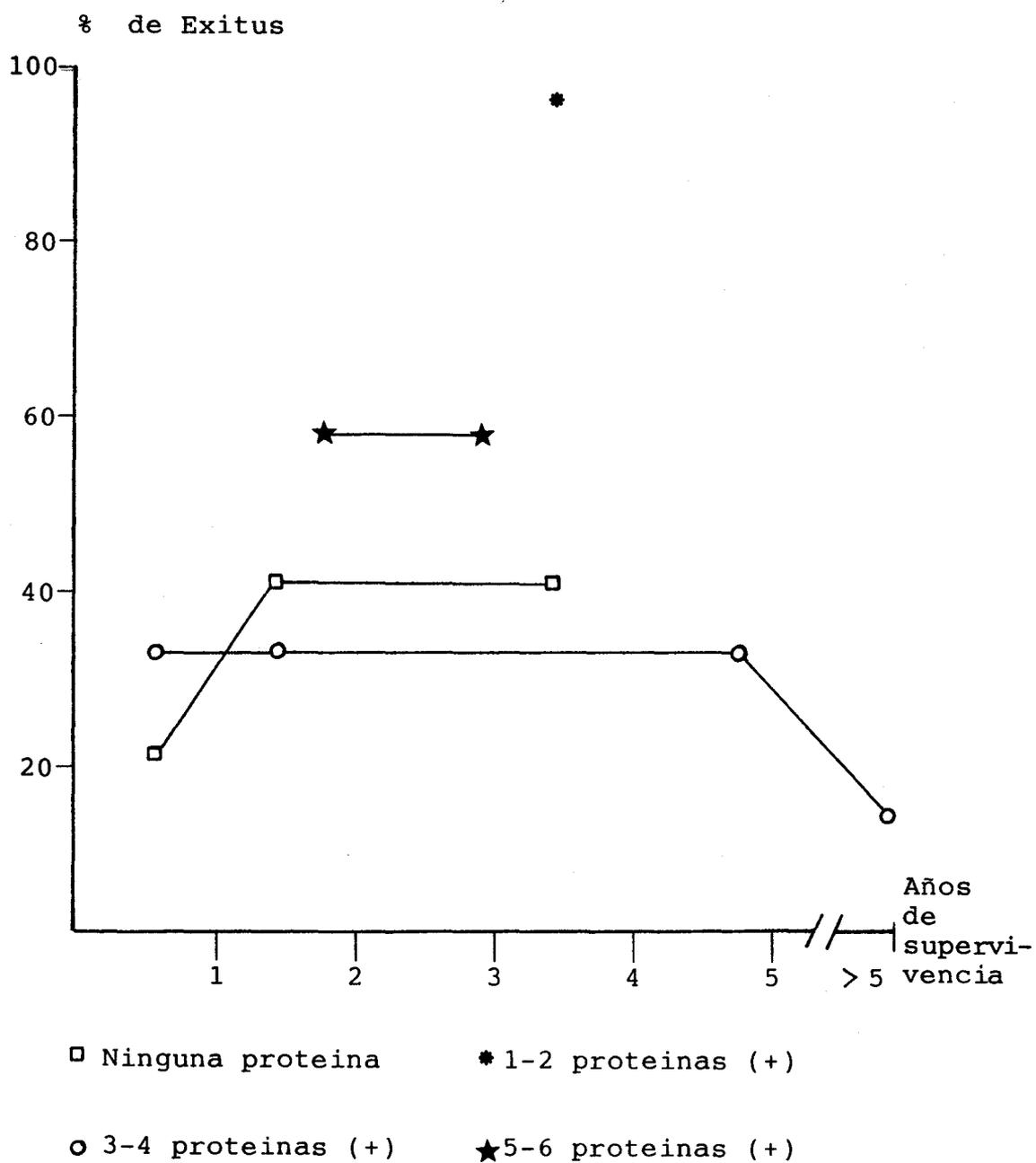


TABLA 1.15

Las proteínas onco-placentarias en el adenocarcinoma del endometrio

Tipo de reaccion	B-HCG	PSBG	$\alpha_2$ -PAG	PP <sub>5</sub>	PP <sub>10</sub>	PP <sub>12</sub>	PP <sub>14</sub>
Positiva	-	2	2	-	-	-	-
Negativa	6	4	4	6	6	6	6

#### 5.2.4. Neoplásias del testículo.

Hemos estudiado la presencia ó ausencia de las proteínas onco-placentarias (B-H.C.G.; P.S.B.G.;  $\alpha_2$ -PAG; PP<sub>5</sub>; PP<sub>10</sub>; PP<sub>12</sub> y PP<sub>14</sub>), en tres casos de neoplásias del testículo. Desde el punto de vista histológico, se trataban: De un seminoma, un teratocarcinoma (con áreas de coriocarcinoma y de tumor del saco vitelino) y un carcinoma embrionario con áreas de tumor del saco vitelino. Este último caso, presentaba metástasis ganglionares en retroperitoneo y en las cadenas pre y para aórticas, así como metástasis en el pulmón.

En ninguno de los tres casos estudiados, pudi-

mos constatar la existencia de ninguna de las proteínas onco-placentarias estudiadas.

El paciente portador de un seminoma sobrevive después de transcurridos ocho años, mientras que los otros dos pacientes fallecieron entre uno y dos años después de haberse instaurado el tratamiento.

#### 5.2.5. Neoplasias de la mama.

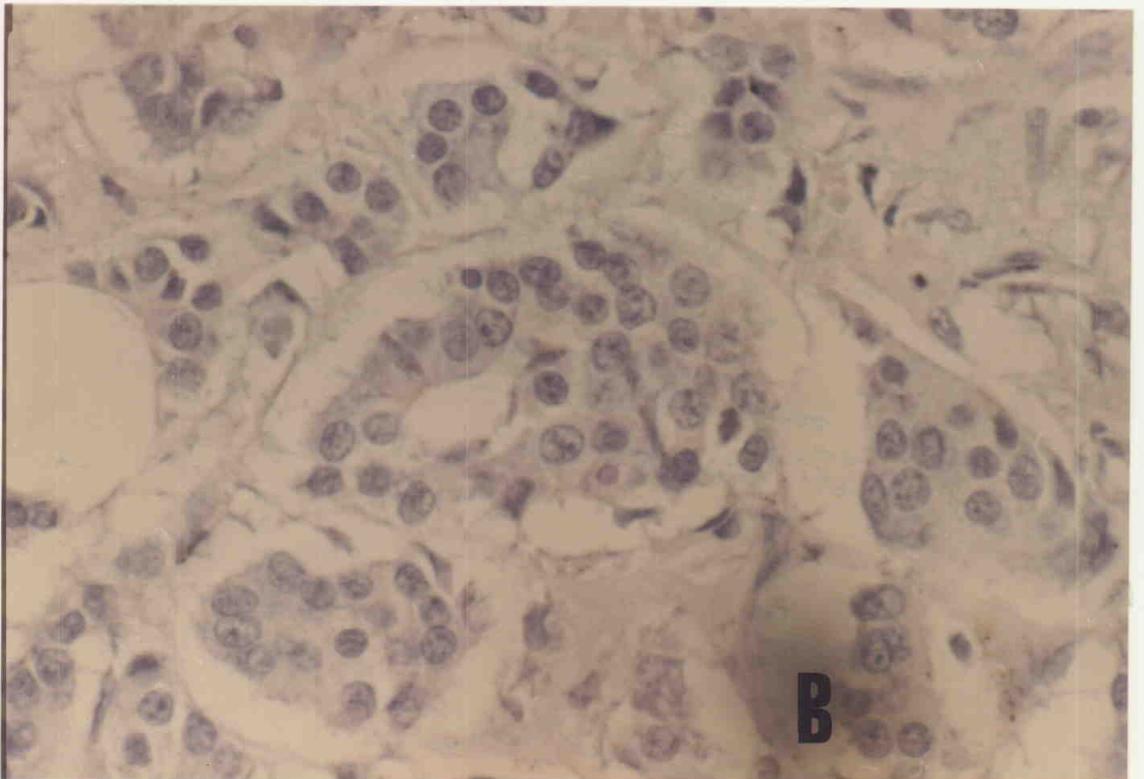
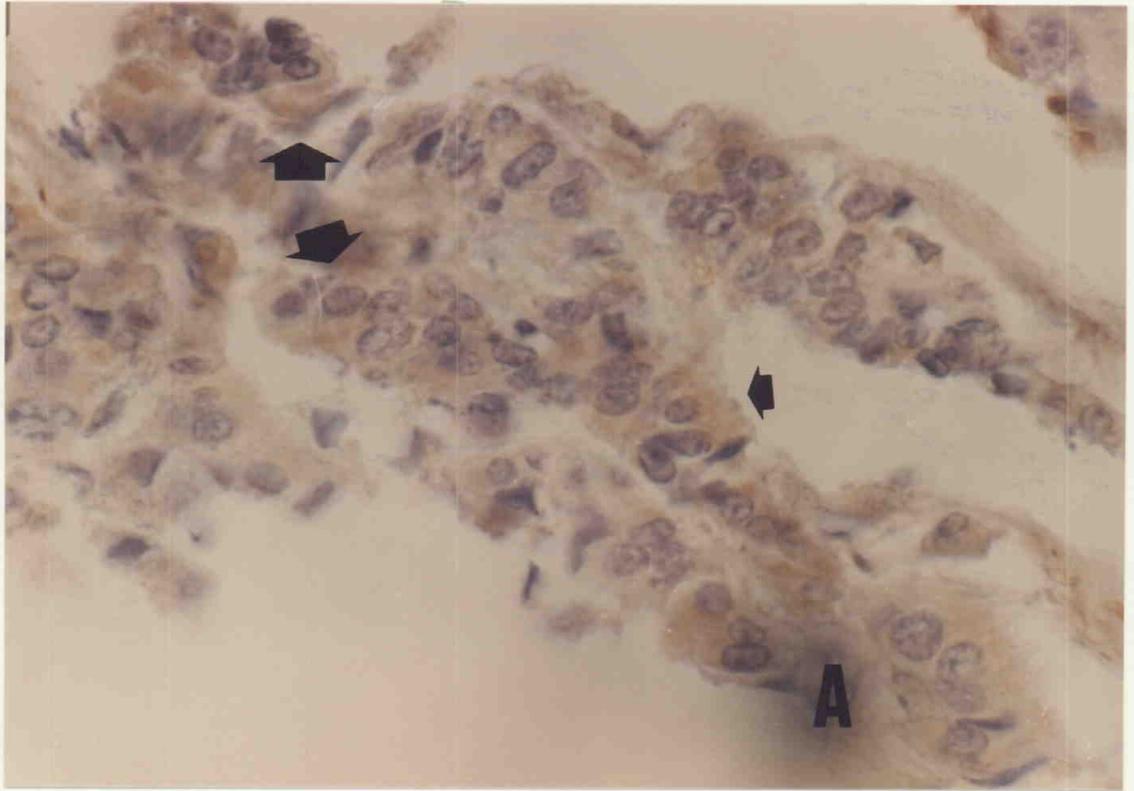
El estudio comprende doce pacientes con carcinoma de mama, cuyas edades oscilaron entre los veintinueve y los setenta y cinco años. Desde el punto de vista histopatológico, en todos los casos estudiados, se trataba de un carcinoma ductal infiltrante. Los resultados inmunohistoquímicos de la subunidad Beta de la H.C.G.; de la P.S.B.G.; de la  $\alpha_2$ -PAG; de la PP<sub>5</sub>; de la PP<sub>10</sub>; de la PP<sub>12</sub> y de la PP<sub>14</sub> en el seno del tejido tumoral, se exponen en la TABLA 5.16.

La frecuencia de aparición de las proteínas onco-placentarias en el tejido tumoral, ha sido muy variable, oscilando entre el 8.3% de la PP<sub>10</sub> al 50% de la P.S.B.G. (FIGURA 5.9).

Cuando se estudia el número de proteínas presen-

Fig.5.9.A.- Carcinoma ductal infiltrante de la mama.  
Caso nº 2.Reacción positiva a la placentar  
protein 12 (PP<sub>12</sub>) (1:200) (x 400).

Fig.5.9.B.- Carcinoma ductal infiltrante de la mama.  
Caso nº 2.Testigo. (x 400).



tes en cada neoplasia (TABLA 5.17), se observa, que en el 41.7% de los casos, no pudo ser demostrada la existencia de ninguna de ellas, sin embargo el mismo número de casos, contenían de una a tres proteínas.

TABLA 5.16

Resultado del estudio inmunohistoquímico en las neoplasias de la mama.

Proteínas Onco-placentarias	Nº de caso positivos/ Nº total de casos	% positivos
B-H.C.G.	5/12	41.7
P.S.B.G.	6/12	50.0
$\alpha_2$ -PAG	2/12	16.7
PP <sub>5</sub>	2/12	16.7
PP <sub>10</sub>	1/12	8.3
PP <sub>12</sub>	2/12	16.7
PP <sub>14</sub>	2/12	16.7

TABLA 5.17

Frecuencia de aparición de las proteínas onco-placentarias en las neoplasias de la mama.

Nº de proteínas onco-placentarias	Número de casos	%
0	5	41.7
1 - 2	3	25.0
3 - 4	2	16.7
5 - 6	2	16.7

Cuando relacionamos el número de proteínas existentes en el tejido tumoral, con la edad de la paciente, con el estadio clínico del tumor y con la presencia de diseminación a los ganglios axilares, no encontramos en ningún caso, diferencias estadísticamente significativas. (TABLAS 5.18 y 5.19).

TABLA 5.18

Relación entre el número de proteínas identificadas  
y el estadio clínico.

Proteínas Onco-placentarias	Estadio clínico		
	II	III	IV
0	3	1	1
1 - 2	2	1	-
3 - 4	2	-	-
5 - 6	2	-	-
TOTAL	9	2	1

TABLA 5.19

Relación entre el número de proteínas identificadas y la  
diseminación a los ganglios axilares.

Nº de Proteínas	Ganglios positivos	Ganglios negativos
0	1	4
1 - 2	1	2
3 - 4	1	1
5 - 6	-	2
TOTAL	3	9

Puede observarse que cuando no se detectó ninguna proteína en el seno del tumor, el 20% de los casos presentaban diseminación ganglionar, mientras que por el contrario, en aquellos casos en que fueron detectadas algunas de las proteínas, existía diseminación ganglionar en el 28.5% de las pacientes.

Cuando se relaciona la presencia ó ausencia de cada una de las proteínas con la edad, el estadio tumoral y la presencia de diseminación ganglionar, tampoco existen diferencias estadísticamente significativas.

No hemos podido establecer ninguna relación, entre el número de proteínas identificadas en las células tumorales ni con la aparición de recidivas (TABLA 5.20), ni con la presencia de metástasis pulmonares y/o cerebrales, ni tampoco, con el tamaño del tumor (GRAFICA 5.4).

