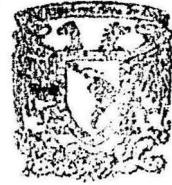


2 Ej. No 43



# Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Química



EXAMENES PROFESIONALES  
FAC. DE QUÍMICA

## FOSFATASA ACIDA PARA AYUDA EN EL DIAGNOSTICO CLINICO DE CARCINOMA PROSTATICO.

### TRABAJO MONOGRAFICO

Que para obtener el título de:  
QUIMICO FARMACEUTICO BILOGO

Presenta:  
ARACELI GUZMAN ARCINIEGA



México, D. F.

1984



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

C O N T E N I D O :

- 1.- I N T R O D U C C I O N
  - a) Generalidades
  - b) Antecedentes
- 2.- E T I O L O G I A
- 3.- M E T O D O L O G I A
- 4.- P A T O L O G I A
- 5.- D I A G N O S T I C O
- 6.- D I A G N O S T I C O Y T R A T A M I E N T O
- 7.- T E R A P E U T I C A
- 8.- C O N C L U S I O N E S
- 9.- D I S C U S I O N
- 10.- B I B L I O G R A F I A

# C A P I T U L O I . - I N T R O D U C C I O N

## I N T R O D U C C I O N

Dentro de las enfermedades neoplásicas conocidas reviste importancia, especialmente para los varones alrededor de la sexta década de la vida el cáncer de próstata (CP).

La FA fue el primer "marcador de tumor" que se midió en sangre de pacientes con cáncer prostático; aproximadamente desde hace 40 años. Esta familia enzimática se ha encontrado elevada también en otras enfermedades de tipo neoplásico, sin embargo, hasta la fecha, la cuantificación de la fracción prostática sigue siendo de utilidad en esta patología, como medio de laboratorio para confirmar el diagnóstico.

Como el tema es importante desde el punto de vista del Laboratorio Clínico, el objetivo del presente trabajo bibliográfico pretende revisar las publicaciones de la literatura científica al alcance que cubren los últimos 5 años.

Con el propósito de resumir en un solo volumen, los datos principales conocidos hasta la fecha y que sirvan de apoyo para aquellas personas interesadas en el tema y el ejercicio del Laboratorio Clínico

Al adenocarcinoma de próstata se le ha atribuido una de cada 9 muertes de cáncer en estudios realizados en Canadá. En el Sistema Urológico Americano se recomienda una clasificación del CP por grados, debido a su capacidad para reflejar cambios en el comportamiento biológico de este neo-

plasma y sugiere la adopción de un esquema de clasificación cuantitativo; describe las rutas de dispersión de esta enfermedad, así como los procedi--mientos usados para evaluar metástasis. (1). Romas N.A. Rose NR y Tannenbaum M de su experiencia concluyen que los métodos inmunológicos para el análisis de la FAP han demostrado ser superiores a los-enzimáticos usados previamente, y discute el papel de las nuevas técnicas. Enfatiza la radioterapia y la terapia endocrinológica para el tratamiento de-este neoplasma. (2)

# CAPITULO I. - INTRODUCCION

## A) GENERALIDADES

## GENERALIDADES

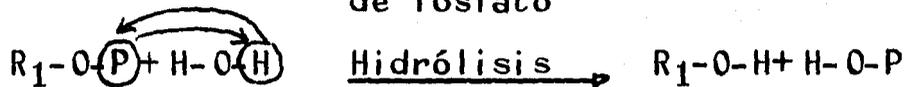
Las FOSFATASAS clínicamente importantes forman un grupo de enzimas de baja especificidad, que se caracterizan por su capacidad para hidrolizar ésteres fosfatos inorgánicos muy diversos, con formación de un alcohol y un ión fosfato. Este grupo se compone de las enzimas que sólo atacan monoésteres de ácido ortofosfórico.

Las FOSFATASAS no son una sola enzima sino un grupo de isoenzimas.

Clínicamente ha resultado práctico reconocer 3 tipos: Fosfatasa alcalina (de suero, hígado, huesos e intestino), con actividad óptima a pH aproximadamente de 9.8; Fosfatasa ácida (de suero, próstata e hígado) con actividad óptima a pH 4.9-5.0, y Fosfatasa de eritrocitos, con actividad óptima a pH 5.5-6.0

La función conocida de las fosfatasas es la transferencia del grupo fosfato de un substrato donador a un compuesto aceptor que contiene un grupo (-OH).

Si el aceptor es agua, (HOH), el efecto neto-observado es hidrólisis. Esquemáticamente, las reacciones son:



Ester/fosfato/donador	R-OH	R-OH	Aceptor
	aceptor	donador	de fosfato

Bajo el nombre de fosfatasa ácida están comprendidas todas las fosfatasas con actividad óptima a pH por debajo de 7.0, luego se trata de una familia de isoenzimas. Las mayores concentraciones se encuentran en hígado, bazo, leche, eritrocitos, plaquetas y glándula prostática. Esta glándula, es la fuente más rica y contribuye con el tercio o la mitad de la enzima en el suero de individuos varones normales. El resto de la fosfatasa ácida en el suero proviene de plaquetas, eritrocitos desintegrados y del hígado.

El pH óptimo para la actividad de fosfatasas ácidas varía según el tejido de que se obtienen.

La enzima prostática, tiene un pH óptimo bien definido a 4.8-5.1, el cual varía según el substrato sobre el que actúa la enzima; cuanto más ácido es el substrato, tanto más bajo es el pH al cual se obtiene máxima actividad.

Las fosfatasas ácidas son inestables, en especial a temperaturas superiores a 37°C y a niveles de pH por arriba de 7.0

La acidificación de la muestra de suero a un pH por debajo de 6.5 ayuda a estabilizar la enzima. Esto puede efectuarse cómodamente por adición de - 10 mg de citrato disódico por cada ml de suero.

Los iones de fluoruro y de oxalato inhiben la actividad de la enzima y por ello no es conveniente usarlos como anticoagulantes.

La enzima prostática se inhibe fuertemente - por iones de tartrato, mientras que la enzima de - eritrocitos se inhibe por formaldehído o por la -

presencia de iones cúpricos. El procedimiento más común para distinguir entre actividad prostática y actividad no específica es efectuar el análisis en presencia y en ausencia del ión tartrato. Babson - ha presentado pruebas de que el beta-glicerofosfato o el fosfato de alfa-naftilo son más sensibles a la acción de la enzima prostática, que otros - - substratos, como el fosfato de fenilo y el fosfato de p-nitrofenilo. (3)

En pacientes con CP se ha observado desde hace cerca de 40 años una elevación del nivel de FA-sérica. Sin embargo, también se ha observado elevación de estas enzimas en otras enfermedades, así - como aumento de fosfatasas de otros tejidos.

Numerosas técnicas se han empleado para cuantificar la actividad enzimática de la FA. Las colorimétricas no han sido suficientemente útiles para detectar el origen del tejido de esta enzima ubicua. El conocimiento de que la FA prostática es antigénicamente distinta de la FA de otros tejidos, - abrió un nuevo horizonte en la medida de la enzima en cuestión en el CP.

Estudios similares han sido realizados por varios autores y sus resultados concuerdan. (4)

En base a esta especificidad inmunoquímica, - varios inmunoensayos se han empleado para determinar el nivel de FA prostática. (2)

En estudios electroforéticos y cromatográficos, realizados por Foti y cols. en 1977 en tejido humano normal y canceroso prostático, encontraron 2 bandas mayores con diferencias cuantitativas entre ambos tejidos. (5)

En la separación de columna cromatográfica o enfoque isoeléctrico separaron 5 fracciones con diferentes movilidades, pero entre estas subfracciones no hubo diferencias de la banda electroforética de movimiento rápido en tejidos normales y cancerosos. Estudios posteriores realizados por Fisher y cols. en 1980 confirmaron lo anterior. (2)

Existen diferencias cuantitativas, pero no cualitativas en isoenzimas de FAP, en próstatas normales, en comparación con próstatas cancerosas. (5), (6), (7).

En el mismo año, Mercer D.M. describió una técnica simple de intercambio iónico en cromatografía de columna, para separar las isoenzimas de la FA en suero y tejidos humanos.

Los extractos de plaquetas, bazo, hígado, eritrocitos y próstata se usaron para determinar condiciones óptimas, en la separación de las isoenzimas.

Se utilizaron minicolumnas de DEAE-Sephadex A-50, se eluyó con cloruro de sodio amortiguado con tris (hidroximetil amino metano), etc. Se ensayó el contenido de isoenzimas, por electroforesis en gel de poliacrilamida, y se encontró en el tejido prostático una fuente rica de isoenzimas de FA.

Además estudiaron sueros de 6 pacientes con CP, los que revelaron patrones isoenzimáticos con una cantidad prominente de 2 isoenzimas (3.8 a 27.6 U/l).

Sueros de mujeres sanas y de pacientes con enfermedad de Gaucher y cáncer de pulmón, que presentaron valores por debajo de 2 U/l de 2 isoenzimas.

El autor concluyó, que la cuantificación de la isoenzima prostática por columna de cromatografía de DEAE-Sephadex parece proveer una aproximación sensible y específica al diagnóstico de cáncer de próstata. (8)

Guha y cols. en 1980 separaron 4 isoenzimas de la FA sobre gel de filtración con sepharosa 6B y subsecuente cromatografía con DE-52 celulosa de un homogeneizado humano.

En el sustrato preferencial, las enzimas difirieron una de otra en los valores de  $K_m$ , las características modificadoras y los pesos moleculares. La prueba obtenida confirma que también en el testículo humano está presente la FA de formas moleculares múltiples. Algunas de éstas pueden ser específicas para el tejido testicular. (9)

Otros autores como (10) han encontrado hasta 8 isoenzimas de FA en pacientes con hipertrofia benigna y maligna sin encontrar diferencias cualitativas, pero sí cuantitativas en casos malignos. Estos autores además investigaron la actividad de ribonucleasa sérica (RNAsa) en pacientes con CP, en los que la actividad de esta enzima fue significativamente elevada. Sin embargo, no observaron correlación significativa entre la FA sérica y la actividad de la RNAsa.

También se han realizado estudios inmunológicos de la FAP, tales como la inmunodifusión, la CIEF, el RIE y la técnica de inmunofluorescencia, con objeto de investigar las células que sintetizan esta enzima en biopsia de tejido metastásico de CP. (11), (12).

La técnica de la inmunoperoxidasa no marcada y de Ac para la FAP humana se usó para estudiar una variedad de tejidos normales y neoplásicos. La técnica se encontró que era una ayuda útil en el diagnóstico diferencial del CP contra el carcinoma celular transicional de la vejiga y el adenocarcinoma rectal, pero no fue completamente específico, como adenocarcinoma, ni como reacción cruzada con los tumores carcinoides rectales. Este estudio enfatiza la importancia de las pruebas de control de estos Ac por laboratorios de patología usando técnicas de inmunoperoxidasa para asegurar un diagnóstico patológico quirúrgico. (13)

Se sabe que la lisis de la sangre total y de las células de médula pueden liberar la FA no específica dentro del suero.

Como los ensayos enzimáticos estándar no discriminan la FAP de la FA no prostática presente en el suero, los resultados no son muy confiables. El RIE parece prometedor para medir específicamente la FAP de médula ósea en suero.

Little y colaboradores en 1978 hicieron una evaluación de la actividad de FA en médula ósea en personas con CP y en pacientes con otras enfermedades benignas o malignas y encontraron (14) que varios trabajos recientes han sugerido que la determinación de la concentración de FA en la médula ósea es una manera confiable de clasificar por estadíos el CP, además de que es una manera de pronosticarlo.

Esta determinación no se ha practicado ampliamente en personas con enfermedades diferentes del CP.

Evaluaron la concentración de FA en la médula ósea de personas con CP y en otras enfermedades benignas o malignas, para determinar el valor normal y para evaluar el significado diagnóstico de su elevación.

Se ha utilizado también en la investigación de la FA el RIE, previa purificación electroforética del fluido seminal y caracterización por su peso molecular y composición de aminoácidos. Mahan y col. en 1979 informa que con este procedimiento, la FAP se elevó en el 94% de los pacientes con CP. (15)

Brenckman WD Jr. en 1981 encontró fluctuaciones de FA impredecibles que varían del 44 al 97% - en un lapso de 24 a 48 hrs; esto plantea la necesidad de estudiar longitudinalmente a los pacientes y establecer un ritmo de periodicidad y horario en las tomas de muestra. (16)

Sin embargo, Bruce y colaboradores en 1983 encontraron niveles altos en enfermedad benigna en 3 pacientes. (17)

En el CP se han observado también alteraciones en las proteínas séricas, pensando en un mecanismo inmune Milleman y col. (18) en 1980 encontraron poca evidencia en esta relación al utilizar un marcador de tumor y la criocirugía.

Ahluwalia y colaboradores en 1981 realizaron perfiles sanguíneos hormonales en CP y encontraron que la incidencia del C de la glándula prostática es más frecuente en la población negra que en la blanca en los Estados Unidos y varias veces superior a la encontrada entre nigerianos. Con el estu

dio de los niveles de: testosterona, dihidrotestosterona, estrona, estradiol y prolactina, la FA total y la FA prostática, en grupos de Estados Unidos, se encontraron niveles significativamente más altos que en sus controles. En los nigerianos Testosterona (T), pero no los niveles de Estrona (E<sub>1</sub>) fueron significativamente menores ( $p > 0.05$ ) en pacientes comparados con controles. DHT Dihidrotestosterona, E<sub>2</sub> Estradiol y P Prolactina no fueron significativamente diferentes en pacientes y controles entre las poblaciones y dentro de las poblaciones.

Los pacientes nigerianos tuvieron niveles más altos ( $p < 0.001$ ) de TP Fosfatasa Acida Total y PAP-Fosfatasa Acida prostática comparados con los pacientes de Estados Unidos. Se concluye que las diferencias en perfiles hormonales sanguíneos en los 2 grupos de población están basadas en factores diferentes de los caracteres genéticos de las poblaciones.

Como tratamiento se han usado estrógenos durante largo tiempo (1 año o más) observando marcada reducción de la hipertrofia prostática de los pacientes tratados. GUHA y col. en 1980 (19) sugieren que existe una correlación entre la destrucción de células germinales como una consecuencia del tratamiento con estrógenos y la reducción marcada en la actividad de las enzimas 3 y 4 (19).

A pesar de todo lo ya mencionado, Helms y col. en 1977 afirman que ninguno de los sustratos o inhibidores que ellos estudiaron permitió discriminar la FA prostática de las actividades de la FA obtenidas de otros tipos de células. (20)

En la literatura se incluyen estudios de asociaciones de virus tipo herpes, con varios tejidos uro-genitales y son los mejor documentados. Se sugiere que un obstáculo fundamental para estudios biológicos más sofisticados lo constituyen la falta de cultivos celulares de larga duración, de epitelio prostático normal y patológico de hombres de todas las edades, según Zelgel y colaboradores en 1977. (21)

Hay poca información acerca de los cromosomas de las células de CP.

El análisis cariológico de las líneas de células del CP primario y metastásico se ha llevado a cabo con técnicas secuenciales de diferentes líneas, según lo demostraron Ohnuki y col. en 1980 - en estudios realizados en ratones.

Los patrones cariológicos de las líneas PC-3, PC-3/M y PC-5-P1, así como los cromosomas marcadores claramente distinguen estas líneas de otras líneas de cáncer, incluyendo HeLa. Esto es importante, ya que la autenticidad de otras líneas celulares prostáticas ha sido discutida. Estas líneas celulares proveerán un modelo útil para la investigación de cambios genéticos de CP, así como diferencias entre la forma primaria y la forma metastásica de la enfermedad. (22)

Jacobs y colaboradores (23) estudiaron el factor mitogénico (que originó la mitosis) en los extractos de próstata humana y apunta que el factor de estimulación de crecimiento es sensible a la tripsina y al calor, indicando que el factor es una proteína, o que la contiene. La actividad esti

mulante de crecimiento no está relacionada con la concentración de poliamina prostática. Los experimentos también muestran que la actividad no es debida a la FAP humana. Un factor de crecimiento - - prostático puede explicar el crecimiento de nódulos fibrosos en hiperplasia prostática benigna y - en la respuesta osteoblástica de hueso al CP.