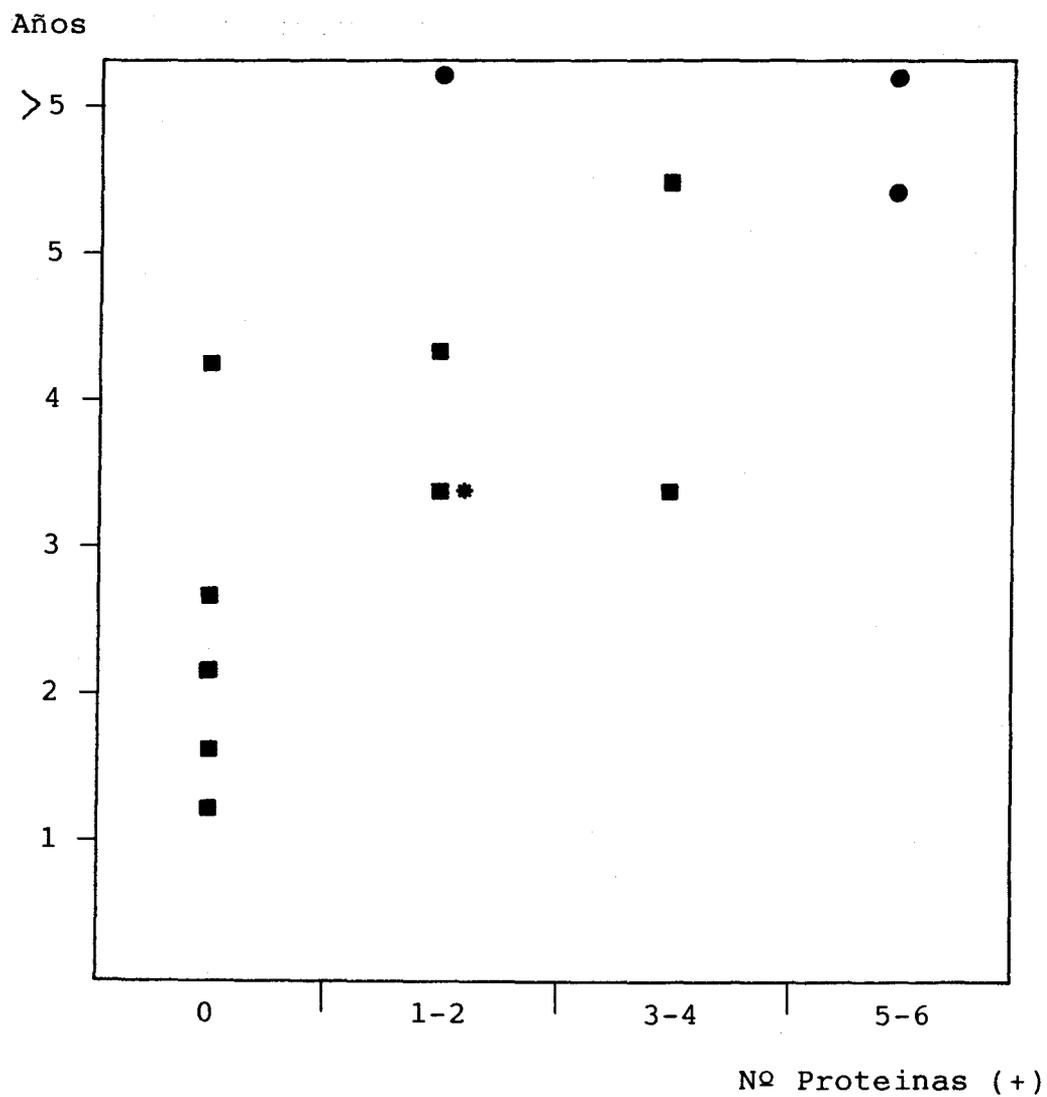
TABLA 5.20

Relación entre la presencia de proteínas onco-placentarias y la aparición de recidiva tumoral (Estadio II)

Proteínas Onco-placentarias	Tumor recidivante	Tumor no recidivante
Negativas	75 %	-
Alguna Positiva	25 %	100 %

GRAFICA 5.4

Relación entre la supervivencia y el número de proteínas presentes en el tejido neoplásico.



■ Exitus

● Sobreviven

\* Exitus por otras causas

A pesar de no existir diferencias estadísticamente significativas, puede observarse que aquellas mujeres que presentan más de cuatro proteínas en las células tumorales, sobreviven más de cinco años.

Cuando se analiza individualmente cada una de las proteínas, con los parámetros anteriormente señalados, no existen tampoco diferencias estadísticamente significativas, excepto en el caso de la presencia de P.S.B.G., en relación con la ausencia de recidiva del tumor ( $p < 0.025$ ).

Finalmente, si hemos encontrado una relación altamente significativa ( $p < 0.025$ ) entre la presencia de alguna proteína, con la existencia de receptores estrogénicos (TABLA 5.21).

TABLA 5.21

Relación entre las proteínas onco-placentarias y los receptores de estrógenos.

Proteína onco-placentaria	R.E.(+)	R.E.(-)
Negativas	0	5 (100.0%)
Positivas	6 (85.7%)	1 (14.3%)

$p < 0.025$



Por el contrario, cuando se relacionan individualmente cada una de las proteínas con la presencia ó ausencia de receptores estrogénicos, no hemos podido encontrar, una relación estadísticamente significativa.

Finalmente tampoco existe una relación entre la presencia de receptores estrogénicos positivos asociados con la P.S.B.G. positiva, con el tiempo y tipo de supervivencia de éstas pacientes.

#### 5.2.6. Análisis conjunto de los resultados obtenidos en las neoplasias no trofoblásticas del aparato reproductor.

Una vez analizados los resultados, según las diferentes localizaciones y tipos de tumor, es a nuestro juicio necesario, realizar un análisis conjunto de los resultados obtenidos, tras el estudio inmunohistoquímico de las proteínas onco-placentarias, en los tumores no trofoblásticos del aparato reproductor; con el fin primordial de poder establecer comparaciones, con los resultados publicados por otros autores. (TABLA 5.22)

TABLA 5.22

Resultados del estudio inmunohistoquímico de las proteínas onco-placentarias en las neoplasias no trofoblásticas del aparato reproductor.

Neoplasias	B-HCG	PSBG	$\alpha_2$ -PAG	PP <sub>5</sub>	PP <sub>10</sub>	PP <sub>12</sub>	PP <sub>14</sub>
Ovario	13/59	11/59	11/59	7/59	14/59	15/59	21/59
Testículo	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3
Endometrio	0/6	2/6	2/6	0/6	0/6	0/6	0/6
Mama	5/12	6/12	2/12	2/12	1/12	2/12	2/12
TOTAL	18/80	19/80	15/80	9/80	15/80	17/80	23/80
%	(22.5)	(23.7)	(18.7)	(11.2)	(18.7)	(21.2)	(28.7)

Número de casos positivos/número total de casos

Cuando se analiza globalmente la presencia de proteínas onco-placentarias en las células tumorales de las neoplasias no trofoblásticas, puede observarse, que la detectada con mayor frecuencia es la PP<sub>14</sub> (28.7%), seguida de la P.S.B.G. (23.7%); de la B-H.C.G, (22.5%) y de la PP<sub>10</sub> (21.2%). Sin embargo, la PP<sub>5</sub> es la proteína, que con menor frecuencia (11.5%) se detecta en éste tipo de tumores.

Al analizar el número de proteínas presentes en las neoplasias no trofoblásticas (TABLA 5.23), se observa cómo éstas, fueron negativas en el 52.5% de los casos, si bien en el 22.5% estaban presentes tres o cuatro proteínas y en el 10% había cinco o más de ellas.

TABLA 5.23

Relación entre el tipo del tumor, según su localización y el número de proteínas detectadas

Neoplasias	Número de proteínas			
	0	1-2	3-4	5-6
Ovario	31	6	16	6
Endometrio	3	3	-	-
Testículo	3	-	-	-
Mama	5	3	2	2
TOTAL	42	12	18	8
%	(52.5)	(15)	(22.5)	(10.0)

Si relacionamos el número de mujeres que sobreviven tras el tratamiento, con el número de proteínas presentes en el seno del tejido tumoral (TABLA 5.24), se observa que el 75% de todas las mujeres en las que fueron detectadas cinco ó seis proteínas, sobreviven en la actualidad. La frecuencia es aún mayor en el caso de las neoplasias de la mama. Analizados los datos en conjunto, sobreviven el 50% de todas las mujeres, cuyos tumores habían sido negativos a todas las proteínas; si bien, cuando se excluyen los tumores de las células de la granulosa y del estroma (de escasa malignidad), la frecuencia desciende en el caso de los tumores del ovario al 7.69% y en el conjunto total al 23.07%.

Finalmente, cuando se analiza globalmente la presencia y la ausencia de proteínas onco-placentarias, en tumores no trofoblásticos del aparato reproductor, con la supervivencia de los pacientes (TABLA 5.25), se observa cómo en aquellos casos en que fué detectada algunas de las proteínas, la supervivencia se duplicó en frecuencia, respecto de aquellos casos en que hubo una ausencia total de proteínas onco-placentarias.

TABLA 5.24

Relación entre el porcentaje de mujeres que sobreviven al cierre del estudio, con el número de proteínas presentes en el tumor y la localización del mismo  
(Tumores no trofoblásticos)

Localización del tumor	% de mujeres supervivientes			
	Número de proteínas			
	0	1-2	3-4	5-6
Ovario	(54.8%)	(66.6%)	(56.3%)	(66.6%)
Endometrio	(100.0%)	(66.6%)	-	-
Testículo	(33.3%)	-	-	-
Mama	(0.0%)	(33.3%)	0.0%)	(100.0%)
<b>TOTAL</b>	<b>50.0%</b>	<b>58.3%</b>	<b>50.0%</b>	<b>75 %</b>

TABLA 5.25

Relación entre la supervivencia de las pacientes con tumores no trofoblásticos del aparato reproductor y la presencia o ausencia de proteínas onco-placentaria

	Fallecieron	Sobreviven
Ninguna proteína positiva	76.93%	23.07%
Alguna proteína Positiva	42.11%	57.89%

VI.- DISCUSSION.

## VI.- DISCUSION.

### 6.1.- APARATO REPRODUCTOR NORMAL.

Nuestros resultados, demuestran cómo la B-H.C.G.; la P.S.B.G. y la PP<sub>12</sub> son negativas en todos los tejidos estudiados del aparato reproductor normal. Por el contrario, hemos detectado la presencia de PP<sub>5</sub> en el endosalpinx, la PP<sub>5</sub> y la PP<sub>14</sub> en el endometrio, tanto en fase proliferativa cómo secretora y finalmente , el mayor contenido en número de proteínas

ha correspondido al testículo, en el cual hemos puesto de manifiesto la existencia, en todos los casos, de  $\alpha_2$ -PAG; PP<sub>5</sub>; PP<sub>10</sub> y PP<sub>14</sub>.

La presencia de una determinada proteína en un tejido del organismo, cuando es detectada por métodos inmunohistoquímicos, no indica necesariamente que sea producida en ese lugar. Sin embargo su existencia, es una prueba objetivable de que es un componente del tejido en cuestión.

Cuando se contrastan los resultados obtenidos por nosotros con los datos publicados en la literatura, en relación a los niveles plasmáticos de éstas proteínas en sujetos normales, se observa que la P.S.B.G., ha sido detectada por algunos autores (6,188,195) en un pequeño porcentaje de sujetos normales, lo cual nos hace pensar, que en éstos casos podría ser producida por otros tejidos normales, diferentes a los estudiados por nosotros. Por el contrario, la PP<sub>5</sub> no ha sido detectada en el plasma de sujetos normales, sin embargo, nosotros la hemos puesto de manifiesto en la trompa de Falopio, en el endometrio y en el testículo. Estos datos aparentemente contradictorios, nos hacen pensar que o bien la PP<sub>5</sub> es sintetizada y secretada localmente sin que pase al torrente circulatorio; o bien, que en el caso de

que se secrete hacia la circulación periférica, su concentración sería tan pequeña, que no podría ser detectada por los métodos de ensayo que se emplean actualmente.

Lo contrario ocurre, con la PP<sub>10</sub> ; la PP<sub>12</sub> y la PP<sub>14</sub> que han sido encontradas, en el plasma sanguíneo de todos los sujetos normales estudiados por BOHN (30), RUTANEN y cols (173) y JULKUNEN y cols. (127) respectivamente. En nuestro estudio, la PP<sub>10</sub> solamente se encuentra presente en el testículo y la PP<sub>12</sub>, no ha sido puesta de manifiesto en ninguno de los tejidos estudiados, lo que nos hace pensar en otras fuentes de producción diferentes a las que hemos estudiado.

Las proteínas onco-placentarias han sido estudiadas desde el punto de vista inmunohistoquímico, de forma exhaustiva en la placenta humana (70, 71, 108, 113, 191), sin embargo son excepcionales los estudios de localización en las diferentes partes del aparato reproductor, lo que nos impide comparar globalmente nuestros resultados con los de otros autores.

Sin embargo, existen algunos datos de interés que reafirman nuestros hallazgos. En el caso de la P.S. B.G. que al no encontrarse presente en los tejidos

del aparato reproductor y sí en el plasma de algunos sujetos normales, nos hacía pensar en una fuente extragenital de producción. Esta suposición se ve reafirmada por los hallazgos de ROSEN y cols. (170, 172) y de YANG-CHOU y cols. (247) los cuales han demostrado que la P.S.B.G., es producida por los fibroblastos y treinta y dos líneas celulares diferentes cultivadas "in vitro". En cuanto a la  $\alpha_2$ -PAG, actualmente se piensa que su principal fuente de producción en el organismo humano son los hepatocitos. (232).

La PP<sub>5</sub>; la PP<sub>10</sub> y la PP<sub>12</sub>, han sido estudiadas por BOHN (32) mediante métodos bioquímicos en extractos de tejidos diferentes a los del aparato reproductor, no habiendo detectado en ellos su existencia. Y finalmente la PP<sub>14</sub> ha sido detectada también por métodos bioquímicos en el endometrio y el plasma seminal lo que reafirma en parte nuestros resultados.

Finalmente añadir, que el único estudio inmunohistoquímico realizado sobre la PP<sub>5</sub>; la PP<sub>10</sub> y la PP<sub>14</sub> en alguna parte del aparato reproductor, fué realizado por INABA y cols. (114) en el ovario, el cual no pudo demostrar tampoco la existencia de ninguna de éstas proteínas.

## 6.2. NEOPLASIAS DEL APARATO REPRODUCTOR.

Para establecer la validez e importancia de los resultados obtenidos, es imprescindible compararlos con los de otros autores de reconocido prestigio, que han analizado el mismo problema.

La discusión de los resultados obtenidos en el estudio inmunohistoquímico de las proteínas oncoplacentalarias en la patología tumoral del aparato reproductor, va dirigida en éste sentido y su exposición va a ser realizada primero, según el tipo y localización de las neoplasias para finalizar con la discusión global de todos los resultados.

### 6.2.1. Enfermedad trofoblástica.

Hemos detectado la presencia de H.C.G.; P.S.B.G.;  $\alpha_2$ -PAG; PP<sub>5</sub> y PP<sub>14</sub> en todos los casos de mola hidatiforme estudiadas. La PP<sub>10</sub> y PP<sub>12</sub>, fueron positivas en el 83.3% y 16.6% respectivamente.