Se examinó el caso de sustancias naturales o con propiedades antigénicas similares a aquellos - de la FAP en un paciente con leucemia neutrofílica y una actividad aumentada de FAP sérica. La -- fracción responsable para la actividad enzimática sérica aumentada fue la sensibilidad del tartrato, se identificó como isoenzima 2 por electroforesis de gel de poliacrilamida. Esta isoenzima originada de los leucocitos, pero que tuvo electromovilidad similar a la de la isoenzima 2 de la FAP. Los estudios inmunohistoquímicos de CIEF indican que - esta isoenzima leucocítica estuvo presente en los neutrófilos y compartió propiedades antigénicas - con la isoenzima 2 prostática.

Los leucocitos de 1 paciente con leucemia granulocítica aguda, 2 pacientes con policitemia vera con neutrofilia y 5 sujetos normales también contienen esta FAP parecida a la isoenzima. Una actividad elevada sérica de FAP puede encontrarse no sólo en CP, sino también en leucemia granulocítica - y quizás en otras enfermedades, según Yam y col. - en 1984. (24)

Pretlow en 1978 dijo que la "FAP" es un término que se ha usado amplia y ambiguamente para referirse a la FA, la cual:

1) se eleva en sueros de pacientes con varias en--

fermedades de la próstata

- 2) se inhibe por 1 ó más inhibidores específicos
- 3) ataca uno o más sustratos específicos
- 4) tiene ciertas propiedades antigénicas únicas
- 5) se extrae de homogeneizados de próstata y
- 6) se obtiene de secreciones de próstata, etc.

La mayoría de los datos aducidos para justificar este término no son adecuados. Nosotros hemos purificado tipos específicos de células de próstata y otros tejidos. Estas células purificadas han servido como fuentes de enzimas que se sabe derivan de tipos particulares de células. Nosotros estudiamos varios sustratos y un inhibidor que se piensa han sido útiles para la medida de la FAP. -  
(25)

## CAPITULO I. - INTRODUCCION

### b) ANTECEDENTES

A CONTINUACION SE PRESENTAN LOS ARTICULOS REVISADOS EN LA LITERATURA QUE SE REFIEREN A LOS ANTECEDENTES DEL CANCER PROSTATICO.

## A N T E C E D E N T E S.

### EYACULACION RECTAL Y CARCINOMA PROSTATICO.-

Se presenta aquí un caso de carcinoma de próstatata que causaba una comunicación fistulosa entre el recto y los conductos de la próstatata.

Los síntomas iniciales del paciente incluían una incapacidad gradual para eyacular y una eyaculación por el recto. Estudios urológicos apropiados demostraron una conexión fistulosa entre el -- área del conducto eyaculador y el recto.

Los estudios microscópicos del recto confirmaron que el semen estaba saliendo por él.

En la autopsia de un paciente que presentó -- signos y síntomas atribuibles a carcinomatosis meningeal se encontró que tenía CP con metástasis. -- Microscópicamente los carcinomas primario y metastásico exhibieron producción de moco. Sólo 3 casos de carcinomatosis de meninges que se debían a CP -- se citan en la literatura. Ninguno de los cuales -- está adecuadamente documentado (26).

### CARCINOMA DE LA PROSTATA EN LA INFANCIA Y EN LA -- ADOLESCENCIA:

#### REPORTE DE UN CASO Y REVISION DE LA LITERATURA.-

Este estudio trata de un caso de CP en un niño de 11 años. Los hallazgos clínicos se caracterizaron por una masa en la región prostática, la metástasis de médula osteoblástica, y la FA normal --

de suero. La autopsia demostró un tumor no diferenciado, el cual probablemente se originó en la parte externa de la glándula de la próstata. La metástasis de los huesos, hígado, pulmones y nódulos -- linfáticos estuvieron presentes. Los estudios con microscopio electrónico y de luz revelaron células neoplásicas no diferenciadas, las cuales están en contraste con el adenocarcinoma usual en individuos más grandes de edad. El examen histoquímico -- falló en la demostración de la actividad de la FA en tumores celulares. Los autores consideraron que este tumor probablemente se originó de células inmaduras basales de la glándula prostática. Una revisión de la literatura dio 15 casos de CP en individuos menores de 21 años de edad. Estos casos fueron también caracterizados por una apariencia no diferenciada de células tumorales y por un nivel normal de FA sérica (27).

## ¿SON LOS NIVELES DE FA SERICA DE SIGNIFICADO DIAGNOSTICO EN CP?

El nivel anormal sérico de la FA prostática - ocasiona una alteración celular, pero sin una especificidad propia que permita certificar que está relacionada con afección prostática. Podría esperarse que durante los próximos años, gracias a los métodos inmunológicos y electroforéticos, se puedan detectar las enzimas específicas séricas emitidas por un tejido, en un estado fisiopatológico de finido. (28)

## RADIACION TERAPEUTICA EN EL MANEJO DE CARCINOMA LOCALIZADO DE LA PROSTATA:

### UN INFORME PRELIMINAR.

Desde 1970, un total de 107 pacientes han sido tratados radicalmente con terapia de radiación de CP. El control local con esta forma de tratamiento es aproximadamente del 90%. La supervivencia estadística durante 5 años es de 74%, y la supervivencia libre de enfermedad, del 58%.

La morbilidad ha sido mínima, la supervivencia está relacionada con el grado de avance de la enfermedad y la histología del tumor, pero no está influenciada por elevación de la FA.

La radiación radical terapéutica es un método efectivo de control local para CP y es potencialmente curativo. (29)

## DIRECCIONES DEL PRESENTE Y EL FUTURO EN AREAS SE-- LECCIONADAS DE ENZIMOLOGIA CLINICA

Pruebas enzimáticas desarrolladas recientemente que se utilizan:

- A) Para identificar poblaciones de alto riesgo
- B) Para diagnosticar neoplasias
- C) Para el seguimiento de la respuesta al tratamiento del paciente con neoplasia prostática.
- D) Se describen para la selección de la terapia:

El papel del diagnóstico de adenosiltransferasa de metionina y las medidas de la actividad de la monoamina oxidasa CSF en el diagnóstico de esquizofrenia se discuten; el papel del n-acetiltransferasa en la conversión de la sustancia a la melatonina en la glándula pineal y la importancia de estos cambios para la sincronización del funcionamiento de las células a través del organismo. Se hace un resumen de los nuevos métodos para la determinación de tripsina inmunorreactiva en el diagnóstico temprano de enfermedades pancreáticas. (30)

## UN PUNTO DE VISTA DE LA FILOSOFIA DEL PASADO Y EL-- PRESENTE DEL CANCER DE PROSTATA

El CP ocupa el segundo lugar de incidencia - más común en los varones.

Huggins y Hodges en sus estudios sobre individuos castrados no observaron cambios significativos en la supervivencia de estos pacientes. Muchas incógnitas acerca de la enfermedad permanece sin respuesta.

La causa del CP es desconocida, sin embargo - algunos agentes virales específicos se han relacionado con este padecimiento. El reconocimiento por medio del examen digital rectal ha sido útil en la detección de tumores para su diagnóstico en estadios tempranos. Los adelantes en sonografía sugieren su utilidad en la detección de CP con metástasis. Se han hecho recientes avances en la sensibilidad de los ensayos de la FAP y se usan como herramienta de discriminación que todavía permanece limitada.

En pacientes con lesiones en el estadio B clínico que son microscópicamente confinados a la próstata, el tratamiento por prostatectomía radical parece conferir una supervivencia mayor. El papel exacto de la radioterapia parece estar definido; sin embargo, cuando el tumor se extiende más allá de la próstata y se localiza en la pelvis, la radiación intersticial externa es apropiada. La linfadenectomía pélvica de nódulos es menos apropiada y no ha mostrado que tenga efectos terapéuticos.

Para que la terapia hormonal mejore la supervivencia de los pacientes, los esfuerzos deben continuarse para desarrollar medios de respuesta hormonal predictiva; aquellos pacientes que improbablemente responden a la terapia hormonal, deberían ser tratados con quimioterapia temprana. (31)

## FOSFATASA ACIDA DESPUES DEL EXAMEN DE LA PROSTATA

Informamos el efecto del examen rectal de la próstata y la resección transuretral de la prósta-

ta (TURP) en el nivel sérico de la FA de tartrato-lábil (TLAP) en 18 casos normales, 31 con ensanchamiento benigno de la próstata y 20 con carcinoma.- El examen rectal no tuvo efecto en TLAP en pacientes normales, en aquellos con ensanchamiento benigno y en aquellos con carcinoma, ni a los 5 minutos, ni a la mañana siguiente. La resección transuretral de la próstata (TURP) para las enfermedades benignas y malignas elevaron en TLAP con un rápido regreso a lo normal. No hay justificación para aplazar una estimación de nivel sérico de la FA de tartrato lábil (TLAP) después de un examen rectal. (32)

#### VALOR DIAGNOSTICO DE LA FA DE MEDULA OSEA EN CARCINOMA PROSTATICO.

La FA total y 1-tartrato se estudiaron en 25-pacientes con CP. En este estudio los resultados se compararon con los de un grupo control. Los niveles de FA sérica en los grupos control y en pacientes con CP fueron menores que los niveles de FA de médula ósea. Esto puede ser debido a la FA liberada de las células sanguíneas durante la hemólisis. Se encontró una correlación positiva entre los niveles de FA sérica y de médula ósea en pacientes con CP. Hubo una elevación significativa en los niveles de FA de médula ósea (superior al valor normal del grupo control) en pacientes con CP de los estadios III y IV en niveles séricos aumentados significativamente. Los niveles de FA de médula ósea se utilizaron como un método de diagnóstico suplementario en la detección de CP. Se tiene la hipótesis de que niveles elevados de FA -

de médula ósea indican un diagnóstico de metástasis temprano de CP. (33)

#### ADENOCARCINOMA PROSTATICO HUMANO: ALGUNAS CARACTERISTICAS DE UNA LINEA SERIAMENTE TRANSPLANTABLE EN RATON DESNUDO (PC 82)

El transplante de tejido de un carcinoma prostático humano cribiforme a ratón, dio como resultado una línea de tumor transplantable en serie en un ratón desnudo, PC82. Durante 2 1/2 años el tumor no ha cambiado su apariencia histológica y permaneció como un adenocarcinoma moderadamente diferenciado. Las células contienen grandes cantidades de FAP. Tiene una baja velocidad de crecimiento - después de la castración y del tratamiento con estrógenos. Esta información preliminar sugiere que la línea de tumor PC82 puede ser un modelo adecuado para investigar CP humano dependiente de hormonas. (34)

## CAPITULO II.- ETIOLOGIA

A CONTINUACION SE PRESENTAN LOS ARTICULOS REVISADOS EN LA LITERATURA QUE SE REFIEREN A LA ETIOLOGIA DEL CANCER PROSTATICO

## ORIGEN PROSTATICO DE TUMORES. UN ESTUDIO INMUNOHIS TOQUIMICO.

Una técnica de inmunoperoxidasa se usó para localizar FAP en una variedad de neoplasmas primario y metastásico. El objeto era explorar la histogénesis de tumores que afectan la glándula prostática y demostrar el origen prostático de metástasis en varios sitios.

Un anti-suero altamente específico para FAP se fabricó en conejos. El procedimiento de la peroxidasa-antiperoxidasa se llevó a cabo en material de patología de rutina fijada con formalina y parafina. Todas las muestras de los 37 casos de CP primarios y metastásicos se tiñeron positivamente para FAP, sin hacer caso de su diferenciación histológica. Los datos sugieren que la demostración de la FAP por la técnica de inmunoperoxidasa es una prueba específica, práctica, sensible para el origen prostático de un neoplasma metastásico primario, de otro modo no clasificable. (35)

## UN ANTIGENO PROSTATICO EN SUEROS DE PACIENTES CON CP

Se ha detectado Ag prostático por una técnica de inmunofluorescencia en 17 de 219 sueros de pacientes con CP avanzado. Se estudiarán paralelamente como grupo control sueros de 175 pacientes con cáncer no prostático, incluyendo aquellos de enfermedad de seno, pulmón, colon, recto, estómago y páncreas, que fueron en los que no se encontraron Ag prostáticos, así como 20 muestras de varones normales y de la misma edad. Los Ag de suero -

mostraron identidad inmunológica con Ag en tejido prostático determinado por inmunoprecipitación con incremento de los picos. Al usar cromatografía de afinidad de Ac y técnicas de radioinmunoprecipitación, el Ag de los sueros se purificó y se sometió a una electroforesis con dodecil sulfato de sodio: exhibió un peso molecular aproximadamente de - - 36,000, similar al del Ag aislado de tejido prostático. (36)

### INMUNOBIOLOGIA DEL CARCINOMA DE LA PROSTATA.

La evidencia limitada sugiere que el CP expresa Ag que son inmunogénicos en el huésped.

Algunos de estos Ag de tumor pueden estar asociados con Ag fetales y otros pueden ser Ag de tumor inducidos por virus. Las células epiteliales prostáticas benignas y malignas producen una forma antigénicamente diferente de la FA, pero se desconoce si la FA puede funcionar como un blanco para mecanismos citotóxicos. Hay una amplia evidencia de que las células del huésped de actividad inmunológica mediada disminuye en muchos pacientes de CP, sin embargo los mecanismos no están claros.

Las manipulaciones endócrinas pueden también alterar los mecanismos inmunes del huésped.

Hay cierta evidencia que sugiere que la competencia inmune del huésped se correlacione inversamente con la progresión del tumor en pacientes que han recaído después de la terapia endócrina. La inmunoterapia para CP no se ha estudiado adecuadamente. Se han hecho intentos no concluidos en la inmu

noterapia activa usando Bacilo Calmette Guerin y -  
criocirugía, y hay intentos de inmunoterapia pasi-  
va.

Se discuten los futuros prospectos para la In  
munología como una herramienta útil en el manejo -  
de pacientes de CP. (37)

### CAPITULO III

## M E T O D O L O G I A

A CONTINUACION SE PRESENTAN LOS RESUMENES DE LOS -  
ARTICULOS REVISADOS EN LA LITERATURA, ORDENADOS DE  
ACUERDO A LA METODOLOGIA QUE EMPLEARON LOS AUTORES,  
SEGUN NUESTRA CLASIFICACION PRESENTADA EN LA PRIMER  
RA HOJA DE ESTE CAPITULO, DEDICADA A LOS FUNDAMEN-  
TOS.

Informe de las metodologías que se han empleado para la determinación de la actividad de la fosfatasa ácida. Pueden dividirse en:

- 1.0 Contrainmunolectrofóresis (CIEF)
- 2.0 Cromatografía
- 3.0 Electrofóresis
- 4.0 Espectrofotometría
  - 4.1 Métodos Colorimétricos
  - 4.2 Métodos Enzimáticos (UV)
- 5.0 Histoquímicos
  - 6.1 Inmunocitoquímicos
  - 6.2 Inmunodifusión
- 6.0 Inmunológicos
  - 6.3 Inmunolectrofóresis
  - 6.4 Inmunofluorescencia
  - 6.5 Radioinmunoensayo
    - 6.51 Enzimático
    - 6.52 Inmunológico
    - 6.53 Radioisótopos
    - 6.54 Línea de células
- 7.0 Varios

A continuación se describen los fundamentos de esas metodologías.