Cuando se relacionan nuestros resultados con las determinaciones plasmáticas de éstas proteínas, por otros autores, en mujeres con mola hidatiforme, se observa que la P.S.B.G. ha sido detectada en el 100%

de los casos por la mayor parte de los autores(91,92 143,144,193 y 227), los mismos resultados se han obtenido en la determinación de la  $PP_5$  (99,143,144 y 227). Sin embargo, en algunos casos SEPPALA y cols.(1984) y NISBET y cols.(161) no han podido demostrar la existencia de  $PP_5$  en todos los casos de mola hidatiforme, tratándose éstos precisamente de molas invasoras, por lo que para éstos autores, la ausencia de  $PP_5$  asociada a niveles elevados de P.S.B.G y B-H.C.G. en pacientes con mola hidatiforme, sería expresión de la existencia de trofoblasto maligno.

La  $PP_{12}$  solamente ha sido estudiada por RUTANEN y cols. (1973) en ocho casos de mola hidatiforme, de los cuales sólo una pequeña proporción, presentaban niveles elevados en el plasma, lo que se correlacionaría con nuestros propios hallazgos. El resto de las proteínas no han sido estudiadas en el plasma de éste tipo de pacientes.

Los resultados que hemos obtenido en el estudio inmunohistoquímico de la P.S.B.G.; la  $PP_5$ ; la  $PP_{10}$  y la  $PP_{12}$ , en la mola hidatiforme, coinciden sin variaciones, con las publicadas por NISBET y cols.(161); SEPPALA y cols.(194) y WAHLSTROM y cols. (235). Sin embargo, no tenemos constancia de que haya sido realizado nin-

gún estudio inmunohistoquímico de la  $\alpha_2$ -PAG y de la PP<sub>14</sub> en la mola hidatiforme, donde se encuentran presentes en el 100% de los casos. Finalmente, es interesante destacar el hecho, de que en todos los casos estudiados, hemos detectado la presencia de más de cinco proteínas.

En los coriocarcinomas, la H.C.G.; la P.S.B.G.; la  $\alpha_2$ -PAG y la PP<sub>5</sub>, han sido positivas en el 83.3% de los casos, mientras que la PP<sub>10</sub>, la PP<sub>12</sub> y la PP<sub>14</sub> tan sólo han sido puestas de manifiesto en el 33.3%.

Cuando se revisa la literatura, se observa, que los resultados obtenidos en la detección plasmática de P.S.B.G. y PP<sub>5</sub> en el plasma de pacientes con coriocarcinomas, son muy variables. En el caso de la P.S.B.G. oscilan entre el 59.2% de los casos de SEARLE y cols.(188) y el 100% de SEPPALA y cols.(193), LEE y cols.(143 y 144) y GONZALO y cols.(91 y 92), con una media de 88.2%; resultado casi superponible al de nuestra casuística. Mayor variación aún, presentan los resultados publicados sobre la PP<sub>5</sub> que oscilan entre entre el 0 % de SEPPALA y cols.(194) y de LEE y cols.(143 y 144) con el 100% de la casuística de NISBET y cols.(161). Esta gran variación entre los resultados de las diferentes autores, junto con la gran diferencia exis-

tente con nuestros propios hallazgos, nos induce a pensar que la PP<sub>5</sub>, o bien es secretada en muy pequeña cantidad hacia la circulación periférica, con lo que los métodos de ensayo actuales, no serían capaces de detectarla, o bien, de acuerdo con SEPPALA y cols (194) y LEE y cols.(143), la ausencia de PP<sub>5</sub>, estaría ligada a un mayor grado de malignidad y por tanto de capacidad invasiva.

La PP<sub>12</sub> ha sido encontrada por RUTANEN y cols. (173) discretamente elevada, en una pequeña proporción de pacientes con coriocarcinoma, dato que se aproxima a nuestros resultados.

Al igual que ocurre con la mola hidatiforme, la  $\alpha_2$ -PAG, la PP<sub>10</sub> y la PP<sub>14</sub> no han sido estudiadas aún en pacientes con coriocarcinomas.

En cuanto a los estudios inmunohistoquímicos realizados por otros autores, la P.S.B.G ha sido puesta de manifiesto en todos los casos de coriocarcinoma por TATARINOV y cols.(214 y 215).HORNE y cols.(109) y WAHLSTROM y cols.(235); resultados idénticos a los obtenidos en nuestro estudio. Por el contrario, SEPPALA y cols.(194) y WAHLSTROM y cols.(235) en la casuística de coriocarcinomas, no han podido demostrar la existen-

cia de  $PP_5$ , mientras que NISBET y cols.(161) la afirman en el 67% de los casos. Nuestros resultados se aproximan a los de NISBET y cols.(161) y las diferencias existentes con los de SEPPALA y cols.(194) y WAHLSTROM y cols.(235),podrían explicarse teóricamente por el hecho de que el grado de anaplásia y de malignidad de los casos por ellos estudiados,fueran superiores a los estudiados por NISBET y por nosotros,si aceptamos la teoría de SALEM y CHARD(178),quienes proponen que la  $PP_5$ , estaría ausente en aquellos coriocarcinomas de mayor capacidad ó potencial invasor.

La  $PP_{10}$  y la  $PP_{12}$  han sido estudiadas desde el punto de vista inmunohistoquímico por WAHLSTROM y col.(235)exclusivamente,encontrádola ausente en todos los casos de coriocarcinomas por ellos estudiados. Si bien su presencia afecta a una proporción pequeña de casos (33.3%),nuestros resultados son más acordes que con los de WAHLSTRON y cols.(235) con los hallazgos obtenidos por RUTANEN y cols(173),en el estudio de la  $PP_{12}$  en el plasma de mujeres con coriocarcinoma.

No conocemos ningún estudio inmunohistoquímico de la  $\alpha_2$ -PAG y de la  $PP_{14}$ , publicado hasta el momento, por lo que nuestros resultados no pueden ser comparados con los de otros autores.

Al igual que el resto de los autores, no hemos encontrado ninguna correlación estadísticamente significativa, entre la presencia ó ausencia de éstas proteínas, con la supervivencia de las pacientes con enfermedad trofoblástica, si bien hay que destacar, que de las mujeres que portaban un coriocarcinoma, el 66.6% de las que presentaron la PP<sub>10</sub> y la PP<sub>12</sub> en el seno del tumor, sobreviven actualmente; en contraste con aquellas en que se encontraban ausentes, las cuales, fallecieron en el 100% de los casos en un corto período de tiempo.

#### 6.2.2. Neoplasias del ovario.

Los hallazgos obtenidos en estudios inmunohistoquímicos de las proteínas onco-placentarias en las neoplasias del ovario, han sido muy variables, oscilando la frecuencia de aparición de las diferentes proteínas entre el 35.6 % de la PP<sub>14</sub> y el 11.8 de la PP<sub>5</sub>. Sin embargo estas cifras, han presentado oscilaciones aún mayores, en función del tipo de tumor estudiado. Así, mientras que la mayor frecuencia de aparición se obtuvo en los tumores epiteliales del ovario, donde la PP<sub>14</sub> fué positiva en el 68.0% de los casos y del 40.0%, en los tumores de las células germinales; todas las proteínas fueron negativas, en los tumores de los cordones sexuales y del estroma, así cómo, en los seis

casos estudiados de tumores de Krukemberg.

Al analizar los hallazgos obtenidos en los tumores epiteliales del ovario, llama la atención, el hecho de que no existiendo ninguna de las proteínas onco-placentarias en el ovario normal, éstas se encuentren presentes de forma importante en éstos tipos de tumores. Sin embargo, quizás el hecho más llamativo sea la presencia en todos los casos estudiados de adenocarcinomas endometrioides y de carcinomas de células claras (muchos de ellos, con patrón endometriode), de la PP<sub>14</sub>, proteína que también fue detectada en el 100% de los casos del endometrio normal (tanto en fase proliferativa como secretora). La presencia de PP<sub>14</sub>, proteína de origen fundamentalmente endometrial, podría reafirmar las hipótesis de algunos autores que propugnan, desde el punto de vista histogénético, un origen endometrial de éstos tumores.

Los tumores de los cordones sexuales y de la estroma, parece ser que derivan de diferentes estructuras del ovario (hilio, células de la granulosa, estroma.) si bien, en algunos casos su histogénesis es discutida. Cuando se comparan los hallazgos obtenidos en éstos tipos de tumores con los del ovario normal, se puede deducir, que la negatividad de todas las proteínas,

reafirmaría su posible origen histogenético.

En cuanto a los tumores de células germinales, todos ellos derivados aparentemente del saco vitelino, de la posible autofertilización de las células germinales e incluso de éstas mismas células, no nos parece excepcional que en las neoplasias derivadas de éstas estructuras, aparezcan proteínas cuya mayor frecuencia de aparición, se produce precisamente en la placenta, órgano que en última instancia, tiene su origen en las células germinales.

Los estudios de determinación plasmática de proteínas onco-placentarias en mujeres con neoplasias del ovario, se han limitado a la subunidad Beta de la H.C.G. (33, 169, 180, 212 y 229), al H.P.L. (180), al C.E.A. (14, 55, 92, 130, 145, 192 y 212), a la alfa feto-proteína (145, 192), a la P.S.B.G. (48, 92, 184, 188, 214, 217, 219, 244 y 245) y a la PAPP-A (20, 172). Los resultados obtenidos varían según los diferentes autores. La B-H.C.G. ha sido detectada por STONE y cols. (212) en el 50% de las pacientes, en contraste con los resultados de BRAUSTEIN y cols. (33), que no pudieron ponerla de manifiesto en ningún caso. Sin embargo la mayor parte de los autores, comunican resultados que oscilan entre el 40 y el 50% de casos positivos (169, 180, 229). Estos hallazgos son

superponibles a los obtenidos por nosotros en el estudio inmunohistoquímico de los tumores epiteliales del ovario, donde fué detectada en el 50.0% de los casos. No obstante, en el conjunto de tumores, la frecuencia de parición descendió al 22.0%.

En cuanto a la P.S.B.G., ha sido detectada tan sólo en el 14.6% de los plasmas de trescientas dieciseis mujeres estudiadas con neoplasias del ovario, cifra muy aproximada al 18.6% de nuestros hallazgos. No podemos establecer comparaciones según el tipo histológico del tumor, ya que la mayor parte de los autores, que se han ocupado de éste problema. (184, 188, 214, 217, 219, 244 y 245) no tipifican las pacientes que estudian, según el tipo histológico del tumor.

La  $\alpha_2$ -PAG; PP<sub>5</sub> ; PP<sub>10</sub> ; PP<sub>12</sub> y PP<sub>14</sub> , no tenemos constancia de que hayan sido estudiados en el plasma de mujeres portadoras de tumores del ovario.

Los estudios inmunohistoquímicos de las proteínas onco-placentarias en tumores del ovario, son muy escasos y la mayor parte de las veces, carecen de tipificación.

La B-H.C.G. ha sido estudiada fundamentalmente

por CASPER y cols.(38) y por VAITUKAITIS(229). Para éste último, la B-H.C.G. se encuentra presente en el 40% de los casos, mientras que para para CASPER y cols. (38) solamente es detectada en el 7% del conjunto, si bien su presencia asciende al 22% en los tumores de las células claras y están ausentes en los carcinomas indiferenciados. Al comparar nuestros resultados, se observa que en conjunto, hemos puesto de manifiesto la existencia de B-H.C.G. en el 22% de todos los tumores del ovario, frecuencia que se encuentra entre la de VAITUKAITIS (229) y la de CASPER(38), sin embargo, ésta asciende al 52.0% cuando se analizan exclusivamente los tumores epiteliales. Nuestros datos no coinciden con los de CASPER cuando se hace referencia a los tumores de células claras, donde hemos podido detectar la presencia de B-H.C.G. en el 100% de los casos; sin embargo, se superponen los resultados en los tumores indiferenciados.

Los únicos trabajos dirigidos hacia el estudio inmunohistoquímico de las proteínas onco-placentarias de nueva generación son los de INABA y cols.(112 y 113), quienes estudiaron la P.S.B.G., la PP<sub>5</sub>; la PP<sub>10</sub> y la PP<sub>12</sub>, en siete neoplasias del ovario, aunque no especificaban el tipo histológico. Nuestros resultados difieren ampliamente de los obtenidos por éste autor;

salvo en el caso de la PP<sub>10</sub> ;tanto si se considera nuestra casuística de forma global ó parcialmente. Estas diferencias probablemente sean debidas a la escasa casuística de INABA y cols.(112 y 113).

En un trabajo posterior, INABA y cols.(114), estudian varios tumores epiteliales del ovario (PP<sub>5</sub> ; PP<sub>10</sub> y PP<sub>12</sub> ), donde tampoco nuestros resultados son superponibles.

Del resto de las proteínas por nosotros estudiadas, no tenemos referencia de que hayan sido comunicados resultados por otros autores.

Finalmente hay que añadir que no hemos podido relacionar la existencia de éstas proteínas onco-placentarias ni su número en el tejido tumoral ni con el estadio del tumor ni con el grado y tiempo de supervivencia de las pacientes.

#### 6.2.3. Adenocarcinoma de endometrio.

En éste tipo de neoplasias, tan sólo hemos podido demostrar la existencia de P.S.B.G. y de  $\alpha_2$ -PAG en el 33.3% de los casos.

La única referencia en la literatura de la que tenemos conocimiento, del estudio de las proteínas onco-placentarias en el plasma de mujeres con carcinoma de endometrio, es la de WURZ y cols. (245), que estudiaron la presencia de P.S.B.G.;  $\alpha_2$ -PAG; A.F.P.; B-H.C.G. y C.E.A., en un grupo de tumores entre los que se encontraba un sólo caso de adenocarcinoma de endometrio, con el que no es posible establecer ningún patron.

En cuanto a los estudios inmunohistoquímicos, tan sólo INABA y cols. (112) se han ocupado de éste problema. Estos autores han estudiado en tres casos de adenocarcinoma de endometrio, la P.S.B.G.; la PP<sub>5</sub>; la PP<sub>10</sub> y la PP<sub>12</sub>, siendo sus resultados radicalmente diferentes a los obtenidos por nosotros.

#### 6.2.4. Neoplasias del testículo.

En ninguno de los tres casos que hemos estudiado, de neoplasias del testículo, hemos podido poner de manifiesto, la existencia de alguna de éstas proteínas. En éste sentido, nuestros resultados difieren de los obtenidos por VAITUKAITIS (229), quien detectó la existencia de B-H.C.G. en el 62.% de los tumores testiculares de su casuística y de INABA y cols. (112) que pusieron de manifiesto la existencia de PP<sub>5</sub> (75%),

de PP<sub>10</sub> (58.3%) y de PP<sub>12</sub> (37.5%), aunque éstos autores, tampoco pudieron demostrar la presencia de P.S.B.G.

#### 6.2.5. Neoplasias de la mama.

La frecuencia de aparición de las proteínas onco-placentarias en las neoplasias de la mama, ha oscilado entre el 8.3% de la PP<sub>5</sub> al 50% de la P.S.B.G.. Por otra parte no hemos encontrado ninguna relación, entre la presencia y número de proteínas existentes en el tumor, ni con la edad de la paciente, con el estadio clínico, la diseminación ganglionar del tumor, la aparición de recidivas, la aparición de metástasis pulmonares y/o cerebrales, ni con el tamaño de la masa tumoral. Por el contrario, sí existe una relación claramente significativa entre la presencia aislada de P.S.B.G. y la ausencia de recidiva tumoral; así como la existencia de algunas de las proteínas con presencia de receptores de estrógenos.

La determinación plasmática de proteínas onco-placentarias en pacientes con neoplasias mamarias, ha sido realizada por diferentes autores, cuyos resultados varían según el tipo de proteína analizada. La B-H.C.G. ha sido estudiada fundamentalmente por WURZ y cols. (245), quienes la detectan en el 16% de los casos.

En nuestro caso su presencia asciende al 41.7%.

La P.S.B.G., es quizás el parámetro mejor estudiado en el plasma de mujeres con neoplasias de la mama, si bien los resultados presentaron grandes oscilaciones según los diferentes autores. Así para HORNE y cols.(110) tan sólo era posible detectarla en el 5.4% de los casos, en contraste con WURZ y cols. (245) y SEARLE y cols.(188), quienes comunican resultados del 22 y 29% respectivamente. No existe pues, buena correlación entre los resultados comunicados por estos autores en el plasma y los de nuestro estudio inmunohistoquímico, probablemente por haber limitado nuestra casuística a los carcinomas ductales infiltrantes.

La PP<sub>10</sub> y la PP<sub>12</sub> han sido estudiadas por WURZ y cols.(246), quienes comunican niveles elevados de éstas proteínas en el 85 y 20% respectivamente de las mujeres con neoplasias mamarias. El resultado obtenido con la PP<sub>12</sub> se aproxima mucho a la frecuencia de nuestra casuística (16.7%).

En cuanto a los estudios inmunohistoquímicos de ésta proteínas en las neoplasias de la mama, los resultados varían según los diferentes autores y el tipo de proteína estudiada. En el caso de la P.S.B.G.,

para HORNE y cols.(107),se encuentra presente en el 76% de los casos y éste autor sugiere que su presencia es signo de pronóstico desfavorable.Para INABA y cols.(112) y KUHAJDA y cols.(138),su frecuencia de aparición es del 52.6% y 34.5% respectivamente y ambos,tambien la consideran un indicador de mal pronóstico.Nuestros resultados se aproximan mucho a los de INABA y cols.(112) sin embargo,discrepamos con todos ellos en cuanto a que la presencia de P.S.B.G.,sea un indicador de mal pronóstico,al menos en lo que se refiere a la aparición de recidivas.

La PP<sub>5</sub> ;la PP<sub>10</sub> y la PP<sub>12</sub> ,han sido estudiadas fundamentalmente por INABA y cols.(112),quienes demuestran su presencia en el 52.6%;68.4% y 31.6% respectivamente.Nuestros resultados no coinciden con los de otros autores,ya que la frecuencia de aparición en nuestra casuística es de cuatro a cinco veces inferior a la de INABA.

Actualmente el papel de los receptores estrogénicos en el cancer de mama es controvertido,pues para algunos autores (84,101) su presencia se relaciona con un mejor pronóstico en cuanto a la evolución clínica,en contraste con aquellos casos en que estan ausentes.

En relación con éstas líneas de razonamiento, hay que valorar a nuestro juicio, la capacidad pronóstica de las proteínas onco-placentarias. Nuestros resultados, demuestran cómo existe una elevada correlación entre la presencia de éstas y la de receptores estrogénicos. Sin embargo, sería preciso esperar nuevos trabajos que aclaren el grado de influencia, tanto de las proteínas onco-placentarias, como de los receptores estrogénicos, en la evolución de éstas enfermedades.

6.2.6. Análisis conjunto de los resultados obtenidos en las neoplásias del aparato reproductor.

Excluida la enfermedad trofoblástica, la presencia de las proteínas onco-placentarias en los tumores del aparato reproductor, varía entre el 11.5% de la PP<sub>5</sub> al 28.7% de la PP<sub>14</sub> .

Cuando se revisan los datos publicados en la literatura y se recopilan, se observa que tan sólo han sido estudiados los niveles plasmáticos de P.S.B.G. en quinientos veintiocho pacientes con neoplásias del aparato reproductor, en los cuales fué detectada su presencia en el 17.5% de los casos, cifra próxima a la encontrada por nosotros (23.7 %). El número

de casos estudiados, desciende a ciento tres pacientes para la PP<sub>10</sub> y la PP<sub>12</sub> y exclusivamente referidos a la mama. La ausencia de datos con otras proteínas, no nos permite establecer relaciones entre los niveles plasmáticos de éstas proteínas en pacientes con neoplasias del aparato reproductor y nuestros hallazgos inmunohistoquímicos.

VII.-CONCLUSIONES.

- Primera.- En el aparato reproductor normal puede demostrarse la existencia de las siguientes proteínas onco-placentarias: La  $PP_5$  en el endosalpinx; la  $PP_5$  y la  $PP_{14}$  en el endometrio, tanto en fase proliferativa como secretora y finalmente, la existencia de la  $\alpha_2$ -PAG; de la  $PP_5$ ; de la  $PP_{10}$  y de la  $PP_{14}$  en el testículo.
- Segunda.- En todas las molas hidatiformes estudiadas, se ha puesto de manifiesto la existencia de la B-H.C.G.; de la P.S.B.G.; de la  $\alpha_2$ -PAG y de la  $PP_{14}$ , en el sincitiotrofoblasto.
- Tercera.- La frecuencia de la aparición de las diferentes proteínas onco-placentarias en los coriocarcinomas, es muy inferior a la de las molas hidatiformes; de donde puede deducirse, que la presencia de proteínas onco-placentarias está inversamente relacionada, con la mayor capacidad invasiva del trofoblásto.
- Cuarta.- Los tumores epiteliales presentan la mayor frecuencia en la aparición de proteínas onco-placentarias, entre los tumores del ovario.
- Quinta.- En los tumores del ovario, no existe una relación estadísticamente significativa entre la presencia de proteínas onco-placentarias y la edad de la paciente, el estadio tumoral, la aparición de metástasis, el tamaño del tumor y el tiempo de supervivencia de la paciente.

- Sexta.- En el adenocarcinoma de endometrio la presencia de proteínas onco-placentarias es excepcional y ésta, no está relacionada ni con el estadio clínico del tumor, ni con el tiempo de supervivencia de la paciente.
- Séptima.- En las neoplasias del testículo no se ha podido demostrar la existencia de ninguna de las proteínas onco-placentarias.
- Octava.- En las neoplasias de la mama existen, en proporción variable, todas las proteínas onco-placentarias.
- Novena.- En las neoplasias de la mama no existe relación estadísticamente significativa, entre la presencia de proteínas onco-placentarias y la edad de la paciente, el estadio clínico, la aparición de metástasis, el tamaño del tumor y el tiempo de supervivencia de la paciente.
- Décima.- En las neoplasias de la mama existe una relación estadísticamente significativa, entre la presencia de proteínas onco-placentarias y la existencia de receptores estrogénicos.
- Décimo  
Primera.- Las proteínas onco-placentarias estudiadas, no se comportan como buenos marcadores tumorales, de las neoplasias del aparato reproductor, ni utilizadas conjuntamente, ni de forma individual.

Décimo

Segunda.-

El estudio inmunohistoquímico de las proteínas onco-placentarias en la patología neoplásica del aparato reproductor, es útil en la enfermedad trofoblástica y en las neoplasias de la mama. En la primera, permiten establecer la posible capacidad invasiva del trofoblásto y en la segunda, por su relación con los receptores estrogénicos.

VIII.-RESUMEN.

#### VIII.- RESUMEN.

Durante los últimos veinte años se han descubierto un gran número de nuevas proteínas en la placenta humana. Inicialmente, fueron denominadas "Proteínas Placentarias", ya que se pensaba, que eran sintetizadas exclusivamente por ésta.

En la actualidad, las proteínas placentarias que denominaremos de "nueva generación" por su reciente descubrimiento, se han clasificado en tres grandes grupos:

1º.- Proteínas de la gestación ( pregnancy proteins): Se caracterizan porque, o bien están ausentes, ó bien aparecen en muy pequeña cantidad en el plasma de sujetos normales y mujeres no embarazadas y que durante la gestación, pueden ser detectadas en el plasma en concentraciones muy elevadas. Dentro de éste grupo se distinguen dos subgrupos: Las proteínas específicas de la gestación (pregnancy specific proteins) que incluyen a la P.S.B.G. (pregnancy specific B<sub>1</sub> glycoprotein), a la  $\alpha_2$ -PAG ó (pregnancy associated  $\alpha_2$  globulin) y a la SP<sub>2</sub> que es idéntica a la SHBG. El segundo subgrupo está constituido por las proteínas asociadas a la gestación, e incluye a la PAPP-A (pregnancy associated plasma protein-A), a la PAPP-B (pregnancy associated plasma protein-B), a la B<sub>1</sub>-PAM (pregnancy associated B<sub>1</sub> macroglobulin) y a la  $\alpha_2$ -PAM (pregnancy associated  $\alpha_2$  macroglobulin).

2º.- Proteínas solubles de la placenta (soluble placental tissue proteins). Está constituido por un grupo muy numeroso de proteínas que han sido extraídas del tejido placentario, si bien su presencia en la sangre periférica es muy escasa. Se denominan con las siglas PP (placental proteins) y hasta el momento han sido aisladas veintiuna de ellas.

3º.- Proteínas placentarias solubilizadas asociadas a la membrana (Solubilized Placental Tissue Proteins): Han sido extraídas de la fracción insoluble de la placentar. Hasta éste momento se han detectado once antígenos diferentes, que se han denominado con las siglas MP y numerado consecutivamente. Estas proteínas son muy mal conocidas y hasta el momento, no han podido ser ni purificadas, ni caracterizadas bioquímicamente.

El aislamiento de algunas de éstas proteínas en el suero de sujetos normales y de mujeres no embarazadas, ha demostrado que no son exclusivas de la placenta en cuanto a su producción y del embarazo en cuanto a su presencia en el plasma periférico. Por otra parte, el aislamiento de algunas de éstas proteínas en el suero de pacientes con diversos tipos de enfermedades neoplásicas, ha despertado un enorme interés y, la esperanza de muchos investigadores, en el sentido de que puedan ser utilizadas en el diagnóstico precoz de los tumores, especialmente en aquellos derivados del aparato reproductor.

Estos hechos, han obligado a que desde hace muy poco tiempo, éstas proteínas sean denominadas "Proteínas onco-placentarias".

En los últimos cinco años, diversos grupos de investigación se han interesado por su estudio, tanto de los niveles plasmáticos de algunas de éstas proteínas como por su presencia en el seno de los tejidos, fundamentalmente de las neoplasias, con el fin de evaluar su posible utilización como marcadores tumorales. Sin embargo, la mayor parte de los trabajos realizados hasta el presente, se caracterizan por presentar casuísticas muy escasas y limitadas, por no tener en cuenta el tipo histológico del tumor y finalmente, por limitarse al estudio de una ó dos proteínas en la mayor parte de los casos.

Teniendo en cuenta el estado actual de las investigaciones y la necesidad de avanzar en los estudios sobre la localización inmunohistoquímica de las proteínas onco-placentarias en las neoplasias del aparato reproductor, nos propusimos estudiar, mediante la técnica de las inmunoperoxidasas, la presencia de la subunidad Beta de la Gonadotrofina coriónica (B-H.C.G.), de la Pregnancy Specific B<sub>1</sub> Glycoprotein (P.S.B.G.) de la alfa-2 Pregnancy Associated Globulin ( $\alpha_2$ -PAG ó PZP) y de las proteínas placentarias 5, 10, 12 y 14 (PP<sub>5-10-12 y 14</sub>), en los siguientes tejidos normales y neoplásicos:

1. En el ovario, trompa de Falopio, endometrio en fases proliferativa y secretora y el miometrio normales.
2. En la enfermedad trofoblástica (mola hidatídica y coriocarcinoma).
3. En los diferentes tipos histológicos de las neoplasias del ovario.
4. En el carcinoma de endometrio.
5. En las neoplasias del testículo.
6. En las neoplasias de la mama, tanto en aquellas que contienen receptores estrogénicos, como en las que éstos están ausentes.
7. Analizar la relación existente entre la presencia de estas proteínas, individualmente y en conjunto, con el tipo histológico del tumor, el grado de malignización y la evolución posterior de la enfermedad neoplásica.

Para ello, hemos estudiado un total de ciento nueve biopsias distribuidas en dos grandes grupos: Un primer grupo constituido por diecisiete biopsias de diferentes partes del aparato reproductor normal (ovario, trompa de Falopio, endometrio, miometrio y testículo) y un segundo grupo de noventa y dos biopsias, entre las que se incluyen diferentes tipos de neoplasias del aparato reproductor (enfermedad trofoblástica, neoplasias del ovario, del endometrio, del testículo y de la mama).

De cada uno de los pacientes que comprenden el estudio, se extrajeron todos los datos clínicos relacionados con su edad, filiación, antecedentes personales, tipo de patología, métodos diagnósticos, terapéutica utilizada, evolución posterior de la enfermedad, así como los datos relacionados con el estudio histopatológico. Las biopsias fueron estudiadas mediante el empleo de técnicas inmunohistoquímicas (inmunoperoxidasas) para la detección en el tejido tumoral de las proteínas onco-placentarias anteriormente mencionadas.

Nuestros resultados, demuestran cómo la H.C.G.; la P.S.B.G. y la PP<sub>12</sub> son negativas en todos los tejidos estudiados del aparato reproductor normal. Por el contrario, hemos detectado la presencia de PP<sub>5</sub> en el endosalpinx de las trompas de Falopio, la PP<sub>5</sub> y la PP<sub>14</sub> en

el endometrio, tanto en fase proliferativa cómo secretora y finalmente, el mayor contenido en número de proteínas ha correspondido al testículo, en el cual hemos puesto de manifiesto la existencia, en todos los casos, de  $\alpha_2$ -PAG; PP<sub>5</sub> ; PP<sub>10</sub> y PP<sub>14</sub>.

En cuanto a la enfermedad trofoblástica, hemos detectado la presencia de H.C.G.; P.S.B.G.;  $\alpha_2$ -PAG ; PP<sub>5</sub> y PP<sub>14</sub> en todos los casos de mola hidatiforme estudiados, mientras que la PP<sub>10</sub> y la PP<sub>12</sub> fueron positivas en el 83.3% y el 16.6% respectivamente. En los coriocarcinomas, la H.C.G., la P.S.B.G., la  $\alpha_2$ -PAG y la PP<sub>5</sub> fueron positivas en el 83.3% de los casos, mientras que la PP<sub>10</sub>, la PP<sub>12</sub> y la PP<sub>14</sub>, sólo lo fueron en el 33.3%

Los hallazgos obtenidos en el estudio inmunohistoquímico de las proteínas onco-placentarias en las neoplasias del ovario, han sido muy variables, oscilando la frecuencia de aparición entre el 35.6% de la PP<sub>14</sub> y el 11.8% de la PP<sub>5</sub>. Sin embargo, las variaciones han sido aún mayores, en función del tipo histológico del tumor. Así, mientras que la mayor frecuencia de aparición se obtuvo en los tumores epiteliales del ovario, donde la PP<sub>14</sub> fué positiva en el 60% de los casos, todas las proteínas fueron negativas en los tumores de los cordones sexuales y del estroma. Por otra

parte, no encontramos relación estadísticamente significativa, entre la presencia de éstas proteínas y los diferentes parámetros clínicos estudiados.