## 1.0 CONTRAINMUNOELECTROFORESIS

### FUNDAMENTO.-

Utilizada inicialmente como método cualitativo, la electroforesis contracorriente ("counter - electrophoresis", de los anglosajones) aprovecha el hecho de que en un gel con carga negativa el flujo endosmótico hace desplazarse a las inmunoglobulinas en dirección opuesta a la de migración electroforética de otras proteínas con punto isoelectrónico más bajo. Así, pues, en tales condiciones el antígeno se va desplazando con relativa rapidez hacia el ánodo en tanto que los anticuerpos (inmunoglobulinas) discurren, algo más lentamente, hacia el cátodo. En el método generalmente empleado se prepara una fila de pocillos más próxima al cátodo, en los que se colocan las muestras a analizar, y otra, enfrentada con la primera, pero más cerca del ánodo, en la que se colocan los antisueños. El método se ha aplicado con éxito, entre otras, a la detección de la alfa<sub>1</sub>-fetoproteína. - (38)

## 2.0 CROMATOGRAFIA DE REPARTO

### FUNDAMENTO.-

Así como en la cromatografía de adsorción la afinidad de los componentes de una mezcla para la superficie sólida y la solubilidad de los mismos en el solvente que se desplaza da lugar a la resolución de la mezcla problema, en la cromatografía de reparto se sustituye el adsorbente sólido por -

un líquido que queda estacionario o fijo, el cual es normalmente sólo parcialmente miscible con el otro líquido, el que fluye. El movimiento de las sustancias en el cromatograma depende de las concentraciones relativas en las fases estacionaria y móvil. Durante la cromatografía, las sustancias disueltas cruzan una y otra vez, en ambos sentidos, la interfase entre 2 líquidos, sin concentrarse en la superficie de esa interfase, como ocurre en la cromatografía de adsorción.

La velocidad a la cual se desplaza un soluto en tal sistema dependerá de sus solubilidades relativas en ambas fases. Este parámetro se expresa en forma de coeficiente de reparto (K), definido como la concentración del soluto presente en una fase dividido por la concentración del soluto en la otra fase una vez que se ha establecido el equilibrio. Este cociente es, para una determinada sustancia, una constante en condiciones fijas de temperatura, y siempre que ninguna de las dos fases esté saturada con respecto a la sustancia disuelta. Por definición, en los sistemas cromatográficos la concentración del soluto en la fase móvil es el numerador de la expresión, y la existente en la fase estacionaria se pone en el denominador. Si se expresa  $s$  como la concentración del soluto, el coeficiente de reparto  $K$  vendrá expresado como

$$K = \frac{S \text{ móvil}}{S \text{ estacionaria}} \quad (38)$$

### 3.0 ELECTROFORESIS

#### FUNDAMENTO.-

En la electroforesis, la movilidad de una partícula cargada es función de la magnitud de su carga, la cual, a su vez, varía con el pH. Por ejemplo, en el caso de anfolitos tales como las proteínas en el punto isoelectrico, pl, la movilidad es igual a cero. A cualquier pH por debajo de ese punto el anfolito tiene una carga neta positiva y se desplaza hacia el cátodo; por el contrario, si el pH es superior al pl el anfolito adquiere una carga neta negativa y por tanto migra hacia el ánodo.

Se entiende por movilidad la distancia en centímetros, que recorre una partícula en la unidad de tiempo, por unidad de campo eléctrico, expresada como caída de voltaje por centímetro (movilidad =  $V_0 = \text{cm/seg/V/cm} = \text{cm}^2/\text{V seg.}$ ).

La función fundamental del tampón es acarrear la corriente y mantener el pH constante, asegurando así que cada uno de los componentes que se pretende separar estará dotado de una carga fija a lo largo de toda la experiencia. Se pueden preparar tampones que cubran toda la zona de pH. Además del pH del tampón tiene también importancia su fuerza iónica. La fuerza iónica ( $\mu$ ) de un tampón se calcula utilizando la siguiente fórmula:

$$\mu = 1/2 \quad M c^2$$

donde M es la molaridad y c es la carga del ión.

Como ya hemos dicho anteriormente, la corriente es acarreada por los iones presentes, y por tanto, cuanto más concentrado es el tampón mayor es la proporción de corriente transportada por los iones del mismo en relación a otros iones más lento será relativamente, el desplazamiento de otros compuestos iónicos. Además, el movimiento de los iones rodeados por otros iones de carga opuesta viene retardado por la atracción que éstos ejercen, y el resultado será, en última instancia, una reducción en la velocidad de migración. Así, pues, al aumentar la concentración del tampón se reduce la migración merced a estos dos efectos. La resistencia al flujo de la corriente es función del medio, del tampón y de su concentración, y determinará la corriente y, consecuentemente, el calentamiento generado por un voltaje determinado. Dado que la resistencia de un medio es fija, se sigue que debe aumentarse el voltaje siempre que se desee incrementar la corriente. Con un voltaje constante, se observará que la corriente aumenta durante el período de la electroforesis a consecuencia de que, al ir aumentando la temperatura, se produce una destilación del solvente del tampón, con lo cual la resistencia del medio va disminuyendo lentamente. La disminución de la resistencia, como ya sabemos, origina un aumento de la velocidad de migración. Cuando se trabaja con voltajes bajos, este efecto de destilación es menor, con lo que la velocidad de migración apenas sí varía. Manteniendo la corriente constante, el voltaje irá disminuyendo a medida que la resistencia del medio lo haga.

Para conseguir el mismo grado de separación -

de las sustancias que migran, debe utilizarse un voltaje constante, sea cual sea el número de tiras del medio de soporte colocadas en la cámara electroforética, o también debe multiplicarse la corriente deseada por el número de tiras que se someten simultáneamente en la misma cámara a electroforesis.

Una cuestión generalmente discutida es si es preferible mantener constante durante el recorrido electroforético, la corriente o el voltaje. Tanto cuando se trabaja con papel, como cuando se maneja acetato de celulosa, el calor generado durante la electroforesis es pequeño y se pueden separar satisfactoriamente la mayoría de las sustancias, tanto manteniendo constante el voltaje, como fijando el amperaje. No es este el caso cuando se trabaja con geles, cuyo espesor puede variar desde 0,3 a 1 cm, lo cual origina una notable producción de calor que, en este caso, sí viene a constituir un problema auténticamente real. En tales técnicas se selecciona una corriente constante, cosa que también debe hacerse cuando utilizando como matrices el papel o el acetato de celulosa, se pretende obtener medidas exactas de movilidad de una sustancia determinada.

La electroforesis a través de una matriz, tal como el papel, presenta una serie de complicaciones adicionales que no existen en la electroforesis libre (Tiselius); estos factores son, en principio, 4: 1) Electroendosmosis, 2) Potencial de corriente, 3) El "efecto de barrera", 4) Cromatografía (38)

## 4.0.- ESPECTROFOTOMETRIA

### FUNDAMENTO.-

Puede definirse como la medida de la atenuación que el material a estudiar efectúa sobre una radiación incidente sobre el mismo con un espectro definido. En Química Clínica el material a probar es generalmente una solución y las medidas se hacen ordinariamente dentro del espectro comprendido entre 220 y 800 nm. Este espectro de radiación - puede subdividirse en dos amplias zonas: la zona de la radiación visible, situada por encima de - - 380 nm, y la zona de la radiación ultravioleta situada por debajo de esos 380 nm. (38)

### 4.1 COLORIMETRIA

#### FUNDAMENTO.-

La base de la colorimetría es que muchas sustancias tienen color propio, o pueden dar lugar a productos finales coloreados en ciertas reacciones químicas. Hay una relación entre la intensidad de este color y la concentración del producto final, - o sea la concentración de uno o varios de los reactivos; de esta manera, la intensidad del color puede utilizarse para medir la concentración. Existen muchos instrumentos para la medición del color. -- (38)

## 4.2 METODOS ENZIMATICOS (UV)

### FUNDAMENTO.-

Las fosfatasas catalizan la hidrólisis de los ésteres del ácido fosfórico. En función de los márgenes de pH adecuados al óptimo de sus actividades, se distinguen dos tipos de fosfatasas: ácida y alcalina.

Para la determinación de fosfatasa según BESSEY, LOWRY y BROCK, se utiliza como sustrato el p-nitrofenilfosfato que, por acción de la enzima, se escinde en p-nitrofenolato y fosfato. Según el nuevo método de RICK se hace actuar el suero problema, en la cubeta fotométrica, sobre el sustrato, y se mide la extinción a 405 nm durante algunos minutos. La variación observada en el valor de extinción, por unidad de tiempo, es proporcional a la velocidad de transformación del sustrato y, por lo tanto, a la actividad enzimática. (39)

## 6.0 METODOS INMUNOLOGICOS

### I N M U N O D I F U S I O N . -

#### F U N D A M E N T O . -

#### Inmunodifusión simple unidimensional (IDS)

La inmunodifusión simple unidimensional, frecuentemente mencionada también como técnica de - - Oudin es, básicamente, un procedimiento cualitativo.

El anticuerpo (Ac) o, más raramente, el antígeno (Ag), se incorpora en la masa de un gel, generalmente agar o agarosa, el cual se pone en contacto directo con una solución líquida del otro componente de la reacción (es decir del Ag en el primero de los casos o del Ac en el segundo). En cualquiera de los dos casos la sustancia que está en la solución difunde a través del gel, dando lugar a la formación de una línea de precipitación en -- aquella zona en que la proporción de las concentraciones del Ag y Ac es óptima.

Puede hacerse una medida cuantitativa de la - concentración de la sustancia en la solución líquida en función de la distancia que separa la línea de precipitación de la interfase líquido-gel. Efectivamente, en condiciones adecuadas esa distancia es proporcional a la concentración de la sustancia que difunde. La técnica básica y la mayoría de sus modificaciones se llevan a cabo en tubos largos y de pequeño diámetro, Kwapinski ha descrito varias modificaciones técnicas, entre las que merece la - pena destacar la inmunodifusión doble. (38)

### 6.3 INMUNOELECTROFORESIS

#### FUNDAMENTO.-

##### Imunoelectroforesis cualitativa.-

La inmunoelectroforesis (IEF) combina el poder de separación que tiene la electroforesis con la capacidad resolutive de la inmunoprecipitación basada en la especificidad inmunológica. Existen también, en este caso, miles de modificaciones, basadas todas ellas en el macrómetro de Grabar y Williams o en el micrométodo de Scheidegger. Como en el caso de la electroforesis simple se han propuesto para la IEF otros diversos medios de soporte, aparte de la placa de vidrio recubierta de agar o agarosa: papel, acetato de celulosa, agar recubriendo a una membrana de Mylar o Cronar, gomas de acrilamida, membranas de nitrocelulosa tratadas con Tween 60 y gelatina estabilizada. El empleo de membranas en vez de agar tiene la ventaja de que, generalmente, permite una mejor observación de los reactivos y, ocasionalmente, da lugar a la formación de líneas de precipitación más definidas.

En general, la mayoría de los laboratorios utilizan la IEF en su variedad micro. En ella se emplean como placas de reacción portaobjetos de microscopio recubiertos con agar cortado o moldeado con instrumentos apropiados que se encuentran en el comercio. Hay autores que afirman que impregnando toda la placa con antisuero pueden visualizarse tanto la forma como el tamaño, como la homogeneidad de las líneas de precipitinas producidas por

el antígeno. No obstante, el procedimiento más frecuente utilizado implica el hacer difundir el anticuerpo a partir de un canal rectangular labrado en el seno del gel. Existen sistemas adecuados para el laboratorio clínico y adaptables a los equipos electroforéticos usuales.

Para mayor facilidad se encuentran hoy en día tabletas de agar ya purificado. Cuando se efectúa la IEF en condiciones idóneas se aprecian, en los sueros de mamíferos, más de 40 líneas de precipitación.

Aunque está demostrado que la IEF no es un método fiable desde el punto de vista cuantitativo, no cabe duda de que alguna de sus variantes, tal como la descrita por Ironside permite la detección difícil e importante de diversas proteínas.

(38)

## 6.4 INMUNOFLUORESCENCIA

### FUNDAMENTO.-

El colorante fluorescente isotiocianato de fluoresceína puede incorporarse en las moléculas de los anticuerpos, al permitirse que el grupo isotiocianato reaccione con los grupos amido libres, presentes en la molécula del anticuerpo. Esta reacción de acoplamiento, cuando se practica adecuadamente, no interfiere en la capacidad del anticuerpo para combinarse con el antígeno. El grupo fluorescente unido al anticuerpo sirve de marca, haciendo que el anticuerpo fluoreszca in situ cuando queda expuesto a la luz de una longitud de onda apropiada. Si los anticuerpos fluorescentes reaccionan con su antígeno, el complejo obtenido se vuelve fluorescente. Cuando el antígeno se relaciona con determinadas células (o con otras estructuras microscópicas como son los núcleos celulares), la estructura que contiene a dicho antígeno unido al anticuerpo fluorescente también presenta fluorescencia, al observársele con un microscopio de fluorescencia. Este método constituye un instrumento histoquímico sumamente específico, porque la tinción inmunofluorescente refleja la especificidad serológica del anticuerpo empleado. (40)

## 6.5 RADIOINMUNOENSAYO

### FUNDAMENTO.-

Radioinmunoensayo como un caso particular de inmunoprecipitación en líquidos

Las técnicas de RIE son de 100 a 1000 veces más sensibles que las de Inmunodifusión Radial Simple, prestándose por ello, de forma especial, al estudio de líquidos con baja concentración de proteínas, tales como la saliva, el líquido cefalorraquídeo, líquidos oculares, etc. La literatura acerca de el RIE y sus aplicaciones es ingente, Aubert ha publicado un estudio detallado crítico sobre las metodologías del RIE existentes con 162-citas bibliográficas.

Como ejemplo de la amplitud y diversidad de las aplicaciones del RIE en Química Clínica citaremos que se han utilizado para la estimación de inmunoglobulinas y de morfina. Esos mismos trabajos pueden servir asimismo para ilustrar un ejemplo de la técnica de anticuerpo insoluble, generalmente denominada Radioinmunoensayo en fase sólida, en la cual se establece una unión química sólida entre la globulina, anticuerpo y bromoacetilcelulosa, insoluble o entre la inmunoglobulina y Sepharosa 2B o 4B. El RIE para la determinación de morfina es un ejemplo típico de aquellos casos en los que la sustancia que se quiere dosificar (la morfina en este caso) funciona únicamente como hapteno, debiendo unirse previamente a otra molécula de mayor tamaño para estimular así la producción de anti-

cuerpos. En este caso concreto se unió carboxime--  
tilmorfina o albúmina sérica de buey, en presencia  
de carbodiimida. El producto resultante se inyec--  
tó, con adyuvante, a conejos. La sensibilidad del  
método es tal, que 0.5 nanogramos de morfina son -  
suficientes para desplazar el 20% de la dihidromor--  
fina tritiada de la unión con el anticuerpo especí--  
fico.

Otro ejemplo de la utilidad de la aplicación--  
del Radioinmunoensayo de fase sólida se ha desarro--  
llado para la investigación del Ag Australia (HAA)  
que es mucho más sensible que otros métodos y simi--  
lar a otros RIEs de fase sólida. En lugar de los -  
estándares, sólo se usan controles positivos y ne--  
gativos. Ya que un Ag marcado no es fácil de conse--  
guir, se usa un procedimiento ligeramente diferen--  
te. Las muestras de suero se agregan a tubos que -  
contienen el Ac absorbido. Este último se combina  
con cualquier Ag en el suero y el complejo Ag-Ac -  
absorbido a las paredes del tubo cuando la solu--  
ción se remueve y los tubos son enjuagados. Si al--  
gún Ac marcado radioactivamente se agrega ahora, -  
se combinará con el Ag presente. Aunque el Ag remo--  
vido del suero es reabsorbido en la capa del Ac -  
original (no radioactivo) presente en los tubos, -  
aún tiene sitios de unión adicionales para combi--  
narse con Ac posteriores de la solución. La canti--  
dad de Ac marcado que se unirá entonces, dependerá  
de la cantidad de Ag presente. Ya que este Ag se -  
remueve del suero, la cantidad de radioactividad -  
de unión será una medida de la cantidad de Ag ori--  
ginalmente presente en el suero. Con sueros que -  
contienen cantidades no apreciables de Ag, sólo -

una pequeña cantidad de Ac radioactivo permanecerá en los tubos. En general, la prueba puede considerarse como positiva cuando la diferencia entre la radioactividad de la muestra del tubo y el promedio para controles normales negativos es mayor de 5 veces la desviación estándar obtenida en una serie de controles negativos. Generalmente la diferencia será mucho mayor. (38)

## 6.5 RADIOINMUNOENSAYO

El principio del RIA es idéntico al descrito para el ensayo del enlace competitivo difiriendo sólo en la naturaleza del agente de unión, el cual en el caso del RIA es un Ac (IgG) producido generalmente con la sustancia que se está midiendo - - (Ag) en un animal de otra especie. El Ag marcado - (en este ejemplo marcado con Yodo 131) reacciona con un Ac específico para formar un complejo marcado Ag-Ac, es importante notar que la reacción es reversible y que en condiciones de baja concentración de anticuerpo el complejo es soluble. Si se agrega a otra mezcla de reacción un Ag idéntico pero no marcado, reaccionará con el Ac de una manera similar, compitiendo cuantitativamente con el Ag marcado. En otros términos, mientras mayor sea la cantidad de Ag no marcado en la mezcla, menos Ac será disponible para unirse al Ag marcado. El RIA aprovecha estas 2 reacciones competitivas. Si, a un estándar y una cantidad constante de Ac y a la hormona antigénica marcada correspondiente, se agregan incrementos de estándares de hormonas no marcadas, cantidades proporcionales de hormona marcada serán desplazadas del complejo Ac-hormona.

Los prerequisites para la realización de un ensayo radioinmunológico son como sigue:

- 1.- Una sustancia antigénica pura
- 2.- Antígeno marcado de alta actividad específica
- 3.- Un antisuero específico "potente"
- 4.- Un procedimiento de separación rápido, simple de la unión del Ag libre.

La discusión presente se enfoca en cada paso del RIA, apuntando las ventajas así como las dificultades nacidas de la experiencia obtenida en la década pasada.

### PURIFICACION DE LA SUSTANCIA ANTIGENICA

Los refinamientos en el aislamiento, separación y purificación de hormonas proteicas humanas, así como la síntesis de algunas hormonas péptidas ha proveído una fuente de sustancias relativamente puras. Su potencia antigénica puede ser algo variable, mientras que las grandes hormonas de polipéptidos tales como la hormona de crecimiento, insulina, hormona estimulante tiroidea, y otras son altamente antigénicas. Moléculas más pequeñas tales como la angiotensina y la radioquinina y drogas tales como la digoxina y morfina son débilmente antigénicas, pero pueden ser usadas como haptenos si se conjugan con moléculas más grandes. La conjugación de albúmina sérica ha sido llevada a cabo usando carbodiimida. Las moléculas pequeñas han sido también utilizadas con la tiroglobulina o la poli-lisina sintética. (41)

### ANTIGENO MARCADO

El marcado de hormonas a una alta actividad específica fue una mayor ventaja que permitió el desarrollo del RIA. Las moléculas de proteínas pueden volverse radioactivas incorporando yodo radiado ( $^{131}$  ó  $^{125}$ ) a los residuos de tirosil. Un número de métodos para yodo radiado se desarrolló incluyendo electrolisis, el uso de monocloruro de yodo

do e hipoyoduro. El método más ampliamente usado - para la radiación con yodo en 1962, por Hunter y Greenerwood, utiliza cloramina T para oxidar el yodo a yoduro y finalmente la reacción rápida de metabisulfito para neutralizar la cloramina T que puede oxidar a la hormona. Después de la reacción de una proteína como la albúmina sérica bobina, el yodo que no reaccionó se separa de la hormona marcada generalmente por filtración de gel en sephadex.

El marcado no es siempre un procedimiento simple. Depende del número de residuos tirosil y su localización en la molécula.

Las moléculas más pequeñas que no contienen residuo de tirosil pueden ser marcadas con otros isótopos, o unirse a una cadena polipeptídica inerte o de tirosina. La uniformidad del yodo así como el número de átomos de yodo por molécula también son importantes. La sobreyodación de una molécula puede alterar su afinidad por el anticuerpo y causar pérdida de capacidad para competir con la hormona nativa por los sitios de unión.

También la sobreyodación puede destruir las moléculas por radiación interna. Por otro lado, la sobreyodación disminuye la actividad específica del antígeno marcado y así disminuye la sensibilidad del RIA. (41)

## ANTI S U E R O

Los antisueros obtenidos de diferentes animales de la misma especie, inmunizados con el mismo horario, pueden variar grandemente en su capacidad

para reaccionar con el antígeno. Afortunadamente, los anticuerpos se usan a tan altas diluciones que sólo 0.1 ml de una preparación adecuada puede servir para miles de ensayos. Generalmente se usan para inmunizar los conejos y cerdos de guinea.

Cuando el método de precipitación de doble anticuerpo se usa para la separación del enlace de la hormona libre, los cerdos de guinea son más adecuados, ya el segundo anticuerpo hecho en conejos dirigido contra la gamaglobulina del suero de cerdo de guinea (el primer anticuerpo) es más efectivo para una separación completa del enlace hormonal de la hormona ya liberada. Generalmente es heteróloga y purificada o semipurificada en cantidades de 100 a 1000 mgs mezclada con el coadyuvante completo de Freund inyectado subcutáneamente.

Las dosis iniciales similares pueden ser dadas cada semana, cada 2 semanas o cada mes y después se cosechan del suero para la determinación del título, la afinidad y especificidad del Ac. El título se define como la dilución del antisuero usado en el ensayo. La afinidad es la avidéz del antisuero para unir su agente complementario (asociación constante). La especificidad es el grado en el cual otras sustancias pueden competir por estos sitios de unión específicos en el anticuerpo.

Con cada inyección inicial hubo un aumento en el título del anticuerpo alcanzando una meseta después de la 5a. inyección, 14 semanas después de que se inició la inmunización. Este patrón es común para otras hormonas polipeptídicas, tales como la hormona luteinizante (LH), la hormona estimulante de tiroides (TSH), y la hormona folículo estimu



de contaminantes hormonales en el material usado - para la inmunización, pero más comúnmente es debido a la producción de una familia de anticuerpos, - algunos que reaccionan con una secuencia de amino-ácidos compartida por unas pocas de hormonas que - poseen diferentes actividades biológicas.

El problema de la reacción cruzada puede ser resuelto ya sea inmunizando un gran número de animales, de los cuales se escogen los que más producen anticuerpos específicos, o absorbiendo los anticuerpos no específicos con las sustancias de - - reacción cruzada, dejando sólo una población específica de Ac contra la sustancia que está siendo - medida.

Algunos investigadores han aprovechado la - - reacción cruzada para su conveniencia. Por ejemplo, un Ac que hace reacción cruzada con 2 hormonas podría utilizarse en este ensayo, es cierto que las muestras desconocidas contienen grandes cantidades de sólo 1 de las 2 hormonas. (41)

### SEPARACION DEL Ac ENLAZADO AL SUSTRATO LIBRE

Un gran número de técnicas han sido ideadas - para realizar este paso del RIE. El método más tem<sub>pl</sub>prano usado originalmente por Yallow y Berson - - (1959) fue la cromoelectroforesis, la cual aprovecha la propiedad de ciertos tipos de medios de células para absorber hormona libre permitiendo que el Ac se una a la proteína bajo la influencia del flujo combinado hidrodinámico.

Otro método popular para la separación de Ac-

enlazado a la hormona libre es el procedimiento de doble Ac, basado en el método de Skam y Talmage. - La molécula de la insulina reacciona con el método específico, el cual en bajas concentraciones forma un complejo soluble.

Después de que la primera reacción alcanza el equilibrio, un segundo anticuerpo producido en - - otras especies y dirigido hacia el primer Ac (gama globulina) se agrega en exceso con el acarreador - normal de suero homólogo al primer Ac. El Ag resul tante del complejo del doble Ac es precipitable y puede ser separado del remanente de la hormona libre en solución por centrifugación.

Más recientemente se ideó un método para la - separación simple e instantánea de la hormona li-- bre de Ac, utilizando la adsorción de una hormona- libre en la resina, carbón y otros materiales insol ubles.

Uno de estos métodos utiliza la técnica de do ble Ac y los gránulos de carbón.

El primer Ac (conejo anti HPL) reacciona con suero cabra anti-conejo en pequeñas cantidades para formar un complejo soluble de doble Ac. Este - complejo es estable y se puede preservar a 4°C.

Después de la realización del RIE por incubación de HPL, con el Ac la hormona enlazada se sepa ra por absorción de gránulos de carbón. La absor-- ción de la hormona Ac unida al carbono se excluye en la presencia de dextrana, la cual presumiblemente tamiza moléculas grandes. La hormona libre, de considerable tamaño molecular más pequeño que el - complejo de doble Ac, se absorbe al carbón, y pue-

de ser separada por centrifugación de la solución que contiene la hormona enlazada.

Una técnica más nueva popularizada por Catt y col. se refirió al RIE de fase sólida, el cual utiliza Ac fijados a materiales plásticos tales como la parte interna del tubo de poliestireno. El Ac es actualmente fijado antes de la adición de la mezcla de reacción.

La reacción involucra la competencia del Ag marcado y el no marcado en la fase líquida, para el número de sitios de enlace en el Ac en el estado sólido. El Ag libre se separa removiendo la fase líquida y la radioactividad en la fase sólida determinada. Este método es particularmente adecuado para los laboratorios de rutina que carecen de entrenamientos especiales técnicos. (41)

## ENSAYO INMUNORADIOMETRICO

La mayoría de los radioinmunoensayos emplean varias modificaciones, al principio del enlace competitivo. Para este ensayo el Ac es primero purificado por inmunoabsorbencia, eluido y después marcado. A los estándares no marcados de muestra problema se les permite reaccionar con un exceso de Ag en una fase sólida.

Este ensayo ha sido aplicado para la medición de insulina, calcitonina LH, FSH y ACTH. Una variación de este ensayo usando Ac marcado en una técnica de sandwich ha sido usada para la cuantificación de anticuerpos alérgicos.

Durante la última década, los ensayos radioinmunológicos han sido desarrollados con éxito y son aplicables a la medida directa de la mayoría de las hormonas polipeptídicas. Los métodos se han expandido para incluir la medida de partículas de virus, más pequeñas que las moléculas de hormona tales como la testosterona, progesterona, aldosterona,  $T_4$ ,  $T_3$  y aún drogas. Los métodos para la determinación simultánea y de 2 sustancias usando 2 isótopos ( $I^{131}$  y  $I^{125}$ ) los cuales pueden ser contados simultáneamente en un espectrómetro gamma de 2 canales. (41)

### PRINCIPIOS DEL ENSAYO DE UNION COMPETITIVA Y RIA

Esta nueva herramienta llamada RIA fue originalmente descrita por Yallow y Berson (1959) y se usó primeramente para el ensayo de insulina en suero. Difícilmente permanece en el dominio de la Medicina Experimental y Clínica, donde los isótopos no han sido aplicados. Su valor ha sido expandido en la última década, con el desarrollo de una técnica para la detección y medida de cantidades muy diminutas de proteínas y hormonas peptídicas.

El principio de RIA fue rápidamente expandido no sólo para medir hormonas peptídicas, sino también moléculas más pequeñas y aun iones.

Los anticuerpos fueron adheridos a moléculas proteicas capaces de unirse específica y reversiblemente (y con un alto grado de afinidad) a las sustancias correspondientes.

Tales reacciones obedecen a la Acción de Ma--

sas y pueden ser usadas para ensayos. Si una proteína enlazante se mezcla con un sustrato (S), a menudo preferido como ligando, por el cual tiene sitios de unión específicos, se formará un complejo (BPS). Si después se agrega un sustrato marcado isotópicamente ( $S^*$ ), indistinguible del sustrato nativo, se formará un complejo ( $BPS^*$ ), ya que la unión del sustrato a la proteína es reversible, la adición del sustrato en concentraciones que exceden el número de sitios de unión adecuadas, darán origen a que haya competencia entre los sustratos marcados y no marcados, por los sitios de unión, los cuales serán proporcionales a sus concentraciones. Si las cantidades de BPS se mantienen constantes, un incremento de sustratos no radioactivos (S) competirá por los sitios de unión (BP) formando (BP-S) y así resultará una disminución en el complejo (BP- $S^*$ ).

Cantidades desconocidas de (S) pueden ser leídas directamente de la curva estándar.

La sensibilidad del ensayo depende de la afinidad de (BP) por (S) (asociación constante), de la concentración de (BP) y, en parte, de la actividad de ( $S^*$ ). Se han dado varios nombres a este tipo de ensayo. El término Radioinmunoensayo se usa cuando la proteína que provee el sitio de unión es un anticuerpo, cuando la unión proteica es una enzima, se usa el término radioenzimático. Finalmente, cuando la proteína es una sustancia nativa involucrada, en el transporte de una molécula más pequeña (o ligando), se usa el término "ensaye de enlace proteico". Barakat y Ekins dieron este último nombre, así como también los nombres "análisis de saturación" para describir todos los ensayos que -

emplean competencia por los sitios de unión.

Los sitios de unión son proveídos, por una sustancia nativa. Un anticuerpo, o un enlace no proteico con alta afinidad por un ligando particular. Otros términos usados como sinónimos son: "análisis de desplazamiento", "ensayo de unión radioligando", y "radioestereoensayo".

Aunque la técnica ha sido principalmente usada para la determinación de hormonas, el principio general puede ser teóricamente aplicado a cualquier sustancia en la que se puede encontrar un agente de enlace. (41)

### ENLACE DE UNION COMPETITIVO

El primer ensayo que utiliza proteína de unión nativa específica y un sustrato no polipeptídico, fue desarrollado en Europa por Ekins, y en este continente por Murphy y Pattee para la medida de la tiroxina.

En los siguientes años el mismo método fue adoptado para medir otras hormonas y, más recientemente, drogas. El campo de ensayo de unión competitiva ha sido desarrollado rápidamente, y en los últimos 10 años han sido ideados para medir con aproximación y especificidad muchas sustancias, cuya lista crece continuamente.

En la siguiente discusión se habla de los aspectos tecnológicos de este ensayo, sus ventajas usando la tiroxina como ejemplo. Seis pasos están involucrados en el ensayo de unión competitiva, y-

éstos son:

- 1) Preparación de material de enlace específico - (crudo o purificado)
- 2) Preparación del ligando marcado "indistinguible" capaz de competir con la sustancia que está - - siendo medida.
- 3) Preparación de la muestra por:
  - a) Desproteínización
  - b) Extracción
  - c) Purificación
- 4) Equilibrio del material de unión con ambos li-- gandos marcado y no marcado (muestra problema).
- 5) Separación de la unión del ligando libre (no li-- gado).
- 6) Construcción de la curva estándar y cálculos de muestras problema.

### ENLACE PROTEICO

El material de unión debiera ser de alta afinidad y, preferiblemente específico para el ligando. Muchas proteínas se encuentran en la sangre y debido a su alta especificidad, el suero diluido - puede ser usado sin purificación posterior.

Ocasionalmente, sin embargo, como en el caso del ensayo de monofosfato de adenosina cíclica - - usando uniones intracelulares proteicas, esta últi ma ha sido aislada y purificada de tejidos, tales como la glándula suprarrenal y el músculo. En el -

caso del ensayo de la tiroxina se utiliza la alta afinidad del enlace proteico, y el enlace tiroxina-globulina (TBG).

La tiroxina ( $T_4$ ) es normalmente acarreada en enlace sérico en 3 proteínas: 75 a 80% enlazado a un inter-alfa-globulina conocida como globulina en lace tiroxina, o TBG, 15 a 20% de unión a la tiroxina unión prealbúmina o TBPA, y 5 a 10% enlazado no específicamente a la albúmina. De acuerdo a esto, la TBG es la hormona tiroides mayor unida a la proteína en suero. La albúmina tiene baja afinidad relativamente por la hormona, y no interfiere en el ensayo, mientras que  $T_4$ , unida a prealbúmina -- (TBPA) sí se inhibe con buffer de barbital. Todo el suero apropiadamente diluido en el buffer se usa como fuente de unión proteica sin tratamiento posterior.