En el adenocarcinoma de endometrio, la presencia de proteínas onco-placentarias ha sido excepcional y se han encontrado ausentes en las neoplasias del testículo.

Finalmente, la frecuencia de aparición de las proteínas onco-placentarias en las neoplasias de la mama, ha oscilado entre el 8.3% de la PP<sub>5</sub> y el 50% de la P.S.B.G.. A diferencia de lo ocurrido en otros tipos de neoplasias, hemos encontrado una relación estadísticamente significativa entre la presencia de P.S.B.G. y la ausencia de recidiva tumoral y entre la presencia de proteínas onco-placentarias en general y la presencia de receptores estrogénicos.

Las conclusiones de nuestro trabajo pueden resumirse en dos:

1. El estudio inmunohistoquímico de las proteínas onco-placentarias en la patología neoplásica del aparato reproductor, es útil en la enfermedad trofoblástica y en las neoplasias de

la mama. En la primera, permiten establecer la posible capacidad invasiva del trofoblasto y en la segunda, por su relación con los receptores estrogénicos.

2. Las proteínas onco-placentarias estudiadas no se comportan como buenos marcadores tumorales, de las neoplasias del aparato reproductor, ni utilizadas conjuntamente, ni de forma individual.

IX.- BIBLIOGRAFIA.

- 1.- AAMDAL, S.; BORMER, O.; JORGENSEN, O.; HOST, H; GUNNAR, E.; KAALHUS, G. y PIHL, A.: Estrogens receptors and long-term prognosis in breast cancer. Cancer, 53:2525-2529, 1984.
- 2.- ABELEV, G.I.: Alpha-fetoprotein in ontogénesis and its association with malignant tumours. Adv. Cancer Res. 14;295, 1971.
- 3.- ACOSTA-SISON, H.: Trophoblastic or chorionic tumors as observed in the Philippines; en, CHORIOCARCINOMA UICC MONTHLY SERIES, Vol.3, pp 33 (J.A.Holland, M.M. Hreshchyshyn, Ed.). Springer Verlag. Berlin, Heidelberg, 1967.
- 4.- AMERICAN CANCER SOCIETY: Cancer facts and figures. New York, 1980.
- 5.- AHMED, A.M.; TOOP, K.M. y KLOPPER, A.: The demonstration of two pregnancy-associated proteins with SP-1 determinants in placental extracts. Placenta, 2 : 45-52, 1981.
- 6.- AHMED, A.G. and KLOPPER, A.: Detection of subclinical abortion by assay of P.S.B.G. Brit.Med.J.; 288: 113-115, 1984.
- 7.- AMERICAN CANCER SOCIETY: Cancer facts and figures. New York, 1981.
- 8.- Annual Report of the results of treatment in carcinoma of the uterus, vagina and ovary (H.L.Kotmeier, Ed.) Radiumhemmet, Estocolmo, 1976.
- 9.- ASCHEIM, S. y ZONDEK, B.: Hypophysenvorderlappenhor-

- men und Ovarialhormon im harm von schwangesen.  
Klin.Wochenschr. 6:1.322,1927.
- 10.- BAGSHAW, K.D.: Choriocarcinoma the clinical biology of the trophoblast and its tumours. (Edward Arnold, Ed.) London, 1969.
- 11.- BAGSHAW, K.D. Choriocarcinoma: Can we afford to cure cancer? Ann R. Coll. Surg. Engl.; 60:36, 1978.
- 12.- BALLON, S.C.: Immunoterapia y diagnóstico del cancer ovarico. Clinicas Obstetrica y Ginecológica, pp.58 Ed. Interamericana. 1979.
- 13.- BARLOW, J.J.; BHATTACHARYA, M.: Tumors markers in ovarian cancer. tumor-associated antigens. Semin Oncol. 2:203, 1975.
- 14.- BARRELET, V. y Mach, J.P.: Variations of the carcino-embryonic antigen level in the plasma of patients with gynecological cancer during therapy. Am. J. Obstet. Gynecol. 121:164-167, 1975.
- 15.- BAUER, H.W.; HASSELBLATT, I.; HUSFEDT, K.J. y BOHN, H.: Serologische Mammacarcinomverlaufskontrolle mit Hilfe des Schwangerschafts-assoziierten alfa 2 glykoproteins. Langebecks Arch. Chir. (suppl) Chir. Forum. 344:69-72, 1977.
- 16.- BENNINGTON, J.L.; FERGUSON, B.R.; HABER, S.L.: Obstet. and Gynec. 32:627, 1969.
- 17.- BISCHOFF, P.; HUGHES, G. y KLOPPER, A: Relationships of obstetrics parameters to the concentration of PAPP-A. Am. J. Obstet. Gynecol. 138:494-499, 1980.

- 18.- BISCHOF, P.: Pregnancy associated plasma protein A (PAPP-A) an inhibitor of the complement system. Pacenta. 2:29-34, 1981-a
- 19.- BISCHOF, P.; HAENGGELI, L.; SIZONENKO, M. T.; HERRMANN, W. L. y SIZONENKO, P. C.: A radioimmunoassay for the measurement of PAPP-A in humans. Biol.Reprod. 24: 1076-1081, 1981-b.
- 20.- BISCHOF, P.; RAPIN, C. H.; WEIL, A.; HERRMANN, W.: Is pregnancy-associated plasma protein A a tumor marker? Am. J. Obstet. Gynecol. 149:379-381, 1982-a.
- 21.- BISCHOF, P.; DUBERG, S.; SCHINDLER, A. M.; OBRADOVICH, D.; WEIL, A.; FAIGAUX, R.; HERRMANN, W. L. y SIZONENKO, P. C.: Endometrial and plasma concentrations of PAPP-A. Br. J. Obstet. Gynaecol. 89:701-703, 1982-a.
- 22.- BISCHOF, P.; LAUBER, K.; WURSTEMBERGER, B. de; GIRARD, J. P.: Inhibition of lymphocyte transformation by PAPP-A. J. Clin. Lab. Immunol. 7:61-65, 1982-c.
- 23.- BISCHOF, P.; DUBERG, S.; SCHINDLER, A. M.; HERRMANN, W. y SIZONENKO, P.: A hypothesis on the biological function of PAPP-A. En: GRUDZINSKAS, TEISNER y SEP-PALÁ, pp. 321-331. Acedemic. PRESS. SYDNEY. 1982-d.
- 24.- BISCHOF, P.; MARTIN DU PAN, R.; LAUBER, K.; GIRARD, J. P.; HERRMANN, W. L.; SIZONENKO, P. C.: Human seminal plasma contains a protein that shares physiochemical, immunochemical and immunosuppressive properties with pregnancy associated plasma protein A (PAPP-A). J. Clin. Endocrinol. Metab. 56:359-362, 1983.
- 25.- BISCHOF, P.; MEISSER, A.; GEINOZ, A.; SCHINDLER, A. M.:

- Origin and biological effects of PAPP-A. En: BISCHOF P. y KLOPPER, A. Proteins of the placenta, pp 142-147, KARGER, BASEL, 1985.
- 26.- BOHN, H.: Isolierung und charakterisierung des schwangerschafts-spezifischen B glycoproteins. Blut. 24:292-302, 1972.
- 27.- BOHN, H. y KRANZ, T.: Identification of pregnancy associated B glycoprotein with the steroid binding globulin. Arch. Gynäkol. 215:63-71, 1973.
- 28.- BOHN, H.: Placental and pregnancy proteins. En: LEKMANN Carcino-Embrionic Proteins. pp 289-299. Elsevier/North Holland. 1979.
- 29.- BOHN, H.: New placental and pregnancy proteins as possible Markers in Oncology. Klin. Wochenschr. 58:489-492, 1980.
- 30.- BOHN, H.; KRAUS, W y WINCKLER, W.: New soluble placental tissue proteins: Their isolation, characterization, localization and quantification. En: Immunology of human placental proteins. KLOPPER, A. Placenta (suppl. 4) Praeger, Eastbourne pp. 67-81; 1982.
- 31.- BOHN, H.: Systematic identification of specific oncoplacental proteins. En: Oncodevelopment Markers. Academic Press. pp. 69-86, 1983.
- 32.- BOHN, H.: Biochemistry of Placental Proteins. En: Proteins of the placenta. BISCHOF y KLOPPER. pp. 1-25. KARGER. 1985.
- 33.- BRAUSTEIN, G. D.; VAITUKAITIS, J. L.; CARBONE, P. P. :

- Ectopic production of human chorionic gonadotropin by neoplasms. Ann. Intern. Med. 78:39-42, 1973.
- 34.- BREMMER, R.D.; NISBET, A.D.; HERRIOT, R.; HORNE, C.H.W.; McARDLE, C.; CRAWFORD, D. y BOHN, H.: Detection of PP-5 and P.S.B.G in benign and malignant breast disease. Oncodev. Biol. Med. 2:55-62, 1981.
- 35.- BREWER, J.I.; GERBIE, A.B.: Early development of choriocarcinoma (J.A.HOLLAND, M.M.; HRESHCHYSHYM, Ed.) UICC, Monthly Series, vol. 3, pp 45. Springer Verlag. Berlin, Heidelberg, 1967.
- 36.- BURTIN, F.M.; BUFFE, D.; VON KLEIST, S.: Los antígenos carcinoembrionarios de los tumores humanos. TRIANGULO. 11: 23, 1972.
- 37.- CAMPBELL, H.: The epidemiology of ovarioan cancer. En Gynecological Malignancy. Clinical and experimental studies (M.G. Bruschi, R.W. Taylor, Eds.) pp. 111-132. Bailliere Tindall, London, 1975.
- 38.- CASPER, S.; VAN NAGELL, J.R.; POWELL, D.F.; DUBILIER, L.D DONALDSON, E.S.; HANSON, M.B. y PAVLIK, E.J.: Immunohistochemical localization of tumor markers in epithelial ovarian cancer. Am. J. Obstet. Gynecol. 149: 154-158; 1984.
- 39.- CASTAÑO-ALMENDRAL, A.; KÄSER, O.; HALBERSTADT.: Das ovarial carcinoma. Der Gynäkologes 1/3: 17-29, 1970.
- 40.- CERNI, C.; TATRA, G.; BOHN, H.: Immunosuppression by human placenta lactogen (HPL) and the pregnancy specific B glycoprotein (SP-1). Arch. Gynäkol. 223: 1-7, 1979.

- 41.- COHEN, C. J.; GUSBERG, S. B.; HOFFLER, D.: Histological screening for endometrial cancer. Gynecol. Oncol. 2: 279, 1974.
- 42.- COOMBES, R. C.; NEVILLE, A. M.: Significance of tumour-index substances in management, en secondary spread in breast cancer. New aspect of breast cancer. vol. 3 (BASIL a STOLI, Eds.) Willian Heinemann Medical Books Ltd. London, 1977.
- 43.- COOBES, R. C.: Biochemical markers in breast cancer. En: Breast cancer manegement. (R. C. COOMBES, T. J.; POWLES.; H. T. FORD; J. C. GAZET, Ed.) pp 153-169 Ademic Press London, Grune and Stratton. New York, 1981.
- 44.- CURRAN, R. C. y GREGORY, J.; The unmasking of antigens in parafin seccion of tissue by trypsin. Experientia. 33: 1400-1401, 1977.
- 45.- CUTLER, S. J.; YOUNG, J. L.: Third national cancer survey: Incidence Data Us Gov. Print. Office. Washinton, D. C. 1975.
- 46.- CRAMER, D. W.; CUTLER, S. J.; CRISTINE, B.: Trends in the incidence of endometrial cancer in the United States. Gynecol. Oncol. 2: 130, 1974-a.
- 47.- CRAMER, D. W.; CUTLER, S. J.: Incidence and histopathology of malignancies of the female genital organs in the United States. Am. J. Obstet, Gynecol. 118: 443, 1974-b.
- 48.- CROWTHER, M. E.; GRUDZINSKAS, J. G.; POULTON, T. A. y GORDONS, Y. B.: Trophoblastic Proteins in Ovarian Carcinoma. Obstet. Gynecol. 53: 59-61, 1979.

- 49.- CHARD, T y GRUDZINSKAS, J.G.: Placental and pregnancy Associated Proteins. control Mechanisms and Clinical application. En: Proteins of Placenta. BISCHOF y KLOPPER. pp. 102-113. Ed. Karger. London 1985.
- 50.- CHEMNITZ, J.; TORNEHAUF, D.; TEISNER, B.; POULSEN, H.K. y WESTERGAARD, J.G.: The localization of pregnancy proteins (HPL, SP-1 y PAPP-A) in intra and extra-uterine pregnancies. Placenta. 5:489-494, 1984.
- 51.- CHRISTOPHERSON, W.: Carcinoma of the endometrium: a study of changing rates over a 15 years period. Cancer. 27, 1005, 1971.
- 52.- CHU, T.M.; NEMOTO, T.: Evaluation of carcinoembryonic antigen human mamary carcinoma. J. Natl. Cancer. Inst. 51:1119, 1973.
- 53.- DELGADO, F.; PARRILLA, A.; DUEÑAS, J.L.; FERNANDEZ-ORTEGA, J.M.; FERNANDEZ, M.I. y NAVARRO, J.: Comportamiento de la P.S.B.G.; H.P.L. y Estriol en la embarazada diabética insulino-dependiente. Rev. Esp. Obst. Gin. 44:607-614, 1985.
- 54.- DELGADO, F.J.; PARRILLA, A.; DUEÑAS, J.L.; FERNANDEZ-ORTEGA, J.M. y NAVARRO, J. Toko-Gin. Pract. 45:23-28, 1986.
- 55.- Di SAIA, P.H.J.; HAVERBACH, B.J.; DYCE, B.J.; MORROW, C.P.: Carcinoembryonic antigen in patients with gynecologic malignancies. Am. J. Obstet. Gynecol. 121:159-162, 1975.
- 56.- Di SAIA, Ph.J.; CREASMAN, W.T.: Clinical gynecologic oncology. the C.V. Mosby Company. St. LOUIS Toronto, London, 1981.