### SEPARACION DEL "ENLACE" DEL LIGANDO "LIBRE"

El propósito de este paso es determinar la distribución relativa de la radioactividad entre el enlace proteico y la hormona no enlazada.

Los métodos y materiales usados para este propósito se designan para hacer uso de las nuevas propiedades moleculares del ligando en su forma de enlace. Estos procedimientos incluyen: diálisis, electroforesis, filtración en gel, precipitación proteica y las partículas absorbentes más ampliamente usadas tales como resina de intercambio iónico. En el caso de la  $T_4$ , una resina de intercambio iónico no aniónica (sirve como esponja), tales resinas absorben toda la  $T_4$  presente en la forma "li

bre" o enlazada no específicamente a albúmina, dejando en solución el enlace  $T_4$  a la alta afinidad de sitio de unión TBG. Conociendo la cantidad total de radioactividad agregada por tubo, la determinación de la actividad, ya sea en la resina o en el sobrenadante que contiene el enlace proteico en solución, es suficiente para el cálculo del % de distribución. (41)

## CLINICAL ASSAYS - GAMMA DAB

FOSFATASA ACIDA PROSTATICA I<sup>125</sup>P R I N C I P I O D E L M E T O D O

El procedimiento del equipo de radioinmunoensayo GAMDAB I<sup>125</sup> FAP es un ensayo de unión competitivo que utiliza un antisuero reactivo precipitante de suero para separar el Ac trazador y el Ag del trazador no unido y el Ag.

El procedimiento del RIE, como se desarrolló por Yallow y Berson está basado en los principios de competencia por los sitios de unión. El FAP no radioactivo de muestras de suero, los estándares de FAP o controles compiten con una cantidad constante de I<sup>125</sup>.

El trazador FAP une sitios con el Ac de FAP, el cual está sostenido en una concentración limitante. La cantidad del trazador FAP I<sup>125</sup>, la cual se unirá al Ac, es inversamente proporcional a la cantidad de FAP no radioactivo presente en el tubo de ensayo. El reactivo antisuero precipitante, que contiene un segundo Ac en una solución de polímero, se usa para separar la unión Ac I<sup>125</sup> FAP del I<sup>125</sup> no enlazado del FAP por inmunoprecipitación.

Los tubos de ensayo son centrifugados y los sobrenadantes son decantados. La unión Ac-I<sup>125</sup> FAP, la cual está en el precipitado se cuenta en un contador gamma. Una curva estándar se construye con 4 sueros estándares que van de un rango de 1 a 30 - ng/ml. Las concentraciones de FAP de las muestras se interpolan en la curva estándar. (42)

## FOSFATASA ACIDA POR RADIOINMUNOENSAYO

### I N T E R P R E T A C I O N . -

El cáncer de la próstata ha sido dividido en 4 estadios clínicos con tumores intracapsulares -- tempranos en los estadios I y II, y en los estadios III y IV como tumores extracapsulares.

Determinando la involucración en el cáncer prostático y, de ahí, que su estudio ha sido un problema persistente. El diagnóstico temprano en los estadios I y II se asocia con muy buenas cifras de supervivientes, pero la mayoría de los tumores descubiertos en programas de discriminación de cáncer son avanzados.

Las técnicas sensibles de RIE podrían ayudar en la discriminación para tumores tempranos, así como controlar el progreso o regresión del paciente durante y después de la terapia de cáncer prostático.

Los procedimientos de seguimiento para ayudar a clasificar en estadios de manera definitiva han sido revisados y puestos al día por Klein.

Dos factores pueden influenciar los niveles del paciente de FAP, y se han tomado precauciones adecuadas. Primero, la manipulación de la próstata durante el examen generalmente eleva el nivel de FAP en suero por varias horas, regresando a los niveles previos del día anterior. Segundo la variación significativa de la isoenzima prostática; de tal manera que la FAP ha sido reportada en pacientes con CP. Otras fuentes potenciales de interfe--

rencia con niveles de FAP en pacientes tales como drogas o enfermedades no prostáticas no han sido investigadas a fondo, de tal manera que no se ha reportado que afecte los niveles de FAP, ya sea in vivo o en el RIE.

Varios hallazgos de FAP similares a aquellos derivados de la próstata han sido publicados. Una FAP purificada de orina de mujer da reacción cruzada con un antisuero elevado contra la enzima prostática. Adicionalmente, una FAP químicamente similar a la FAP ha sido detectada en sueros de mujeres.

También ha sido reportada la reacción cruzada entre leucocitos y FAP. (42)

A CONTINUACION SE PRESENTAN LOS ARTICULOS REVISADOS EN LA LITERATURA QUE SE REFIEREN AL RADIOINMUNOENSAYO USADO EN EL ESTUDIO DEL CANCER PROSTATICO.

UNA MIRADA OBJETIVA A LAS DETERMINACIONES DE-FA.- Una comparación de los métodos bioquímicos e inmunológicos.

Se hicieron medidas de suero y de FA de tuétano en 3 métodos enzimáticos: naftilfosfato, glicerofosfato y timolftalein-monofosfato y los compararon con un RIE de doble Ac. Los niveles de suero y de tuétano se estudiaron en 46 controles con hiperplasia prostática benigna histológicamente probada y en 135 pacientes con varios estudios de CP. En el grupo de control el límite superior de FA de tuétano se encontró que era significativamente mayor que el límite de suero correspondiente respecto a los ensayos enzimáticos estudiados.

El RIE fue el único método adecuado para el análisis de FAP contenida en el tuétano.

Se vió un mayor número de elevaciones en pacientes con enfermedad extracapsular y metastásica cuando la medida de la FAP se llevó a cabo por RIE, como se comparó con los métodos enzimáticos.

Sin embargo, sólo un 8% de los pacientes con enf. intracapsular tuvieron elevaciones de FAP como se midió por medio del RIE. Se puede hacer una estandarización adicional de métodos inmunológicos y ensayos clínicos antes de hacer la comparación de los resultados de varios centros usando métodos inmunológicos para la medida de la FAP y una verdadera evaluación de la utilidad de este procedimiento. (43)

## FA DE MEDULA OSEA POR RIE

Un RIE de doble Ac se desarrolló y se utilizó para medir FAP en aspirados de médula ósea. 118 pacientes con CP en varios estadios clínicos y 50 - con hiperplasia prostática benigna se estudiaron.

En pacientes con carcinoma, los niveles de -- FAP en aspirados de médula ósea se encontró que correlacionaban bien con estadios clínicos que incrementaban en la enfermedad.

La determinación de FAP de médula ósea por - RIE puede ser una ayuda valiosa para los estadios-clínico patológicos de CP. (44)

## RADIOINMUNOENSAYO DE UNA FASE SOLIDA PARA FA PROS-TATICA

La sensibilidad de un RIE de fase sólida re--cientemente desarrollado para FAP humana se compa--ró con el método enzimático usando como sustrato - el p-nitrofenilfosfato. En 109 casos no tratados - de CP de los estadios I al IV y 200 hombres sin dicho cáncer, el método de RIE de fase sólida demostró sustancialmente mayor sensibilidad y especificidad que la técnica enzimática. En las 109 enfermedades prostáticas malignas, el método inmunológico correctamente clasificado en 80 (73%) contra 34 (31%) para la técnica enzimática de p-nitrofe--nilfosfato (p 10 (-6)). En 44 casos de cáncer de P en los estadios I y II confinados al RIE de próstata era anormalmente elevado en 19 (43%) con sólo - 4 (9.1%) de elevación de la enzima (p 10 (-3)).

En 65 casos de estadios III y IV de cánceres-extraprostáticos de clasificaciones correctas se notaron en 61 (94%) de los RIE y en 30 (46%) de pruebas enzimáticas (p 10(-6)). El RIE en 200 casos controlados de individuos varones produjeron 11 (5.6%) y la prueba enzimática de p-nitrofenilfosfato produjeron 7 (3.5%) resultados falsos positivos.

En 90 RIE de sueros humanos no prostáticos, 85 (94.5%) se clasificaron correctamente como negativos por el RIE para FAP, contra 66 (73%) como negativo por el método enzimático. Estos datos se discuten en términos de los méritos de una aproximación radioinmunoquímica para la medida de la FAP sérica humana. (45)

#### FA PROSTATICA MEDIDA CON 2 EQUIPOS DE RIE EN LA DETECCION DE ADENOCARCINOMA PROSTATICO

La concentración de FAP sérica se midió con 2 equipos de RIE fáciles de conseguir en el mercado. Los resultados se compararon con evidencia histológica de CP obtenido en autopsia en 33 pacientes. El ensayo sérico no diferencia significativamente ( $p \geq 0.1$ ) entre pacientes con adenocarcinoma y sin él. Nosotros concluimos que la prueba, por lo menos llevada a cabo por el uso de estos equipos, es de poco valor en la detección de enfermedad oculta. (46)

#### LA MEDIDA DEL RIE DE LA FAP: ESTADO COMUN DEL ARTE

Un método radioinmunoquímico nuevo para la medida de la FAP humana en suero y médula ósea ha de

mostrado distintas ventajas bioquímicas sobre las técnicas enzimáticas estándar que son comúnmente utilizadas en el laboratorio clínico.

La naturaleza prometedora del ensayo inmunológico en la evaluación clínica para CP puede dar una confirmación sensible de la presencia de neoplasia prostática, así como más precisión en el estadio clínico del proceso de la enfermedad. En esta forma, la utilización de la técnica como una prueba de discriminación confiable para CP es inapropiada desde un punto de vista bioquímico y bioestadístico.

Continuando la investigación de la naturaleza antigénica de la molécula de FAP humana y el desarrollo del Ac con especificidad enmascarado puede resolver el problema de la discriminación.

Sin embargo, el problema esencialmente insoluble de la cifra de prevalencia relativamente para el CP en varones en los Estados Unidos persistirá y probablemente limitará la aplicación clínica de las técnicas de discriminación enzimática y radioinmunoquímica para CP en sus estadios tempranos. - (47)

#### ENSAYO DE INMUNOENZIMAS DE DOBLE Ac PARA FAP HUMANA

Se comparó el RIE de doble Ac y el ensayo inmunoenzimático para medir la concentración de FAP en suero humano. Los detalles experimentales y el funcionamiento de los 2 métodos son esbozados. Los valores promedios para 385 personas normales fue de 1.02 (D.S.=1.32) microgramos/l por inmunoensayo

enzimático, 2.64 (D.S.=1.8) microgramos/l por RIE. Los resultados de los 2 métodos estuvieron muy relacionados ( $R = 0.9813$ , y RIE = 0.35 por Inmunoensayo enzimático) 0.42,  $p \geq 0.001$ ). Se seleccionaron  $X=2$  D.S. como rango normal, se observarían de un 3 a un 10% de falsos positivos. (48)

#### FAP POR RIE. SENSIBILIDAD COMPARADA CON EL ENSAYO ENZIMATICO

Los valores de FAP en 98 pacientes con CP se midieron por un RIE comercial y por ensayo enzimático. 43 carcinomas se clasificaron por criterios patológicos rigurosos. Los pacientes ( $N = 129$ ) con hiperplasia prostática benigna constituyeron el grupo control. En el 94% de especificidad, la sensibilidad del RIE vs el ensayo enzimático para pacientes clasificados por estadíos clínicamente fueron como sigue: estadío A, 22% vs 6%; B, 29% vs 10%, C, 52% vs 38%; y D, 87% vs 80%. Sin embargo, ninguno de los 7 pacientes en el estadío patológico de la enfermedad A y B tuvieron una prueba con resultados positivos, y nosotros sugerimos que la variabilidad y los criterios de clasificación por estadíos cuentan para la sensibilidad discrepante de casos reportados. El RIE de FAP no debería ser usado para la discriminación, sino como una ayuda para clasificar CP conocidos. (49)

#### UN VISTAZO MAS CERCANO A LA FAP COMO PRUEBA DE DISCRIMINACION

Las técnicas de RIE para la detección de FA sérica se reportó que proveían una mejora sustan--

cial de la prueba de sensibilidad y en la prueba de especificidad. El cálculo del valor predictivo-positivo para este ensayo, sin embargo, no apoya su uso como modalidad de discriminación. El uso in discriminado de esta prueba puede tener serias consecuencias médicas, fisiológicas y económicas. (50)

#### DETECCION DE CP POR RIE DE FASE SOLIDA DE FAP SERI CA

Se comparó el RIE con el ensayo enzimático estándar para la FA prostática en el diagnóstico del CP. Las muestras de suero de 50 controles, 113 pacientes con CP, 36 pacientes con hiperplasia prostática benigna, 84 con otros cánceres, 20 con desórdenes gastrointestinales y 28 con prostatectomía fueron tomados al azar y estudiados por RIE y ensayo enzimático. Cuando el límite superior fue de 8 ng/ml (promedio 4 D.S.), el RIE diagnosticó CP en 33, 79, 71 y 92% de pacientes en el estadio I, II, III y IV de la enfermedad. En contraste, el ensayo enzimático detectó elevaciones de la enzima en el suero de 12, 15, 29 y 60% respectivamente. No se detectaron resultados falsos positivos por otros ensayos en contrastes normales, pero la prueba de RIE fue positiva en 2 pacientes con hiperplasia prostática benigna, en un paciente después de la prostatectomía total, en 9 con otros cánceres y en uno del grupo con desórdenes intestinales. En contraste con el ensayo enzimático, el RIE distinguió sobre la mitad de los casos de CP intracapsular. (51).

## FAP HUMANA: 11 - RIE DOBLE DE Ac

Un método de RIE de doble Ac para la FAP se presenta aquí. Los detalles experimentales se subrayan para evaluar la reproductibilidad y confiabilidad del método bajo condiciones de ensayo. El límite superior de los niveles de FAP en el presente ensayo se evaluaron en 2.4 ng/100 microlitros por 162 determinaciones de muestras séricas normales.

Los niveles de FAP sérica de pacientes con tumores malignos no prostáticos cayeron en el rango normal, mientras que los niveles superiores a 4 -- ng/100 microlitros se encontraron en pacientes con CP. (52)

## EFFECTIVIDAD DEL RIE DE LA FAP HUMANA ESPECIFICA EN EL DIAGNOSTICO Y SEGUIMIENTO DE LA TERAPIA EN EL CARCINOMA DE PROSTATA

El RIE de la FA prostática humana y la medida de la actividad catalítica de la FA, usando fosfato de p-nitrofenol como sustrato se comparó en el diagnóstico y seguimiento de la terapia de pacientes con cáncer prostático. Se controlaron 17 pacientes sin metástasis y 8 pacientes con metástasis durante 12 meses. Se detectó elevación de la actividad catalítica de la FA (el límite superior para el rango de referencia fue de 2 D.S.) en 24% de los sueros de todos estos pacientes (n = 25), y la concentración de la FA prostática específica medida por RIE (el límite superior para el rango de referencia fue de 3 (D.S.) se llevó en 80% de estas muestras antes de la terapia. La medida radioinmunológica de la FA prostática fue más eficiente

en detectar cáncer prostático que la medida de la actividad catalítica. Los efectos favorables de -- las varias formas de tratamiento endócrino se detectó más claramente para la medida de la FA prostática inmunoensayable que para la medida de la actividad catalítica. La activación de la enfermedad durante varias formas de tratamiento endócrino de carcinoma prostático es posiblemente más eficientemente señalado por RIE que por la medida de la actividad catalítica. (53)

#### EL PAPEL DEL ESTUDIO DEL HUESO EN LA EVALUACION -- DEL CANCER DE PROSTATA

50 casos nuevos de CP se evaluaron antes del tratamiento para determinar la incidencia de metástasis de hueso. El estudio del radioisótopo de hueso fue el método más sensible para detectar y localizar metástasis. Fue una estimación 2 veces más precisa que la de FA. El método de rayos X fue el menos preciso. Un 46% de pacientes tuvieron ensayos de hueso anormales en la presentación.