- 57.- DOBASHI, K.; AJIKA, K.; OHKAWA, T.; OKANO, H.; OKINAGA, S. y ARAI, K.: Immunohistochemical localization of PAPP-A in placental from normal and preeclamptic pregnancies. Placenta. 5:205-212, 1984.
- 58.- DOLL, R.; MUIR, C.S.; WATERHOUSE, J.: Cancer incidence in five continents. UICC. vol. 2. Springer Verlag. Berlin, Heidelberg. New York 1970.
- 59.- DONALSON, E.S.; VAN NAGELL, J.R.; PURSELL, S.; GAY, E. C.; MEEKER, W.R.; HASHMIRI, R.; VAN DE VOORDE, J.: Multiple biochemical markers in patients with gynecological malignancies. Cancer. 45:948, 1980.
- 60.- DUBRAUSZKY, V.: Geschwülste und geschwulstähnliche bildungen des eistocks. (1)(2). Gyn. Praxis 1:75-94, 295-316. Hans Marseille. Verlag, München, 1977.
- 61.- DUEÑAS DIEZ, J.L.; GONZALO, J.T.; CARRASCO, F.; ALBERT, A y NAVARRO, J.: Estudio comparativo de los niveles plasmáticos de P.S.B.G., B-HCG; ESTRIOL, H.P.L. y Progesterona en gestantes con hipertension. Toko-Gin. Pract. 42:349-358, 1983.a.
- 62.- DUEÑAS, J.l.; GONZALO, J.T.; ALBERT, A.; CARRASCO, F. y NAVARRO, J.: Estudio comparativo de los niveles plasmáticos de P.S.B.G.; B-HCG; HPL; ESTRIOL y Progesterona en gestantes sospechosas de portar un feto con síndrome de R.C.I. Rev. Esp. Obst. Gin. 42: 552-559, 1983-b.
- 63.- DUEÑAS, J.L.; GONZALO, J.T.; CARRASCO, F.; ALBERT, A. y NAVARRO, J.: Estudio de los ritmos relativos de producción entre las proteínas placentarias específicas y el Estriol en el embarazo cronológica-

- mente prolongado. Prog. Obstet. Ginecol. 26:285-291  
1983-c.
- 64.- DUEÑAS, J.L.; GONZALO, J.T.; CARRASCO, F.; ALBERT, A. y  
NAVARRO, J.: Niveles plasmáticos de P.S.B.G. en  
gestantes normales. Prog. Obstet. Ginecol. 26:293-  
296, 1983-d.
- 65.- DUEÑAS, J.L.; GONZALO, J.T.; CARRASCO, F.; ALBERT, A. y  
NAVARRO, J. Relacion entre los niveles plasmáticos  
de la P.S.B.G.; B-HCG; Estriol Total y Progesterona  
en gestantes normales. Clin. Invest. Gin. Obst. 11:  
103-107, 1984-a.
- 66.- DUEÑAS, J.L.; GONZALO, J.T.; ALBERT, a.; CARRASCO, F  
y NAVARRO, J.: Valor pronostico de la P.S.B.G. en  
gestantes que presentaron metrorragias durante  
la primera mitad del embarazo. Clin. Invest. Gin. Obst  
11:108.112, 1984-b.
- 67.- DUEÑAS, J.L.; GONZALO, J.T.; CARRASCO, F.; ALBERT, A.  
y NAVARRO, J.: Modificaciones del ritmo de produc-  
cion de las proteinas placentarias específicas  
en las gestantes dicabéticas: nueva hipótesis fisio-  
patológica. Clin. Invest. Gin. Obst. 11:113-119, 1984c
- 68.- DUEÑAS J.L.; NAVARRO, J. y FERNANDEZ-ORTEGA, J.M.:  
Avances en monitorizacion bioquímica prenatal:  
Proteinas placentarias específicas. En: Avances  
en el control fetal. Clin. Gin. Ed. Salvat. pp.43-  
54, 1986-a.
- 69.- DUEÑAS, J.L.; PARRILLA, A.; FERNANDEZ-ORTEGA, J.M.;  
y NAVARRO, J.: Correlacion entre los valores de  
P.S.B.G.; H.P.L. Y Estriol y los pesos placentarios

- y del neonato. En: Avances en el control fetal. Clin. Gin. Ed. Salvat. pp. 52-59; 1986-b.
- 70.- DUEÑAS, J.L.; PARRILLA, A. y NAVARRO, J.: Localización inmunohistoquímica de las proteínas placentarias en la placenta humana normal (I): B-HCG; P.S.B.G. y P.Z.P. Prog. Obstet. Ginecol. (en prensa), 1986, c
- 71.- DUEÑAS, J.L.; PARRILLA, A. y NAVARRO, J.: Localización inmunohistoquímica de las proteínas placentarias en la placenta humana normal (II): PP-5; PP-10; PP+12; y PP-14. Progr. Obstet. Ginecol. (en prensa), 1986, d.
- 72.- DUEÑAS, J.L.; PARRILLA, A. y NAVARRO, J.: Localización inmunohistoquímica de las proteínas placentarias en la placenta humana normal. Progr. Obst. Gin. (en prensa), 1986-e.
- 73.- EIERMANN, W; BRUTTING, G. y PRECHTEL, K.: Detection of P.S.B.G. and H.P.L. in benign breast disease. En: Carcino-Embryonic Proteins. LEHMANN. Vol. 2 pp. 477-480. Elsevier/North Holland. Biomedical Press, 1978.
- 74.- EINHORN, L.H.: En Management and treatment Testicular Tumors. Ed. MASON, New York, 1980.
- 75.- ELVERS, L.H.; HIEMSTRA, G. y LEQUIN, R.M.: A Radioimmunoassay for pregnancy associated protein B-SP-1 Levels in pregnancy, trophoblastic and neoplastic disease. Hormone Res. 12: 245-252, 1980.
- 76.- FATHALLA, M.F.: Factors in the causation and incidence of ovarian cancer. Obstet Gynecol. Surv. 27: 751, 1972.

- 77.- FERNANDEZ-CID,A.:Valor del diagnóstico multidisciplinario en patología mamaria.En:Clinica Ginecológica.8/2 pp.159-213.Ed.Salvat.Barcelona 1984.
- 78.- FERNANDEZ-ORTEGA,J.M.;DUEÑAS,J.L y NAVARRO,J.: Valor de la P.S.B.G. En la predicción del riesgo fetal.Rev.Esp.Obst.Gin.43:575-584,1984.
- 79.- FIGO:Classification and staging of malignant tumours in the female pelvis.General Assambly Figo. New York,1970.Acta Obstet.Gynecol.Scand.50: 1, 1971.
- 80.- FISHER,B.;SLACK,N.H.;BROSS,I.D.J.:Cancer of the breast.Size of neoplasm and prognosis.Cancer.24: 1071,1969.
- 81.- FISHER,R.I.;YOUNG,R.C.:Advances in the staging and treatment of ovarian cancer.Cancer.39:967,1977
- 82.- FISHMAN,W.H.;RAAN,S. y STOLBACH,LL.:Markers for ovarian cancer.Regan isoenzyme and othen glycoproteins.Semin.Oncol.2:211,1975.
- 83.- FREEDMAN,S.O.:Antigens in tumours en Scientific Foundation of Oncology (T.Symington;R.L.Carter.Ed.) William Heinemann.Medical Books ltd.London,1976.
- 84.- FURMANSKI,P;SAUNDERS,D.E.;BROOKS,S.C.:The prognostic value of estrogen receptor determinants in patients with primary breast cancer:An up-date.Cancer.46:2794-2796,1980.
- 85.- GAGNON,F.:Contribution to study of etiology and prevention of cancer of the cervix,uterus.Am.J.

Obstet.Gynecol.60:516,1950.

- 86.- GALL, S.A.; WALLING, G.J.; PEARL, J.: Demonstration of tumors associated antigens in human gynecologic malignancies. Am.J.Obstet.Gynecol.115:387,1973.
- 87.- GERBER, B.; HANDY, W.H.; GERHARD, P.R.; SALOMON, M.: Cancer in the New York State, exclusive of New York City. Bureau of Cancer Control. New York Department of Health. 1962.
- 88.- GERSHON-COHEN, J.; HERMET, M.B.; BERGER, S.M.: Detection of breast cancer by period X-ray examination. JAMA,176:1114,1961.
- 89.- GOLD, P.: Antigenic reversion in human cancer. Ann. Rev. Med.22:85,1971.
- 90.- GOLDSTEIN, D.P.; BERKOWITZ, R.S.: Gestational trophoblastic neoplasm. Clinical principles of diagnosis and management. En: W.B. Saunders. Ed. Comp. Filadelfia 1982.
- 91.- GONZALO de, J.T.; DUEÑAS, J.L. y NAVARRO, J.: Estudio comparativo de tres marcadores tumorales (PSB G; B-HCG y CEA) en la enfermedad trofoblástica. Rev. Esp. Obst, Gin.42:672-677,1983.
- 92.- GONZALO de, J.T.; PEÑA, J.; DUEÑAS, J.L. y NAVARRO, J.: Estudio de un caso de coriocarcinoma de ovario mediante el análisis comparativo de varios marcadores tumorales (PSBG; B-HCG y CEA). Progr. Obst. Gin.27:419-422;1984.
- 93.- GORDON, Y.B. y CHARD, T.: The Specific Proteins of

- the Human Placenta. Some New Hypotheses. En Kloppner y Chard. Placental Protein. pp 1-17. Ed. Springer Verlag. 1979.
- 94.- GORINS, A.: Elements cliniques de haut risque. En: J. REYNIER, Face au cancer du sein. pp. 24 y ss. Ed. L'expansion Scientifique Française, 1974.
- 95.- GRAHAM, R.C. y KARNOVSKY, M.J.: The early stages of absorption of infected horseradish peroxidase in the proximal tubules of mouse kidney: Ultrastructural cytochemistry by a new technique. J. Histochem. Cytochem. 14:291-302, 1966.
- 96.- GRAHAM, R.M.: Diagnosis of ovarian carcinoma by cul de sac aspiration. in: Ovarian Cancer. pp. 87, 1968.
- 97.- GRAVLEE, L.C.: Jet. Irrigation method for the diagnosis of endometrial adenocarcinoma. Obstet. Gynecol. 34:169, 1969.
- 98.- GREENWOOD, S.M.; WRIGHT, D.J.: Evaluation of the office endometrial biopsy in the detection of endometrial carcinoma and atypical hyperplasia. Cancer. 43:1474, 1979.
- 99.- GRUDZINSKAS, J.G.; GORDONS, Y.B.; OBIKWE, B.C.; PENDLEBURY, D. y CHARD, T.: Detection of circulating placental protein 5 in patients with trophoblastic tumors. Am. J. Obstet. Gynecol. 137:866-867; 1980.
- 100.- GRUDZINSKAS, J.G.; WESTERGAARD, J.G. y TEISNER, B.: PAPP-A in normal and abnormal pregnancies. 5th International Congress on Placental Proteins. Annecy (Francia) 1982.

- 101.- HAHNEL, R.; WOODINGS, T. y VIVIAN, A.B.: Prognostic value of estrogen receptors in primary breast cancer. Cancer. 44:671-675, 1979.
- 102.- HEIKINHEIMO, M.; WAHLSTROM, T.; AULA, P.; VIRTAWEN, I. y SEPPALA, M.: Pregnancy Specific B Glycoprotein (SP, 1) in cultivated amniotic fluid cells. J. Clin. Endocrinol Metab. 51:1432-1436, 1980.
- 103.- HEIKINHEIMO, M.; SAKSELA, O.; LEHTOVIRTA, P.; SEPPALA, M. y BOHN, H.: Cultured human syncytiotrophoblast synthesize P.S.B.G. Acta Path. Microbiol. Scand. Sect. C 89:139-144, 1981.
- 104.- HILLIER y JONES. Citados por TEISNER, B. y BACH, A.: Pregnancy Specific B Glycoprotein (SP-1): Molecular Forms. En: GRUDZINSKAS, TEISNER y SEPPALA. Pregnancy Proteins. pp. 212. Academic Press. Sydney. 1982.
- 105.- HINDERSON, P.; TEISNER, B.; FOLKERSEN, J.; GRUDZINSKAS, J.G. y WESTERGAARD, J.G.: Investigations into the molecular heterogeneity of pregnancy specific B glycoprotein. (SP-1). Placenta. 2:233-240, 1981.
- 106.- HO, P.C. y MA, H.K.: SP-1 in serum and cerebrospinal fluid of patients with gestational trophoblastic disease. Br. J. Obstet. Gynaecol. 90:317-322; 1983.
- 107.- HORNE, C.H.W.; REID, I.N. y MILNE, G.D.: Prognostic significance of inappropriate production of pregnancy proteins by breast cancers. Lancet. 2:279-282, 1976, a.
- 108.- HORNE, C.H.W.; TOWLER, C.M.; PUGH-HUMPHREYS, R.G.P.; THOMPSON, A.W. y BOHN, H.: Pregnancy specific B glycoprotein: A product of the syncytiotrophoblast.

Experientia.32:1197-1199,1976-b.

- 109.- HORNE,C.H.W.;TOWLER,C.M.y MILNE,G.D.:Detection of pregnancy Specific B Glycoprotein in formalin-fixed tissues.J.Clin.Pathol.30:19-23,1977.
- 110.- HORNE,C.H.W.;PUGH-HUMPHREYS,R.G.P. y BREMNER,R.D.: Practical and theoretical considerations in the detection and measurement of immunoreactive P.S.B.G. in tumours.En:LEHMANN.Carcinoembryonic Protein Vol.I pp.301-311.ELSEVIER/NORTH-HOLLAND,1979.
- 111.- HUGHES,G.:BISCHOF,P.;WILSON,g.;SMITH,R y KLOPPER,A.: Test of fetal wellbeing in the trimester of pregnancy.Br.J.Obstet.Gynaecol.87:650-656,1980.
- 112.- INABA,N.;RENK,T.;WURSTER,K.;RAPP,W. y BOHN,H.: Ectopic synthessis of P.S.B.G.and placental specific tissue proteins(PP-5;PP-10;PP-11;PP-12)in nontrophoblastic malignant tumours possible markers in oncology.Klin.Wochenschr.58:789-791; 1980.
- 113.- INABA,N.;RENK,T.y BOHN,H.:Immunohistochemical location of placental proteins(PP-8;PP-9;PP-10;PP-11;PP-12) in human term placental.Arch.Gynecol. 230:109-121,1980.
- 114.- INABA,N.;ISHIGE,H.;IJICHI,M.;SATOH,N.;OHKAWA,R.;SEKIYA,S;SHIROTAKE,S.;TAKAMIZAWA,H.;RENK,T. y BOHN,H.:Immunohistochemical detection of P.S.B.G and placenta-specific tissue proteins.(PP-5;PP+10;PP-11 y PP-12) in ovarian adenocarcinomas.Oncodev. Biol.Med.3:379-389,1982.
- 115.- International Federation of Gynecology and Obs-

- tetric. Annual Report on the results of treatment in gynecological cancer. Vol.18,1982.
- 116.- JANDIAL, V.; TOWLER, C.M.; HORNE, C.H.W. y ABRAMOVICH, J.: Plasma P.S.B.G. in complications of early pregnancy. Br.J.Obstet, Gynecol. 85:832-836, 1978.
- 117.- JEFFCOATE, N.: En, Tumores trofoblasticos. Ginecologia. pp.257 Ed. Interamericana Argentina, 1979.
- 118.- JELOUSEK, F.R.; HAMMONS, Ch.B.; WOODARD, B.H.; DRAFF, N. B.; LEE, K.L.; CREASMAN, W.T.; PARKER, R.T.: Risk of exogenous estrogen therapy and endometrial cancer. Am. J.Obstet, Gynecol. 137:2124, 1968.
- 119.- JOHANNSEN, R.; HAUPT, H.; BOHN, H.; HETDE, K.; SEILER, F.R.; SCHWICH, H.G.: Inhibition of the mixed leucocyte culture (MLC) by proteins: mechanism and specificity of the reaction. Z. Immunitaetsforsch. 152, 280-286, 1976.
- 120.- JOHNSON, A.: Masa pelvica y diagnostico de carcinoma de ovario, en: Clin.Obstet.Ginecol. pp.70 Ed. Interamericana, 1979.
- 121.- JOHNSON, S.A.N.; GRUDZINSKAS, J.G.; GORDON, Y.B.; ALANI, A.T.M.: P.S.B.G. in plasma and tissue extract in malignant teratoma of the testis. Brit.Med.J. 1: 951-952, 1977.
- 122.- JONES, W.; LEWIS, J.: Treatment of gestational trophoblastic disease. Am.J.Obstet.Gynecol. 120: 14, 1974.
- 123.- JONES, W.: Treatment of chorionic tumours. Clin.Obstet.Ginecol. 121:669, 1975.
- 124.- JONES, W.B.: Endometrial carcinoma, en: Current concepts in surgical oncology. (JATIN, P.; SHAH, Ed.) Memorial Sloan Kattering cancer center. New York. 1980.

- 125.- JOSIMOVICH, J.B.; MACLAREN, J.A.: Presence in the human placenta and term serum of a highly lactogenic substance immunochemically related to pituitary growth hormone. Endocrinology. 71:209-220, 1962.
- 126.- JOUPPILA, P.; SEPPALA, M. y CHARD, T.: P.S.B.G. in complications of early pregnancy Lancet. 29(8170):667-668, 1980.
- 127.- JULKUNEM, M.; RYTANEN, E.M.; KOSKIMIES, A.; RANTA, T.; BOHN, H y SEPPALA, M.: Distribution of placental protein 14 in tissues and body fluids during pregnancy. Br. J. Obstet. Gynaecol. 92:1145-1151; 1985.
- 128.- KAYODE, O. y KLOPPER, A.: Placental proteins (SP; PAPP-A; B-HCG y Alfa-2-PAG), as tumours markers in non-trophoblastic malignant neoplasm. 5th. International Congress on Placental Proteins. ANNECY, 1984
- 129.- KENT, C.; en: Cancer de testiculo y de prostata, pp. 1756, Medicina Interna STEIN, J.H. Ed. Salvat, S.A. Barcelona, 1983.
- 130.- KHOO, S.K. y MACKEY, E.V.: Carcinoembrionic antigen (CEA) in ovarian cancer: Factors influencing its incidence and changes which occur in response to cytotoxic drugs. Br. J. Obstet. Gynaecol. 83:753-756, 1976.
- 131.- KIDES, E.; YUNG, G.: Die bedeutung der lactatdehydrogenase (L.D.H.) und ihre isoenzymen bei der diagnose maligner und benigner ovarial tumores. Bücherei des Frauenarztes. Ferdinand Enke. Verlag Stuttgart. 1973.a
- 132.- KIDES, E.: Die bedeutung von unspezifischen und sauren phosphatasen in der diagnose des ovarialkarzinoms. Büch des Frauenarztes. Ferdinand Enke. Verlag Stuttgart. 1973.

noms.Büch des Frauenarztes.Ferdinan Enke.Verlag Stuttgart.1973,b.

- 133.- KIDES,E.y UNBEHAUN,N.:Uber die sog leucin amino peptidasen(sog L.A.P.) bei ovarialkarzinom.Büch des Frauenarztes,Ferdinad Enke.Verlag Stuttgart. 1973,c.
- 134.- KLOPPER,A.:Biological and clinical aspects of PAPP-A.En:GRUDZINSKAS,TEISNER y SEPPALA,Pregnacy Proteins.Academic Press.pp.333-344.1982.
- 135.- KLOPPER,A. y AHMED,A.G.:Subclinical abortion in fertile women.En:Protein if the placenta.BISCHOF y KLOPPER.pp.114-122,KARGER,1985.
- 136.- KNAPP,R.C.;FULLER,A.F.;SCHLOSSMAN,S.F.:Immunology of gynecological cancer en:advances in obstetrics and gynecology(R.M.CAPLAN,;W.J.SWEENEY,III,eds.) The Williams and Wilkins comp.Baltimore,1978.
- 137.- KNOR,K.;BELLER,F.K.;LAURITZEN,C.H.:Lehrbuch der Gynäkologie.Springer Verlag. Berlin-Heidelberg-New Yor,1972.
- 138.- KUHAJDA,F.P.;BOHN,N y MENDELSONH,G.:Pregnancy specific B glycoprotein(SP-1) in breast carcinoma. Cancer.54:1392-1396,1984.
- 139.- KUHAJDA,F.P.;ABELOFF,M.D. y EGGLESTON,J.C.:PAPP-A:A clinically significant predictor of early recurrence in stage II breast carcinoma Hum.Pathol. 16:228-235;1985,a.
- 140.- KUHAJDA,F. y EGGLESTON,J.C.:PAPP-A:Aclinically significant predictor of early recurrence in stage

- I breast carcinoma is independent of estrogen receptors status. Am.J.Pathol.121:342-348;1985-b.
- 141.- KUHAJDA,F.P. y EGGLESTON,J:Pregnancy-Associated plasma protein A and extensive necrosis.Clinically significant predictors of early recurrence in stage I estrogen receptor-negative breast carcinoma. Laboratory Investigation,53:101-107,1985,c.
- 142.- KYANK,H. y SOMMER,K:Lehrbuch der gynäkologie.Verb. Georg,Thieme.Leipzig,1974.
- 143.- LEE, J.N.;SALEM,H.;AL-ANI,A.;CHARD,T.;HUANG,S.CH.; OUYANG,P.Ch.;WEI,P.Y. y SEPPALA,M.:Circulating concentrations of specific placental proteins (human chorionic gonadotropin,P.S.B G. y PP-5) in untreated gestational trophoblastic tumours.Am.J.Obstet.Gynecol.139:702-704,1981.
- 144.- LEE, J.N.;SALEM,H.T.;CHARD,T.;HUANG,S.C. y OUYANG, P.C.:Circulating placental proteins(HCG,SP-1 y PP-5) in trophoblastic disease.BR.J.Obstet.Gynaecol 89:69-72,1982.
- 145.- LEVIN,L;MCHARDY,J.E. y POULTON,T.A.:Tumour-associated immune responses and isolated carcinoembryonic antigen and alfa-fetoprotein levels related to survival in ovarian cancer patients.Br.J.Cancer. 33:363-367,1976.
- 146.- LIN,T.M.;HALBERT,S.P.;KIEFER,D.;SPELLACY,W.N.Y GALL S.: Characterization of four human pregnancy associated plasma proteins.Am.J.Obstet.Gynec.118:223-236.1974.

- 147.- LIN, T.M.; HALBERT, S.P.: Placental localization of human pregnancy-associated plasma proteins. Science. 193:1249-1252(1976).
- 148.- LINGEMAN, C.H.: Etiology of Cancer of the human ovary: a review. J.Natl.Cancer Inst. 53:1603, 1974.
- 149.- LYNCH, H.T.; KRUSH, A.J. y LORSEN, A.L.: Cancer de l'endometre. Affection malignes primitives multiples facteurs constitutionnels et heredité. Am.J.Med.Sci. 252, 381, 1966.
- 150.- MAHBOUBI, E.D.; EYLEN, N.Y.; WYNDER, E.L.: Epidemiology of cancer the endometrium. Clin.Obstet.Gynecol. 25/5 pp.26, 1982.
- 151.- MARCHANT, D.J.: Epidemiology of breast cancer, en Breast Cancer (D.J.Marchant; I.Nyrjesy; eds.) pp. 53-61 Grune and Stratton. New York. 1979.
- 152.- MASABUCHI, K.: Personal comunication and procedinds of International Cancer Congres. Florence, 1974.
- 153.- MASON, T.E.; PHIFER, R.F.; SPICER, S.S.; SWALLOW, R.A Y DRESKIN, R.B.: An Immunoglobulin-enzyme bridge method for localizing Tissue antigens. J.Histochem. Cytochem. 17:563-569. 1969.
- 154.- MCGOWAN, L.: Cytologie methods, for the detection of endometrial cancer. Gynecol.Oncol. 2:272, 1974.
- 155.- McINTYRE, J.A.; HSI, B; PAGE FAULK, W; KLOPPER, A. y THOMSON, R.: Immunological studies of the human placenta: Funtional and morfological analysis of pregnancy associated plasma protein A (PAPP-A). Immunology. 44:577-583, 1981.

- 156.- MILAN, A. R.; MARKLEY, R. L.: Endometrial cytology by a new technic Obstet. Gynecol. 42:469, 1973.
- 157.- MONTERO, C.: Immunocytochemical methods and their achievement in pathology, en: JASMIN, G. Ed. Cell markers methods and achievements in experimental pathology. vol-10 pp.1-36 S. KARGER, BASEY (suiza). 1981.
- 158.- MORTON, J.: Carcinoma of the endometrio. Am. J. Obstet. Gynecol. 95, 358, 1966.
- 159 NAIB, A. M.: Exfoliative cytology little .pp 76-81 Ed. Brow and Company. Boston. 1970.
- 160.- NOVAK, E.: NOVAK'S Textbook of gynecology. pp. 590 Ed. Williams Wilkins. Baltimore, 1975.
- 161.- NISBET, A. D.; BREMNER, R. D.; HORNE, C. H. W.; BROOKER, D.; TWIGGS, L. B.; OKAGAKI, T.: Placental Protein-5 in gestational trophoblastic disease: Localization and circulating levels. Am. J. Obstet. Gynaecol. 144:396-401; 1982.
- 162.- NOZAWA, S.; IINO, K.; JENG, Ch.; KURIHARA, S.; INABA, N.; TAKAMIZAWA, H. and BOHN, H.: Placental proteins in uterine cervical epidemoid cancer. 5Th. International Congress on Placental Proteins. Annecy (France) 1984.
- 163.- PAGE FAULK, W. y McINTYRE, J. A.: Immunology of Placental antigens. En BISCHOF, P y KLOPPER, A. Proteins of the placenta. pp. 26-53. Karger-Basel, 1985.
- 164.- PALACIN FORGUE, A.: Tecnicas Inmunohistoquimicas. pp. 35-19 Ed. Atom. s. a. Barcelona-1984.

- 165.- PETRALI, J.P.; HINTON, D.M.; MORIARTY, G.C.; y STERNBERGER, L.A.: The unlabelled antibody enzyme method of immunocytochemistry. Quantitative comparison of sensitivities with and without peroxidase-antiperoxidase complex. J.Histochem.Cytochem. 22: 782-801; 1974.
- 166.- PETRUNIN, D.D.; KOZLJAEVA, G.A.; MEJNJANKINA, N.V.; SHEVCHENKO, O.P.: Detection of chorionic alfa-2 microglobulin in the endometrium in the secretory phase of the menstrual cycle and in the male sperm. Akush.Ginek. 3:22-24, 1980.
- 167.- PFLEIDERER, A.; PAESSLER, V.: Risk factors for endometrial cancer. Em: Endometrial Cancer. (M.G.BRUSH; R.J. B.KING; R.W.TAYLOR. Ed.) Bailliere Tindall. Londres, 1978.
- 168.- QUINT, B.C.: Changing Patterns in endometrial adenocarcinoma. AmJ.Obstet.Gynecol. 122: 498, 1975.
- 169.- ROSEN, S.W.; WEINTRAUB, B.D.; VAITUKAITIS, J.L.: Placental Proteins and their subunits as tumor markers. Am.J.Intern.Med. 82:71-81, 1975.
- 170.- ROSEN, S.W.; KAMINSKA, J.; CALBERT, I.S. y AARONSON, S.: Human fibroblasts produce P.S.B.G in vitro. 6th Meeting IRGCP, Marburg, Abstr.nº 147, 1978.
- 171.- ROSEN, S.W.; JAVADPOUR, N.; CALBERT, I. y KAMINSKA, J.: Increased "Pregnancy Specific" B-1 glycoprotein in certain nonseminomatous Germ.Cell Tumors. J.N.C.I. 62:1439-1441; 1979.
- 172.- ROSEN, S.W. In vitro production of SP-1 by human

fibroblasts and other nontrophoblastic human cells.  
En:GRUDZINSKAS, J.G.; TEISNER, B. y SEPPALA, M. Pregnancy Proteins. pp.223. Academic Press. Sidney. 1982.

- 173.- RUTANEN, E.M.; BOHN, H. y SEPPALA, M.: Radioimmunoassay of placental protein 12: levels in amniotic fluid, cord blood, and serum of healthy adults, pregnant women, and patients with trophoblastic disease. Am.J.Obstet.Gynecol. 144:460-463, 1982.
- 174.- RUTLEDGE, F.; BORONOW, R.C.; WHARTON, J.T.: GYNECOLOGIC ONCOLOGY, pp.134-145. Ed. JOHN WILEY AND SONS. New York, 1976.
- 175.- SACHS, H. y MAAS, H.: Zur epidemiologie des brustdrüsen karzinoms der frau. Dtsch.Med.Wschr, 96:1.701, 1971
- 176.- SALEM, H.T.; LEE, J.N.; SEPPALA, M.; VAARA, L.; AULA, P.: AL-ANI, a.T.M. y CHARD, T.: Measurement of PP-5, HPL and P.S.B.G. in mid-trimester as a predictor of outcome of pregnancy. br.J.Obstet.Gynaecol. 88: 371-374, 1981.a
- 177.- SALEM, H.T.; WESTERGAARD, J.G.; HINDERSSON, P.; SEPPALA, M. and CHARD, T.: Placental Protein 5 (PP-5) in placental abruption. Br.J.Obstet.Gynaecol. 88:500-503, 1981.
- 178.- SALEM, H.T. y CHARD, T.: Clinical studies in placental Protein 5 (PP-5). En: Pregnancy Proteins Biology, Chemistry and clinical application. En Pregnancy Protein (GRUDZINSKAS, TEISNER y SEPPALA) pp.277 Academic Press, 1982.a.
- 179.- SALEM, T.H.T. y CHARD, T.: Clinical studies on placental protein 5. En: Pregnancy Proteins. (GRUDZINS-

- KAS, TEISNER Y SEPPALA) pp.271-280. Academic Press. Sydney 1982.b.
- 180.- SAMAAN, N.A.; SMITH, J.P.; RUTLEDGE, F.N.: The significance of measurement of human placental lactogen, human chorionic gonadotrophin and carcinoembryonic antigen in patients with ovarian carcinoma. Am. J. Obstet. Gynecol. 126: 186-191, 1976.
- 181.- SARNA, G.P.: En, Principios generales de Oncologia, Medicina Interna (STEIN, J.H.) pp.1705 Ed. Salvat Barcelona. 1983.
- 182.- SCHNEIDER, M.L. y STAEMMLER, H.J.: Atlas der gynäkologischem differentialzytologie. Schattner Verlag Stuttgart. New York. 1976.
- 183.- SCHULTZ-LARSEN, P y HERTZ, J.B.: The predictive value of P.S.B.G. in the threatened abortion Europ. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol. 8:253-257, 1978.
- 184.- SCHUSTER, E. y WEPPELMANN, B.: Pregnancy specific B glucoprotein and human B chorionic gonadotrophin in choriocarcinoma and ovarian cancer. First International Congress on Hormones and cancer. Roma 1979.
- 185.- SUCHUSTER, E.: Messung von SP-s und B-HCG bei trophoblastischen und embryonalen tumoren. Tumor Diagnostik. 2:13-15, 1981.
- 186.- SCULLY, R.e.; SERON, S.F. y SOBIN, L.H.: Histological Typing of Ovarian Tumours. World Health Organization Ginebra 1973.