El grado histológico del tumor coincidió bien con el estudio del hueso. Mientras mayor era el -- grado del daño histológico, el ensayo de hueso resultó ser más anormal. Es necesaria una mayor precisión para detectar metástasis, y la estimación de la FA de médula ósea ya sea sola o en conjunto con el estudio del hueso puede dar esta precisión (aproximación). (54)

## UN RADIOINMUNOENSAYO PARA LA FA PROSTATICA

Un RIE de fase sólida para la FAP ha demostrado sustancialmente mayor sensibilidad bioquímica - que un método enzimático estándar para el cual el p-nitrofenil fosfato se usó como sustrato. Los datos preliminares indican que la aproximación radioinmunoquímica puede clasificar el 43% de los estadios I y II; y el 94% de los estadios III y IV de cánceres de próstata. En contraste los métodos enzimáticos estándar correctamente clasificados sólo el 9% del estadio I y II y el 46% de cánceres del estadio III y IV.

Clínicamente existe una aparente aproximación radioinmunoquímica para la medida de la FAP humana que puede tener distinto potencial en el diagnóstico clínico de CP. (55)

## VALOR DEL NUEVO INMUNOENSAYO FLUORESCENTE PARA LA FA PROSTATICA HUMANA EN EL CP

Un nuevo inmunoensayo de fase fluorescente para FA prostática humana en CP ha sido evaluado. Esta técnica es rápida, cuantitativa y sensible. En más de 133 pacientes estudiados por el "Proyecto - Nacional de Cáncer de Próstata" se obtuvieron resultados positivos en pacientes con enfermedades - no metastásicas localizadas como se confirmó en - las pruebas clínicas, estadios quirúrgicos y una - inspección cuidadosa de todo el material de nódulo linfático. Esto puede ocurrir aún en pacientes del estadio A<sub>2</sub> y puede dificultar la clasificación de un determinado estadio. (56)

## RIE RAPIDO PARA LA FAP ESPECIFICA EN SUERO HUMANO

Se describió un RIE rápido para la FAP humana en suero, con el uso de antisueros monoespecíficos elevados en conejos contra la FA muy altamente purificada de las próstatas humanas y con una segunda precipitación de anticuerpo polietilenglicol. - Este RIE es sensible y puede llevarse a cabo en 5- horas. Las concentraciones de FA inmunoreactivas - en sueros de hombres saludables (n = 349) rango de 0.3 a 3.6 microgramos/lit (promedio 1.94, D.S. 0.66 microgramos/lit).

Las concentraciones de la enzima en sueros de hombres con hiperplasia prostática benigna (N = 24) eran idénticos a los del grupo de referencia. Las concentraciones de suero de FAP inmunoreactivas de pacientes con CP metastásico, no metastásico y - - oculto variaron de 1.7 a 9.3 (N = 9), 4.2 a 59.4 - (N = 12), y 20 a 198 (N = 10) microgramos/l, res-- pectivamente. La cantidad de FAP inmunoensayable - no cambió por lo menos durante 5 días de suero almacenado a 4°C. (57)

## FAP POR RIE - MARCADOR DE TUMOR EN MEDULA OSEA

La FA de médula ósea se determinó por RIE y - análisis enzimático en 95 pacientes con hipertro-- fia prostática benigna. 50 pacientes con CP disemi-- nado y 36 pacientes con mal no-prostático.

Los resultados indican especificidad superior del RIE. Se discute una breve revisión del tema y - las implicaciones clínicas. (58)

## COMPARACION DE 3 RIE PARA FAP

3 RIE comerciales y un ensayo enzimático para FAP han sido probados en 122 pacientes para determinar su especificidad relativa, sensibilidad y valor diagnóstico, se encontró que cada uno de los 3 RIE tenía méritos especiales.

Para distinguir la etapa IV del CP de pacientes normales sin enfermedad prostática, la Cía. - Smith Kline and French (S.K.F.) y New England Nuclear (N.E.N.), proveyeron diferencias más significativas. La prueba SKF también distingue los estadíos del CP de la hiperplasia prostática benigna - (BPH), pero es inferior al ensayo Malinckrodt para contrastar el cáncer del estadio IV de la hiperpla sia prostática benigna (BPH). Los valores obteni- dos con el ensayo NEW distinguen mejor los esta- díos del CP. Sólo con el ensayo Malinckrodt (MAL)- son significativamente altos los valores de FAP obtenidos con pacientes con metástasis de hueso que- aquellos sin exámenes positivos de hueso. No se puede distinguir por ninguno de estos ensayos los- estadios III y IV de pacientes que estaban reci- biendo estrógenos, de aquellos que no lo estaban recibiendo. (59)

## RADIOINMUNOENSAYOS DE SUERO COMBINADO Y DE MEDULA- OSEA PARA FA DE PROSTATA

Los radioinmunoensayos de suero combinado de médula ósea para FA proveen un medio único para el diagnóstico temprano y para un estadio clínico más aproximado de CP. La técnica de la discriminación-combinada parece ser útil, particularmente al pro-

veer una evaluación clínica de la presencia o ausencia temprana de una metástasis subclínica linfática o de una metástasis de médula ósea. Los títulos de elevaciones de médula ósea de FA prostática por RIE se han observado comúnmente en subestadios "C" de CP con exámenes de huesos, indicando la presencia del estadio D de la enfermedad no reconocida con metástasis de hueso. El método de discriminación combinado también es de valor clínico distinto en el diagnóstico temprano de CP y controlando los efectos de la terapia específica. En la respuesta de pacientes terapéuticamente marcados con supresión de suero y FA prostática de médula ósea, se observa regularmente con el método de radioinmunoquímico bajo estudio. (60)

#### FA DE MEDULA OSEA EN CP: UNA EVALUACION POR RIE Y METODOS BIOQUIMICOS

Las comparaciones de médula ósea y los valores de FA sérica obtenidos por CIE y la prueba de Roy se hicieron en 72 pacientes con CP y 13 pacientes sin CP. La prueba de CIE, cuando fue positiva en más de 1 U.I./lt mostró sólo 4.4% de resultados positivos. La prueba bioquímica Roy, en la cual se usa monofosfato de timolftaleína de sodio como sustrato, tuvo 65% de falsos positivos de niveles de médula ósea.

Los reportes conflictivos relacionados con el valor de las determinaciones de la FA de médula ósea en pacientes con CP resultan del uso de sustratos no específicos en métodos bioquímicos en los cuales el trauma de la aspiración de médula ósea libera muchas enzimas de FA no prostática. El

uso del inmunoensayo y la CIEF minimizan esta fuente de error. (61)

## EL VALOR PREDICTIVO DE LA FAP COMO UNA PRUEBA DE - DISCRIMINACION PARA CP

Salió un anuncio en varios periódicos, en el "Journal", "New York Times" que hablaban de que "con una prueba sanguínea puede evitar el CP" y acompañaban este artículo con una fotografía, estos artículos atrajeron la atención de los lectores y hubo una gran ola de entusiasmo, que causó que intervinieran las autoridades en Urología, diciendo al público que la utilidad del RIE para detectar el CP "estaba por determinarse", ya que estos estudios se hicieron sólo como "prueba piloto". Por medio de estadísticas se llegó a una fórmula que une 3 puntos clave: la especificidad, la sensibilidad y la prevalencia; el valor predictivo positivo que sirve para medir la habilidad de una prueba positiva para producir la presencia de la enfermedad. Los valores predictivos se calcularon en base a la prevalencia de 35 casos en una población de 100,000 (la incidencia de carcinoma clínico de la próstata en USA en 1964), y vienen además 2 preguntas en este artículo, con sus respuestas, bastante interesantes. (62)

## RIE RAPIDO Y COMPLETAMENTE AUTOMATIZADO DE LA FAP- EN SUERO

La FAP se purificó del semen humano y su pureza se estableció por criterios bioquímicos e inmu-

nológicos. Los conejos se inyectaron con la isoenzima purificada para elevar los antisueros específicos. La FAP se radiomarcó con  $^{125}$ I por el método de la cloramina T.

Nosotros desarrollamos un RIE completamente automatizado de doble Ac para medir la FAP en el suero de pacientes con CP y de varios grupos de control. El límite más bajo de detección del RIE fue de 2 microgramos de FAP por lt de suero.

Los valores para la mayoría de los miembros del grupo control fue de menos de 2 microgramos/l; los pacientes con C metastásico de la próstata tuvieron valores que iban de un rango de menos 2 a 300 microgramos/l de suero. (63)

## TEJIDO DE FA Y ALCALINA EN CARCINOMA PROSTATICO

20 pacientes admitidos con síntomas de obstrucción infravesical se estudiaron. 14 de estos pacientes sufrían de CP definido como inoperable. A los 14 pacientes restantes se les diagnosticó hiperplasia prostática benigna (BPH) y se les hizo a todos la resección transuretral (TUR).

Las muestras obtenidas por TUR se usaron para analizar actividades de tejidos de FA total y FA lábil al tartrato y F alcalina. Los niveles enzimáticos en el tejido se estudiaron usando métodos fluorimétricos. Los promedios estimados parecían variar en favor de la enfermedad maligna, sin embargo esta variación no encontró que fuera estadísticamente significativa.

Se observaron diferentes niveles de inhibi-

ción en tejido benigno y maligno con la adición de L-tartrato. Se encontró que los niveles promedios de la F alcalina eran menores que aquellos de FA, pero los precedentes mostraron que no había diferencia entre los grupos benigno y maligno. (64)

## 6.51 M E T O D O S E N Z I M A T I C O S

### UNA EVALUACION DEL METODO CINETICO DE FA.

Los autores han evaluado un nuevo método cinético de FA en el cual el sustrato es el alfa-naftil-fosfato. Este sustrato es altamente específico para la isoenzima prostática.

De ahí que, gran número de pacientes en los grupos siguientes se incluyeron en la evaluación: - 52 pacientes clínicos urológicos, 17 pacientes con uremia, 11 pacientes con mieloma múltiple y 231 pacientes que habían sufrido biopsias prostáticas. - 260 de estos pacientes se encontró que estaban libres de CP. De éstos, 7 tenían valores de FA que estaban arriba del límite superior de lo normal. - Cinco de estos 7 pacientes tenían diagnóstico de hiperplasia glandular fibromuscular. Un caso fue el de una mujer que tenía mieloma múltiple, y no era un paciente urémico. 15 de 17 pacientes que tenían cáncer metastásico de la próstata tenían actividades de la FA elevada, mientras que uno de los 24 pacientes que tenían CP, pero no evidencia de metástasis, tuvo un valor elevado. (65)

## FALTA DE UTILIDAD DE LAS ENZIMAS DE MEDULA OSEA Y DEL CALCIO PARA LA CLASIFICACION POR ESTADIOS DE LOS PACIENTES CON CANCER PROSTATICO.

La FA de médula ósea ha sido tomada como un indicador sensible de metástasis temprana de hueso de adenocarcinoma de la próstata. Con objeto de evaluar esta hipótesis, nosotros medimos la FA y alcalina de la médula ósea, la DHL y los niveles de calcio en un grupo de 84 pacientes con una variedad de problemas, incluyendo 18 con CP.

Se encontró que la FA y alcalina de médula ósea y la DHL se elevaron y el calcio disminuyó en la mayoría de los pacientes. Entre los pacientes con CP, la FA de médula ósea no era significativamente diferente de aquellas con o sin metástasis de hueso en adición, los pacientes con CP no tuvieron niveles más altos de FA de médula ósea que los sujetos con otras condiciones malignas, o no malignas. El nivel de FA y alcalina, la DHL y el calcio variaron con la técnica de aspiración usada y fue independiente del sexo, el estado de la enfermedad o método de determinación química.

Debido a esta variación, nosotros creemos que la enzima de médula ósea y niveles de calcio no son de valor en la detección de metástasis en pacientes con CP. (66)

## ESTADIO TEMPRANO DE CP INVESTIGADO EN UN GANGLIO LINFATICO PELVICO (BIOPSIA) Y FOSFATASA DE LA MEDULA OSEA.

Se hizo un estudio prospectivo para evaluar 47 pacientes con estadio temprano de CP. La linfa-

denectomía pélvica se combinó con la determinación de FA de médula ósea para evaluar la enfermedad temprana metastásica. 13 pacientes (28%) tuvieron tumores en los nódulos linfáticos pélvicos. En ningún momento estuvo la FA de médula ósea elevada a más de un valor normal sérico debido al sustrato usado.

El alto grado de tumores combinados pareció tener una incidencia aumentada de metástasis paránódulos linfáticos pélvicos. La linfadenectomía pélvica parece tener un papel bien definido en el estudio diagnóstico de CP de estadio temprano, mientras que las determinaciones de FA de médula ósea no fueron de ningún valor. (67)

## PRUEBAS ENZIMATICAS EN ENFERMEDADES DE LA PROSTATA

Las pruebas enzimáticas en enfermedades de la próstata enfocan primariamente el uso de ensayos séricos de FA en pacientes de los cuales se sospecha padecen adenocarcinoma de la próstata, o que ya se probó histológicamente que la tienen. El propósito de esta revisión es considerar varios usos potenciales clínicos del ensayo, examinar los datos que conciernen a la ejecución de la prueba en situaciones clínicas, y para definir esas situaciones en las cuales la prueba es actualmente útil.

Están incluidos en esta discusión fuentes de valores falsos positivos y falsos negativos, valores predictivos de la prueba en ejecuciones clínicas y esfuerzos para minimizar errores. (68)

## PATRONES ENZIMATICOS EN CANCER.

Se han revisado trabajos recientes del uso de ensayos enzimáticos séricos y de tejidos en diagnósticos primarios y después en el seguimiento del curso de la enfermedad. Estos incluyen el uso de la FA de médula ósea, isoenzimas de la FA y alcalina, la proporción LDH5/LDH1, sialiltransferasa y la combinación de Ag carcinoembrionarios con ensayos enzimáticos séricos para ayudar a la predicción de la incidencia de la metástasis hepática. (69)

### 6.52 METODOS INMUNOLOGICOS

#### ADENOCARCINOMA DE LA PROSTATA EN PERSPECTIVA

El adenocarcinoma de próstata es responsable de 1 de cada 9 muertes de cáncer en Canadá. En esta revisión de factores epidemiológicos se consideran sistemas de clasificación por grados. En el sistema urológico se recomienda una clasificación por grados debido a su capacidad para reflejar cambios en el comportamiento biológico de este neoplasma. La adopción de un esquema de clasificación cuantitativo se sugiere para complementar la información obtenida del ensayo. Se describen aquí las rutas de dispersión de esta enfermedad, así como los procedimientos usados para evaluar metástasis.

Los métodos inmunológicos para el análisis de la FAP han demostrado ser superiores a los métodos enzimáticos previamente usados, y se discute el papel de las nuevas técnicas. Se hace énfasis en la radioterapia y en la terapia endocrinológica para-

el tratamiento de este neoplasma, y el concepto de la terapia endócrina hasta que aparezcan síntomas. Se ven los futuros desarrollos potenciales de este campo. (70)

#### LINEAS DE CELULAS MA160 Y EB 33: CONTAMINANTES DE CELULAS HeLa, HIBRIDOS O CELULAS EPITELIALES PROSTATICAS.

Los estudios de FA producidos en líneas celulares MA 160 y EB33 demostraron su origen prostático inmunológico, más bien que las contaminantes - He La, las cuales pueden ser híbridos de células epiteliales prostáticas y células HeLa o líneas de células de próstata con cambios cromosómicos comunes a todas las líneas de células cultivadas de largo término. (71)

#### 6.53 RADIOISOTOPO

#### PAPEL DEL EXAMEN DEL HUESO EN LA EVALUACION DEL CARCINOMA DE PROSTATA

Se evaluaron 50 nuevos casos antes del tratamiento para determinar la incidencia de la metástasis de hueso. El examen de radioisótopo de hueso fue el método más sensible. Este estudio fue 2 veces más preciso que la estimación de la FA de suero. El estudio de rayos X fue el método menos preciso. (72)

## 6.54 RIE, LINEAS DE CELULAS

### MEDIDA DE LA FA PROSTATICA EN VARIAS LINEAS DE CELULAS.

En los últimos años, hemos desarrollado un RIE para medir la FA prostática humana. Este método que requiere muestras del suero del paciente, ha probado ser más preciso que el ensayo enzimático convencional para la detección de estadios tempranos de CP. Se usó el ensayo enzimático y el RIE para la cuantificación de FA prostática en células de líneas cultivadas prostáticas. No se pudo mostrar diferencia en la concentración de FA proveniente de células prostáticas y de otras líneas de células. (73)

### EB 33, UNA LINEA CELULAR EPITELIAL DE CARCINOMA PROSTATICO HUMANA: UNA REVISION

La línea de célula EB 33, se cultivó del tejido de un adenocarcinoma de próstata humana en Junio de 1973. Desde ese tiempo, los científicos han hecho esfuerzos en varios laboratorios para caracterizar esta línea por parámetros morfológicos, bioquímicos, endocrinológicos, genéticos e inmunológicos. La gran necesidad de una línea de células prostáticas, bien definidas para la experimentación inmunológica justifica una revisión completa del tema. (74)

HPC - 36: UNA LINEA DE TEJIDO DE CULTIVO EPITELIAL  
DERIVADA DEL ADENOCARCINOMA PROSTATICO -  
HUMANO

Se describió aquí el desarrollo de una línea de tejido de adenocarcinoma de próstata humana. El cultivo (HCP-36) derivado del tejido de un tumor, es puramente epitelial, con características de células neoplásicas. Estos incluyen un núcleo tamaño grande en relación con el citoplasma, los nucleolos múltiples dentro del núcleo, muchas figuras mitóticas, la formación de células gigantes multinucleadas y la pérdida de la inhibición de contacto. Se ve que las células teñidas positivamente han crecido en monocapas y en cultivos en suspensión. Las células HPC-36 se están estudiando en el presente para determinar si verdaderamente son descendientes de las líneas cancerosas. (75)

## IDENTIFICACION DE CELULAS EPITELIALES PROSTATICAS- HUMANAS MALIGNAS CULTIVADAS.

La identificación de clonas de células es necesaria para hacer experimentos con ellas. Este documento detalla un método para la identificación de células epiteliales prostáticas malignas humanas derivadas de depósitos metastásicos de CP por localización de un antisuero específico de conejo para la FAP humana en las células. (76)

## DESARROLLO DE UNA LINEA DE CULTIVO DE TEJIDO EPITELIAL DE ADENOCARCINOMA DE CANCER PROSTATICO.

Se describe aquí el desarrollo de una línea de tejido de cultivo de adenocarcinoma prostático humano. El cultivo (HPC-36), derivado del tejido del tumor, es un cultivo puro epitelial con características de células neoplásicas de gran tamaño - relacionado con la cantidad del citoplasma, nucleolos múltiples dentro del núcleo, muchas figuras mitóticas, la formación de células gigantes multinucleadas y la pérdida de inhibición de contacto.

Las células también se tiñeron positivamente para la FA y han crecido en cultivos de monocapa y de suspensión. Las células de HPC-36 están siendo estudiadas para determinar si hay verdaderos descendientes de células cancerosas. (77)

## AISLAMIENTO DE UNA LINEA DE CELULAS DE CARCINOMA - PROSTATICO HUMANO

Se estudió una línea de célula de tejido derivada de un adenocarcinoma de próstata humana metastásico en el cerebro. La línea celular, DU 145 posee células epiteliales que crecen en secciones aisladas en cajas petri de plástico, y forman colonias de cultivo en suspensión en agar. El análisis cariotípico demuestra un cariotipo humano con 64 - cromosomas. Al microscopio electrónico, el tejido del tumor original y la línea de célula de cultivo de tejido muestran una similitud en la estructura celular de los organelos. (78)

A CONTINUACION SE PRESENTAN LOS ARTICULOS REVISADOS EN LA LITERATURA QUE SE REFIEREN A LA METODOLOGIA DEL CANCER PROSTATICO.

## M E T O D O S   C O N T R A

### I N M U N O E L E C T R O F O R E T I C O S

#### DOS METODOS NUEVOS DIRECTOS Y ESPECIFICOS DE DETERMINACION DE FA.

##### ENSAYO DE CAMPO NACIONAL

Se llevó a cabo un estudio nacional de los ensayos nuevos específicos para FAP en el proyecto nacional de CP. En base a pruebas llevadas a cabo en diferentes instituciones, los resultados del estudio han confirmado que el método de CIEF es fácilmente reproducible, altamente específico y suficientemente sensible, se encontró también que es de mayor sensibilidad que los métodos bioquímicos convencionales para la detección del CP en sus estadíos tempranos.

El estudio nacional del RIE ha mostrado que, aunque es un método altamente sensible, podría no ser fácilmente realizado por un centro especializado, requiere asistencia técnica cara muy específica y por esto no puede hacerse extensiva a una población muy amplia. La CIEF se recomienda como el método preferido en la evaluación y diagnóstico de CP. La CIEF para detectar CP temprano es un método de discriminación prometedor pero aún está bajo estudio. (79)

#### CIE EN DETERMINACIONES DE FA PROSTATICA EN SUERO HUMANO

Se evaluó la CIE para medir la FA en la detecu

ción de CP. Después del marcado de la FA se pudo detectar 0.3 ng. de enzima purificada estándar, la cual forma un complejo con el Ac en esta técnica. Sin embargo, cuando las muestras de suero se usaron como antígeno, el método fue menos sensible (1.5-2.0 ng.) debido a que algunas de las proteínas del suero migran con la fosfatasa y disminuyen la intensidad del marcado de la FA.

Por esta razón no se pudieron detectar fosfatasas en muestras de suero de personas normales; sólo pacientes con actividad ligeramente aumentada en su suero mostraron resultados positivos, en contraste al RIE, en el cual se puede detectar 1.0 ng de fosfatasa de suero. (80)

#### COMPARACION DE ENSAYOS DE FA PROSTATICA

Un estudio prospectivo comparó 5 ensayos diferentes para FAP en la detección de C de la glándula prostática. Los ensayos incluyeron dos procedimientos de RIE, uno de CIEF y otro más, enzimático; usando sustrato de fosfato alfa naftol con y sin inhibición de tartrato de sodio. Se revisaron los expedientes de los pacientes del hospital y se dividieron en cuatro grupos: CP, hipertrofia prostática benigna, otros carcinomas (además del CP) y enfermedades no relacionadas (que se esperaba que dieran niveles de FA elevada). Los resultados se analizaron con respecto a la sensibilidad, especificidad, valor predictivo de un resultado positivo, valor predictivo de un resultado negativo, y eficacia de los ensayos. (83)

## MEDIDA INMUNOQUIMICA DE FA SERICA. EVALUACION CLINICA DE RIE Y CIEF

Se evaluaron 2 procedimientos de RIE (RIE 1 y RIE 2) para la cuantificación de la FAP en suero y se compararon con el método enzimático y el de - - CIEF por su especificidad y sensibilidad. Los sueros de 168 pacientes se analizaron y estos incluyeron: normales, pacientes de CP no tratado en el estadío A : 2, en el estadío C : 3, en el estadío D: 17, CP tratados con diferentes modalidades: 42, - sarcoma de la próstata: 1, prostatitis: 3, C no - prostático : 17, hiperplasia prostática benigna - (BHP) : 56. El procedimiento de RIE 1 pareció más-sensible (82% de morbilidad) y más específico - - (94.5% de especificidad) que el procedimiento RIE-2 (68% de sensibilidad y 91.8% de especificidad), - pero las diferencias no fueron significativas estadisticamente.

El método enzimático se encontró que era el - menos sensible (63.6% de sensibilidad) pero tam- - bién el más específico (100% de especificidad).

## TECNICAS BIOQUIMICAS E INMUNOLOGICAS PARA LA MEDIDA DE LA FOSFATASA ACIDA EN EL DIAGNOSTICO DE CP

Se describe aquí un procedimiento de CIEF para medir la FA. Se purificó la FA de la próstata humana; se obtuvo un antisuero monoespecífico en conejos de enzima purificada, con el antisuero específico y se utilizó una técnica química sensible de teñido. Un ensayo de CIEF se desarrolló para la detección de FAP, las isoenzimas de FAP en suero - se estudiaron por una técnica de enfoque isoeléct-

trico. (81)

### FOSFATASA ACIDA PROSTATICA HUMANA: III

Cuando la dilución seriada de la FAP estándar se reaccionó con cantidades constantes de suero anti-FAP por CIEF, la detección del punto final de la concentración enzimática fue de 0.25 ng en una muestra de 10 microlitros; las concentraciones de FAP en desconocidos pueden ser cuantificadas comparando la dilución y los puntos de referencia de FAP con las muestras prueba.

Los niveles de FAP en suero se determinaron por un RIE y CIEF usando muestras de suero de hombres y mujeres y de pacientes de CP y tumores no prostáticos. Se observó una excelente correlación entre los resultados de los dos ensayos. De acuerdo a los datos de RIE la concentración de FAP fue mayor de 0.4 ng por 100 microlitros, significativamente la acción del suero o médula ósea de FAP más allá del valor normal (valor normal 1.6 a 0.8 ng/100 microlitros). Así, el ensayo de CIEF será un método de discriminación confiable y simple para los niveles de FAP sérica en el diagnóstico clínico de CP. (82)

Sólo 69 de los especímenes se analizaron por CIEF, lo cual mostró sensibilidad del 87% y especificidad de 51.4%. Los falsos positivos se observaron más a menudo en pacientes con CP no prostático e hiperplasia prostática benigna. Las variaciones en especificidad de diagnóstico apoyado con ensayos inmunológicos sugieren la necesidad de caracterización de cada Ac específico. (84)

## ENSAYO CUANTITATIVO DE CIEF PARA FAP

Se desarrollaron dos ensayos cuantitativos de CIEF para detectar FAP sérica (FAP). Los ensayos - se distinguieron por CIEF - colorimétrica (CIEF-C) y CIEF densitométrica (CIEF-D). Un único rasgo de estos ensayos fue el uso de un estándar primario - para la cuantificación de FAP. La sensibilidad de los ensayos fue de 0.08 y 0.04 U.l. por litro para CIE-C y CIE-D respectivamente. Los coeficientes de precisión de variación y estudios de recuperación para 4 niveles de FAP sobre un período de 3 - meses han demostrado la confiabilidad de estos ensayos, nuevamente modificados. La actividad de FAP - en los sueros de pacientes con estadíos tempranos - de CP se demostró que eran normales por métodos - químicos convencionales y se encontró que eran eva luados por los métodos combinados en un número sus tancial. (85)

## M E T O D O S   C R O M A T O G R A F I C O S

### AISLAMIENTO DE LA FAP UNIDA A UNA INMUNOGLOBULINA- G DE SUEROS HUMANOS Y SU POTENCIAL PARA USARSE CO- MO REACTIVO LOCALIZADOR DE TUMORES

Una Ig humana que se une a la FA prostática - (FAP) se aisló del suero de individuos normales - por cromatografía de afinidad usando absorbente só lido PAP-Sepharose. La producción de la proteína - aislada llamada PAP-unión globulina (PAPBG) iba de un rango de 4.7 a 16.3 microgramos/l de suero. Como se mostró por la EEF, el PAPBG es una gamaglobu-  
lina de heterogeneidad electroforética restringi-  
da.

El PAPBG demostró que se unía al FAP por pre-  
cipitación de RIE, y se calculó una asociación ---  
constante de  $5 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ .

Como se determinó por inmunofluorescencia, la PAPBG demostró que reaccionaba con líneas de célu-  
las de tumor humano prostático. No se detectó - -  
unión con otras células de tumores examinadas, in-  
cluyendo los de cultivos de seno, tiroides, pán- -  
creas o fibroblastos normales. (86)

## M E T O D O S   E L E C T R O F O R E T I C O S

### ISOENZIMAS DE LA FA EN TEJIDO PROSTATICO HUMANO - NORMAL Y CANCEROSO

Los sobrenadantes de los homogeneizados de te jido humano prostático normal y canceroso se co ri er o n en un gel de poliacrilamida y se obtuvie-  
ron 2 bandas electroforéticas. Las proporciones de  
isoenzimas distinguibles electroforéticamente di-  
fieren en tejidos normales y en tejidos cancerosos.  
Las distinciones similares entre las isoenzimas en  
próstatas normales y cancerosas fueron observadas  
siguiendo la columna de separación cromatográfica  
y el foco isoeléctrico. La banda electroforética -  
puede separarse por cromatografía de columna de ce l u l o s a,  
de dietilaminoetil, o por foco isoeléctri-  
co dentro de 5 fracciones por lo menos con diferen-  
tes movilidades electroforéticas.

Se pudo encontrar diferencias entre tejidos -  
normales y cancerosos, entre estas subfracciones -  
de la banda electroforética que se mueve.

El análisis de gel de electrofóresis no mues-  
tra asociación entre estas fracciones después de -  
la separación cromatográfica o isoeléctrica de las  
fracciones de FA prostática.

Existen diferencias cuantitativas, pero no -  
cualitativas en isoenzimas de FAP en próstatas nor-  
males y en próstatas cancerosas. (87)

## ENSAYO DE LA APLICACION CLINICA DE LAS ISOENZIMAS- DE LA FA

La medida de las isoenzimas de la FA se recomienda como prueba de discriminación de rutina para pacientes cuya FA sérica es anormalmente alta, porque el estudio de las isoenzimas no sólo indica la presencia o ausencia de CP sino también si hay o no metástasis de hueso. Otros desórdenes tales como la enfermedad de Gaucher, diferentes tipos de leucemias y trombocitemias pueden también detectarse y distinguirse por esta técnica de discriminación. (88)

## M E T O D O S   H I S T O Q U I M I C O S

### DISTRIBUCION ALTERADA DE FA EN CELULAS PROSTATICAS NEOPLASICAS

Debido al problema bien conocido de diferenciación celular variable encontrado en la evaluación de CP por medio del microscopio electrónico, los estudios de ultraestructura histoquímica se han llevado a cabo para evaluar si una distribución alterada intracelular de FA es un índice más confiable de cambio maligno. Los resultados indican que la actividad de la FA no restringida a lisosomas es común en células malignas, y que puede ser un estadio intermedio de la liberación de la enzima dentro del suero. (89)

### LOCALIZACION INMUNOHISTOLOGICA DE FA PROSTATICA

Los antisueros demostraron (por precipitación y hemaglutinación pasiva) poseer Ac específicos para FA específica de tejido prostático que se han empleado para localizar esta isoenzima en la próstata por inmunofluorescencia indirecta.

Los antisueros específicos para FA prostática pueden permitir la identificación inmunohistológica de esta enzima, de ahí que sirve como un marcador biológico para CP metastásico, donde los estadios clínicos o histológicos del tumor primario permanecen cuestionables. (90)

## FOSFATASA ACIDA DE MEDULA OSEA EN CP. UNA EVALUACION POR METODOS DE INMUNOENSAYO Y BIOQUIMICOS.

Las comparaciones de los valores de la FA de médula ósea y FA del suero obtenidas por CIEF y por la prueba bioquímica Roy se hicieron en 72 pacientes con cáncer prostático y 13 pacientes sin cáncer prostático. La prueba de la CIEF, cuando es positiva en más de 1 unidad l/lit, mostrará sólo un 4.4% de resultados falsos positivos.

La prueba bioquímica Roy, la cual usa monofosfato de timolftaleína de Na como sustrato, tuvo un 65% de falsos positivos en niveles de FA de médula ósea. Los resultados dudosos relacionados con el valor de FA en médula ósea en pacientes con CP pueden deberse al uso de sustratos no específicos en métodos bioquímicos, y al trauma incidental al aspirar la médula ósea, la cual libera muchas enzimas de FA no prostática.