- 187.- SCULLY, r.E.: Tumours of the ovary and Maldeveloped Gonads. pp 243 Ed.Armed Forces Institute of Pathology.Washington,1978.
- 188.- SEARLE, F.;LEAKE, B.A.;BAGSHAW, K.D.;DENT, J.:Serum Sp-1 pregnancy specific B glycoprotein in choriocarcinoma and other neoplastic disease.Lancet. 8064, I, 579-580, 1978.
- 189.- SEIDMAN, H.:Cancer the breast.Stadistical an epidemiological data.Am.Cancer.Soc. Ed.Profesional Education Publication, 1973.
- 190.- SEIDMAN, H.;SILBERBERG, E.;HOLLEB, A.I.:Cancer statistic, CA ,26:pp.2 1976.En:Medicina Interna Stein, J.H. Ed.Salvat.Barcelona, 1983.
- 191.- SEDLACEK, H.H.;REHKOPF, R. y BOHN, H.:Immunofluorescence histological localization of human pregnancy and placenta proteins in the placenta of man and monkeys(Cyromelgus).Bering.Inst.Mitt.59:81-91, 1976
- 192.- SEPPALA, M.;PINKO, H y RVOSLAHTI, E.:Carcinoembryonic antigen and alfa feto-protein in malignant tumors of the female genital tract.Cancer, 35:1377-1381, 1975
- 193.- SEPPALA, M;RUTANEN, E.M.;HEIKINHEIMO, M.;JALANKO, H. y ENGVALL, E.:Detection of trophoblastic tumour activity by P.S.B.G. Int.J.Cancer.21:265-267, 1978.
- 194.- SEPPALA, M;WAHLSTROM y BOHN, H:Circulating levels and tissue localization of placental protein five (PP-5) in pregnancy and trophoblastic disease:Abs-

sence of PP-5 expression in the malignant trophoblast. Int. J. Cancer. 24:6-10, 1979.

- 195.- SEPPALA, M. y RUTANEN, E.M.: Pregnancy specific B glycoprotein in trophoblastic and nontrophoblastic disease. En: GRUDZINSKAS, TEISNER y SEPPALA. Pregnancy Proteins pp235-238. Academic Press. Sidney. 1982.
- 196.- SEPPALA, M.; RUTANEN, E.M.; KOISTINEN, R.; JULKUNEM, M.; KOSKIMIES, A.I y WAHLSTROM, T.: Placental Proteins in Early Events of Human Reproduction. En: BISCHOFF, KLOPPER. Proteins of the Placenta. pp.123-128. Karger 1985.
- 197.- SIITERI, J.E.; BOHN, H.; KOISTINEN, R y SEPPALA, M: Studies on the function of PP-5. En GRUDZINSKAS, TEISNER SEPPALA. Pregnancy Proteins pp.263-269 Academic Press. Sidney, 1982.
- 198.- SILVERBERG, E: Cancer Statistics. CA, 29:14. En: Principios generales de Oncologia. Medicina Interna. Stein, J.H. pp.1704. Ed. Salvat. Barcelona 1983. b
- 199.- SILVERBERG, E.: Cancer Statistics, CA, 30:23. En: Principios generales de oncologia. medicina interna. Stein J.H. pp.1706. Ed. Salvat. Barcelona, 1983. c
- 200.- SINOSICH, M; TEISNER, B.; FOLKERSEN, J; SAUNDERS, D.; y GRUDZINSKAS, J.: Radioimmunoassay for PAPP-A. clin. Chem 28:50-53 , 1982.
- 201.- SINOSICH, M. J.; PORTER, R.; SLOSS, P.; BONIFACIO, M. D.; SAUNDERS, D. M.: PAPP-A in human ovarian follicular fluid. J. Clin. Endocr. Metab. 58:500-504, 1984.

- 202.- SKINNER, J.M. y WHITEHEAD, R.: Pregnancy specific B glycoprotein in tumours of the human gastrointestinal tract. Br.J.Cancer.44:476-479, 1981.
- 203.- SMITH, R.; BISCHOF, P.; HUGHES, G. y KLOPPER, A.: Studies on pregnancy-associated plasma protein A in the third trimester of pregnancy. Br.J.Obstet.Gynecol. 86:882-887, 1979.
- 204.- SMOLKA, H.Y.; SOOST, H.J.: Grundi beta und atlas der gynäkologischen zytodiagnostik georg.pp.136. Thieme Verlag ed. Stuttgart. 1971.
- 205.- SPIEGEL, M.R.: Estadística ed. Mc Graw-Hill, 1979.
- 206.- STEGNER, M.; SACHS, H.: Gynäkologische zytologie . Ferdinand Enke Verlag ed. Stuttgart. 1973.
- 207.- STERNBERGER, L.A.; HARDY, D.H.; CUCULIS, J.J. y MEYER, H. G.: The unlabeled antibody-enzyme methods of immunohistochemistry. Preparation and properties of soluble antigen-antibody complex (Horseradish Peroxidase Anti-Horseradish peroxidase) and its use in identification of spirochetes. J.Histochem.Cytochem. 18:315-333. 1970.
- 208.- STEVENS, G.M.; WEIGEN, J.F.: Mammography screening for breast cancer detection. Cancer. 19:51, 1966
- 209.- STIMSON, W.H.: Correlation of the blood level of pregnancy associated alfa-macroglobulin with the clinical course of the cancer patients. Lancet. I: 777-779, 1975.
- 210.- STIMSON, W.H y FARQUARSON, D.M.: Pregnancy associated

B macroglobulin (B-PAM): a new serum protein associated with pregnancy serum derived immune complexes and ovarian cancer. J.Clin.Lab.Immunol. 6 : 141-145 ,1981

- 211.- STIMSON, W.H.; FARQUHARSON, D.M.: Pregnancy-associated B and alpha-2-macroglobulins two new serum proteins. In. GRUDZINSKAS, TEISNER, SEPPALA. Pregnancy Proteins pp.381-390 Academic press. Sidney. 1982.
- 212.- STONE, M; BAGSHAW, K.D.; KARDANA, A.: B-HCG and CEA in the management of ovarian carcinoma. Br.J.Obstet. Gynaecol. 84:375-378, 1977.
- 213.- SURWIT, E.A.; HAMMOND, Ch.B.: Gestational trophoblastic neoplasia. In: Year Book of Obstetrics and Gynecology (R.M. PITKIN; F. J. ZLATNIC. Ed.) pp.275-393. Year Book Medical Ed. Chicago. 1980.
- 214.- TATARINOV, Y.S.; FALALEEVA, D.M. y KALASHNIKOV, V.V.: Human P.S.B-G- and its relation to chorioepithelioma. Int.J.Cancer. 17:626-632, 1976.
- 215.- TATARINOV, Y.S.; FALALEEVA, D.M.; KALASHNIKOV, V.V. y TOLOKNOV, B.O.: Immunofluorescent localization of human pregnancy specific B globulin in placenta and chorioepithelioma. Nature. 260-263, 1976.
- 216.- TATARINOV, Y.S. y SOKOLOV, A.V.: Development of a radioimmunoassay for P.S.B.G. and its measurement in serum of patients with trophoblastic and non-trophoblastic tumours. Int.J.Cancer. 19:161-166, 1977.
- 217.- TATARINOV, Y.S.: A new placental protein test for the presence and identification of trophoblastic

- tumors. Antibiotics. Chemother. 22:125-131, 1978.
- 218.- TATARINOV, Y.S.: Trophoblast specific B glycoprotein as a marker for pregnancy and malignancies. Gynecol. Obstet. Invest. 9:65-97; 1978.
- 219.- TATARINOV, Y.S.: Trophoblast specific B glycoprotein and its clinical application in tumors. En: Carcinoembryonic proteins. Vol I Ed. F.G. LEHMANN. ELSEVIER/NORTH HOLLAND BIOMEDICAL PRESS. pp. 313-319. 1979.
- 220.- TATRA, G. TEMPFER, H. y PLACHETTA, P.: Influence of blood glucose levels on serum concentrations of P.S.B.G. (SP-1) and HPL during the last trimester of pregnancy. Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol. 6 : 53-58 , 1976.
- 221.- TATRA, G.: Clinical aspects of P.S.B.G.. En: Placental Proteins. pp. 135 Springer Verlag ed. Sidney, 1979.
- 222.- TESISNER, B; WESTERGAARD, J.G.; FOLKERSEN, J.; HUSBY, S. y SVEHAG, S.E.: Two pregnancy -associated serum proteins with pregnancy specific B glycoprotein determinants. Am. J. Obstet. Gynecol. 131:262-266. 1978
- 223.- TIITINEN, A; LAATIKAINEN, T.; RUTANEN, E.M.; RANTA, T.; KOISTINEN, R.; BOHN, H y SEPPALA, H: Placental protein 10 (PP-10) in normal pregnancy and cholestrans of pregnancy. Br. J. Obstet. Gynaecol. 92:1137-1140; 1985
- 224.- TORNEHAVE, D.; CHEMNITZ, J.; TEISNER, B; FOLKERSEN, J. y WESTERGAARD, J.G.: Immunohistochemical demonstration of PAPP-A in the syncytiotrophoblast of the normal placenta at different gestational ages. Placenta. 5:427-432; 1984.

- 225.- TOWLER, C.M.; HORNE, C.H.W.; JANDIAL, V.: Plasma levels of P.S.B.G. in normal pregnancy Br.J.Obstet.Gynaec. 83:775-779, 1976.
- 226.- TRANIER, D.: Cancer de l'endometre. Evaluation des hauts risques. Europ.J.Oncologic. 8, 1979.
- 227.- TSAKOK, F.H.M.; KOH, S.; CHUA, S.E. RATNAM, S.S.; TEISNER, B JONES, G.R.D.; SINOSICH, M; GRUDZINSKAS, J.G.: Prognostic significance of the new placental proteins in trophoblastic disease. B.J.Obstet.Gynaecol. 90:483-486, 1983.
- 228.- Union International Contre le Cancer: TNM. Clasification of malignant tumours .2em.Ed UICC. Ginebra 1974.
- 229.- VAITUKAITIS, J.L.: HCG in trophoblastic and nontrophoblastic disease. E.: Pregnancy Proteins. Biology, Chemistry and clinical Application. (GRUDZINSKAS, TEISNER y SEPPALA) Ed Academic Press. pp.87, 1982.
- 230.- VAN DUIJN, P.: Histochemistry of dopa factors III inactivation experiments on the dopa factors in the neutrophils and eosinophilic leucocytes and erythrocytes. Acta. Physiol. Pharmacol. Neerl. 5:428, 1957
- 231.- VAN NAGELL, J.R.; DONALDSON, E.S.; HANSON, M.B.; GAY, E, C. PAULIK, E.J.: Biochemical markers in the plasma and tumors of patients with gynecologic malignancies Cancer. 48:495, 1981.
- 232.- VON SCHOULTZ, B y STIGBRAND, T: Pregnancy Zone Protein Chemistry, Biology and clinical Studies .En: Pregnancy Protein (GRUDZINSKAS, TEISNER Y SEPPALA) pp 168 Acade-

- mic Pres Ed. Sidney.1982.
- 233.- WAALKES, T. Ph. PTORMEY, D. C.: Biologic markers and breast cancer. Semin. Oncol. 5:434, 1978.
- 234.- WAHLSTROM, T. TEISNER, B. y FOLKERSEN, J.: Tissue localization of PAPP-A in normal placenta. Placenta. 2:259-264, 1981.
- 235.- WAHLSTROM, T.; BOHN, H. y SEPPALA, M.: Immunohistochemical studies on pregnancy proteins. En: (GRUDZINSKAS, TEISNER y SEPPALA) Placental Proteins. pp. 415 Ed Academic Press. Sydney, 1982. a
- 236.- WAHLSTROM, T.; BOHN, H. y SEPPALA) Pregnancy Proteins pp. 415-422. Ed Academic Press, 1982. b
- 237.- WAHREN, B.; LIDBRINK, E; WALLGREN, A.; ENEROTH, P; ZAJICEK J.: Carcinoembryonic antigen and other tumor markers in tissue and serum or plasma of patients with primary mamary carcinoma. Cancer. 42:1870, 1978.
- 238.- WATERHOUSE, J.; MUIR, C; CORREA, P; POWELL, J.: Cancer incidence in five continents. Who IARC. Scientific Publication. n°15 pp. 67 Lyon France 1976.
- 239.- WALTERS, D.; ROBINSON, D; PARK, R. C.; PATON, W. E.: Diagnostic outpatient aspiration curettage. Obstet Gynecol. 46, 160, 1975.
- 240.- WEI, P. y DUYANG, P. Ch.: Trophoblastic disease in Taiwan: A Review of 157 cases in a 10 year period. AnJ. Obstet. Gynecol. 85:844, 1963.
- 241.- WESTERGAAR, J. G.; TEISNER, B.; FOLKERSEN, J.; HINDERSON

- p. y SCHULTZ-LARSEN, P.: Characterization of two pregnancy associated serum protein with PSBG determinants-ScandJ.Clin.Lab.Invest. 39.351-359, 1979.
- 242.- WHO SCIENTIFIC GROUP: Neoplasia of the breast, and steroid concentration and the risk neoplasia WHO Technical Report Series. n° 619 pp.12-22 Ginebra 1979
- 243.- WOLF, J.N.: Xeroradiography of the breast: a comparative cancer detection. Cancer. 28:1.569, 1971.
- 244.- WURZ, H.: Serum concentrations of SP-1 in healthy, non-pregnant individuals and in patients with nontrophoblastic malignant neoplasms. Arch.Gynecol. 227: 1-6 1979.a
- 245.- WURZ, H.; GEIRGER, W.; GRAH, H y HOFFMANN, M.: Simultaneous assays of SP-1 (PSBG), SP-3 (alfa-2-PAG), CEA, AFP and B-HCG in the serum of patients with breast cancer and other nontrophoblastic malignancies. En: LECHMANN. Carcinoembryonic Proteins. Vol II pp.487-490. Elsevier/North-Holland, Biomedical Press. 1979.a
- 246.- WURZ, H.; LUBEN, G y BOHN, H.: Serum levels of placental proteins 10 (PP-10) in women with breast cancer and genital carcinoma and in healthy male and female subjects. Arch.Gynaek. 233:267-274, 1983.
- 247.- YANG CHOU, J.; ROSEN, S.W. y MAND, T.: Production of P.S.B.G. by cultivated placental cells. J.Clin.Endocrinol Metab. 53:239-245, 1981.