El uso del inmunoensayo, así como la CIEF minimiza esta fuente de error. (91)

## ESTROGENOS EN CP. EFECTOS EN ENZIMAS Y HORMONAS PO LIPEPTIDICAS

Pacientes con hiperplasia benigna de la próstata con C anaplásico tienen actividades similares en sus células para la tinción de la FA. Después de la terapia con estrógenos la FA es inhibida, la leucina aminopeptidasa y la succinato deshidrogenasa parece un reactivador en la célula de C anaplásico. El TSH sérico disminuye los niveles séricos de LH y los niveles de prolactina se elevan especialmente en pacientes con carcinoma anaplásico de

la próstata en comparación con la de los pacientes que estaban siendo tratados de hiperplasia prostática benigna. (92)

## INMUNOHISTOQUIMICA DE LA FA PROSTATICA

La FA humana cuando está elevada indica específicamente alteraciones en las células epiteliales prostáticas. Usando un método de tinción de inmunoperoxidasa para esta enzima, es posible identificar las células epiteliales prostáticas y reconocer el origen prostático de las lesiones metastásicas de CP.

En tejidos de 120 pacientes que contienen células epiteliales prostáticas, se observaron reacciones positivas solamente en 114 (95%) y las reacciones negativas en 6 (5%).

En tejidos no prostáticos de 242 pacientes, - la reacción débil de tinción, pero positiva se detectó en 8 (3.3%), incluyendo tejidos de una célula de carcinoma renal y 7 carcinomas de seno.

De los 27 pacientes cuyos tejidos de tumor - fueron probados cuando se desconoció el origen del tumor, la reacción de teñido fue positiva en 14 pacientes y se encontró más tarde que tenían CP. La reacción fue negativa en 6 pacientes con C no prostático y en 7 pacientes con carcinoma.

Aunque esta técnica inmunohistoquímica para - FAP parece prometedora en el diagnóstico de CP metastásico, su significado clínico y limitaciones - no están claras; hay problemas técnicos considerables que aún no se han resuelto.

Estos problemas son los que más se aproximan por esfuerzo de colaboración de varios investigadores interesados en CP. (93)

## UN PROCEDIMIENTO DE CONTROL (MONITOREO) AUTOMATIZADO PARA LA DETERMINACION DE LA ACTIVIDAD DE FA EN SUERO.

El método de Hillman, en el cual la hidrólisis del fosfato alfa-naftil por FA se acopla a la formación de un alfa-naftol-rápido Rojo TR azocompuesto, ha sido adaptado para usarse con el LKB - Produkter AB 8600 (analizador de velocidad de reacción). Los factores que afectan la reproductibilidad del método se describen y se muestra que su función es superior a la del procedimiento manual del fenil-fosfato. (94)

## FA DE MEDULA OSEA EN EL ESTADIO DE CP

### ¿QUE TAN CONFIABLE ES?

Para evaluar la confiabilidad de la FA de médula ósea y para clasificar por estadios el CP, se analizaron 50 muestras de médula ósea seleccionadas al azar del servicio de hematología. Las muestras que se ensayaron para cuantificar la FA por un método colorimétrico usando monofosfato de ti-moftaleína de sodio como sustrato, y por 2 ensayos inmunoquímicos desarrollados en nuestro laboratorio (CIE y RIE).

Se encontró un alto porcentaje (61%) de resultados falsos positivos en pacientes con varias enfermedades hematológicas, sin evidencia de CP por-

la evaluación colorimétrica. Todos estos pacientes, excepto uno, tuvieron ensayos inmunoquímicos negativos. En tanto no se desarrolle un ensayo específico para la FAP para uso clínico, se tiene la precaución de usar una simple elevación de FA de médula ósea como un indicador de enfermedad metastásica. (95)

#### EVALUACION CLINICA DE METODOS INMUNOLOGICOS PARA LA DETECCION DE FAP SERICA

Se hizo una evaluación de FA sérica a 3 grupos de pacientes, los cuales se hicieron por diferentes métodos; a un grupo se le estudió por medio de RIE, a otro grupo por medio de CIEF y el último por inmunoensayo enzimático, y tanto los métodos colorimétricos como los inmunoquímicos mostraron correlación. En el presente, no se observa ventaja de los métodos inmunoquímicos sobre el ensayo colorimétrico en este grupo de pacientes.

En un estudio ciego de 100 pacientes realizado para detectar aquellos con CP no sospechado, no se encontraron tales casos. En el último grupo de pacientes con CP localizado, clasificados quirúrgicamente por linfadenectomía pélvica, las únicas elevaciones de FA sérica se observaron en pacientes con complicaciones extraprostáticas. (96)

#### UN METODO INMUNOHISTOQUIMICO PARA LA DETECCION DE LA FAP

Un método inmunohistoquímico simplificado se desarrolló para identificar células prostáticas en

secciones de parafina para el diagnóstico de CP -- primario o metastásico. Por incubación de cada sección con un antisuero específico, seguido de incubación con una isoenzima de FA específica de la -- próstata.

El sitio de unión del Ac se visualiza por tinción para la actividad de la FA en las células epiteliales glandulares de la próstata y en las células de CP metastásico que involucra el nódulo linfático. El método presente es más simple y específico que el método indirecto de la inmunoperoxidasa previamente descrito. (97)

INMUNOHISTOQUIMICA DE LA FA EN PROSTATA HUMANA: -  
NORMAL Y PATOLOGICA.

CITOQUIMICA Y BIOQUIMICA DE FA. LA FA II

Se usaron 3 diferentes antisueros contra FAP- humana para demostración inmunohistoquímica directa e indirecta de la FA en muestras de tejido de niños y adultos normales, tejido prostático hiperplásico y carcinomatoso. Todos los antisueros se prepararon en conejos. El antisuero "A" se preparó de FA altamente purificada extractada de especímenes de autopsia.

El antisuero "B" fue un concentrado de un antisuero comercial usado en RIE y fué preparado de extractos purificados de fluido humano seminal. El antisuero "C" fué un antisuero conjugado de peroxidasa preparado de extractos purificados de fluido seminal humano. La especificidad de los 3 antisueros, se comparó usando diferentes métodos inmunohistoquímicos y tejidos.

Los resultados fueron comparables con el uso de los 3 antisueros, los cuales dieron sólo resultados de tinción ligeramente diferentes en tejido prostático. Los resultados de tinción en CP fueron solamente dependientes del título del antisuero - respectivo. Los carcinomas de acuerdo a un patrón de crecimiento, mostraron una tinción variable, pero siempre tuvieron inmunovariaciones positivas, y el título del antisuero fue suficientemente alto.- Se observaron diferencias en epitelios metaplásicos, atróficos e hiperplásticos.

La reacción más intensa se observó en glándulas atróficas: fue mucho menos intensa en el epitelio hiperplásico normal y en epitelio metaplásico-negativo o ligeramente positivo. (98)

## M E T O D O S I N M U N O L O G I C O S

### I N M U N O C I T O Q U I M I C O S .-

INVESTIGACION COMPARATIVA DE LA TECNICA INMUNOCITOQUIMICA DE LA AGREGACION MEZCLADA Y LA TECNICA DEPEROXIDASA INDIRECTA PARA LA DETECCION DE LA FAP - ESPECIFICA EN SECCIONES DE PARAFINA O PARAPLAST

Los resultados obtenidos con la técnica de peroxidasa indirecta para la identificación de la - FAP específica en formalina fija, material de autopsia (SUMERGIDOS) en parafina o en "paraplast", - se compararon con los resultados obtenidos con la técnica inmunocitoquímica de agregación mezclada.- Cuando se usa un antisuero monoespecífico se prefiere la técnica anterior. Sin embargo, cuando un antisuero monoespecífico no es accesible, se tie--

nen que balancear las ventajas de la técnica de -  
agregación mezclada inmunocitoquímica, contra las-  
desventajas de tener que preparar un antisuero mo-  
noespecífico necesario para la técnica de peroxidasa  
indirecta.

Ambos métodos aparecieron como positivos en -  
20 carcinomas prostáticos y en 36 metástasis de --  
carcinoma prostático. En el epitelio de las vesículas  
seminales y en los osteoclastos no podría de--  
tectarse FA con el antisuero. Se discute en el traba  
jo original una comparación de ambas técnicas, -  
así como diferentes tipos de pre-incubación para -  
disminuir el colorante de fondo no específico. - -  
(99)

#### ENSAYO INMUNOADSORBENTE DE FASE SOLIDA PARA FAP SER ICA.

Una medida de ensayo inmunoabsorbente de fase  
sólida para FAP de suero se ha desarrollado como -  
modificación del inmunofluoroensayo informado pre-  
viamente. Utilizando los Ac específicos anti-FAP -  
conjugados con CNBR -activado sepharosa 4B. La FAP  
de nuevo fue unida y separada de otras FA y proteínas  
de suero para la fase sólida anti FAP IgG se--  
pharosa 4B.

La actividad enzimática se cuantificó midien-  
do el producto enzimático hidrolítico, el alfa naftol,  
de una sol. estándar primaria, el procedimiento  
completo podría ser llevado a cabo en 4 horas.

La sensibilidad de este método fue de 0.22 -  
U.I./l de actividad enzimática o de 8,8 ng de FAP/ml  
de suero. El límite normal de FAP sérico se deter-

minó por este ensayo y se encontró que era de 0.4-2.4 U.I./l de actividad enzimática (1.6-9.6 ng de --proteína enzimática - ml de suero). La evaluación-clínica inicial mostró que 19 de 25 pacientes en --los estadios tempranos de cáncer y 12 de 14 pacien--tes con CP metastásico exhibieron un nivel enzimá--tico elevado (79%), como se comparó con sólo 6 y 8 pacientes, respectivamente (35%), por un método --químico convencional. (100)

#### APLICACION CLINICA DEL ENSAYO DE INMUNODIFUSION PA RA FA PROSTATICA

La caracterización bioquímica e inmunológica--de la FA en suero y en médula ósea se describió --así como la aplicación clínica del ensayo por inmu--nodifusión para la FAP. (101)

#### METODOS INMUNOELECTROFORETICOS

COMPARACION DEL ENSAYO INMUNOELECTROFORETICO DE --CONTRACORRIENTE CON LOS ESTUCHES COMERCIALES DE --RIE PARA MEDIR LA FAP.

Se evaluaron y compararon 5 equipos de RIE co--merciales con un estándar de CIEF para la medida --de FAP en suero. Los 5 RIE llevados a cabo rindie--ron la sensibilidad, estabilidad, precisión, linea--lidad, recubrimientos analíticos y valores espera--dos para la población normal masculina que había --descrito el proveedor. Ninguno de los RIE fue más--sensible clínicamente que el ensayo de CIEF, y ade--más éste estuvo de acuerdo con los resultados obte--

nidos por RIE en un 96% de las pruebas. Las proporciones de resultados positivos en pacientes con adenocarcinoma prostático confirmado aumentó con el progreso de la enfermedad. Las más escasas pruebas positivas en adenocarcinoma localizado (estadios A y B) sugieren el ensayo de CIEF, y los procedimientos de RIE son útiles para discriminar poblaciones no seleccionadas para adenocarcinoma de la próstata. El alto % de valores normales encontrados en aquellos pacientes clínicamente libres de enfermedad después del tratamiento es alentador y apoya el uso de inmunoensayos de la FAP para monitorear (controlar) el tratamiento de pacientes de CP. (102)

### METODOS DE INMUNOFLUORESCENCIA

#### INMUNOFLUORESCENCIA PARA LA FAP: APLICACIONES CLINICAS

Se usó una técnica de inmunofluorescencia indirecta para detectar células productoras de FAP para evaluar 12 biopsias de masas de tejido suave de CP posible metastásico. En 10 pacientes cuyas muestras variaban en grados de inmunofluorescencia se observaron dichas células, confirmando el origen del tumor primario.

Las muestras de 34 pacientes con CP se obtuvieron ya sea por prostatectomía radical o por resección transuretral de la próstata. Este método puede ser usado en el futuro en unión con otras técnicas, tales como receptores de andrógenos, para definir una población de pacientes cuya mayoría parecen responder al tratamiento hormonal. (103)

CAPITULO IV

PATOLOGIA

A CONTINUACION SE PRESENTAN LOS ARTICULOS REVISADOS EN LA LITERATURA QUE SE REFIEREN A LA PATOLOGIA DEL CANCER PROSTATICO.

## P A T O L O G I A

### FOSFATASA ACIDA EN MEDULA OSEA POR RIE

Se desarrolló un RIE de Ac y se usó para medir FAP en médula ósea. Se estudiaron 118 pacientes con CP y 50 con hiperplasia prostática benigna. Un aumento en los niveles de FAP en médula ósea se observó conforme aumentaba el estadio clínico de la enfermedad.

La evaluación de la FAP de médula ósea por RIE puede ser una valiosa ayuda para determinar el estadio clínico patológico de CP. (104)

### METASTASIS DEL PENE POR CARCINOMA DE PROSTATA

A un señor de 68 años con metástasis del pene se le diagnosticó CP. Se le dió Dietilestilbestrol. Inicialmente la metástasis se interpretó como carcinoma primario del pene, pero los hallazgos de biopsia indicaron un carcinoma espinocelular.

Las biopsias subsecuentes, sin embargo, mostraron el mismo patrón histológico al igual que el cáncer original de próstata. Dos años después se le efectuó la resección transuretral debido al adenocarcinoma.

Hasta 1976, cerca de 170 casos de metástasis en el pene se reportaron en la literatura. El pronóstico como regla es muy pobre. En el presente caso el fosfato de estramustine (Estracyt) parecía mejorar la salud general del paciente, pero no - -

afectó la metástasis del pene.

El paciente murió 18 meses después de que se demostró la metástasis. (105)

#### ADENOCARCINOMA PROSTATICO DE ORIGEN DUCTAL

Los adenocarcinomas que provienen de ductos - los y 2os prostáticos tienen rasgos histopatológicos distintos. La edad de los pacientes, los síntomas, los hallazgos de exámenes rectales digitales y la detección de FA y alcalina son similares a los de pacientes con carcinomas acínicos. Los - carcinomas de ductos secundarios pueden responder - menos a la manipulación endócrina y de daño más -- profundo que los carcinomas de ductos primarios. - El curso y la supervivencia de pacientes con carci - nomas ductales tratados conservadoramente son po -- bres. (106)

#### ANALISIS DEL FLUIDO PROSTATICO DE ENFERMEDAD PROS - TATICA.

Los estudios de fluido prostático tienden a - confirmar las observaciones piloto previas informa - das en las isoenzimas de LDH, habiendo una predomi - nancia de LDHV en pacientes con mal prostático. - También sugieren una disminución en la concentra - ción de FA y un aumento en la concentración de pro - teína en la presencia de CP. Estas observaciones - sugieren una alteración metabólica de la próstata - en presencia de CP. (107)

## RADIACION ONCOLOGICA. CANCER DE PROSTATA

El papel del tratamiento paliativo de la radiación en CP está bien reconocido. Cada vez se utiliza más la terapia de radiación definitiva en el manejo de cáncer avanzado de próstata.

El manejo óptimo del paciente requiere una evaluación cuidadosa por medio de un equipo multidisciplinario, para apoyar el diagnóstico y aplicar el tratamiento adecuado de acuerdo a los medios con que se cuenta.

Una radiación terapéutica definitiva puede usarse como tratamiento primario, o en el caso de que falle el tratamiento endócrino, y con residuo-postoperatorio o cánceres recurrentes. Técnicas parecidas pueden ser empleadas en el manejo del es tadío D de cáncer sistémico. La terapia de radiación es útil en el manejo de algunos estadios como el B y el C, localmente avanzado, no así en cánceres de próstata. (108)

C A P I T U L O V  
D I A G N O S T I C O

A CONTINUACION SE PRESENTAN LOS ARTICULOS REVISADOS EN LA LITERATURA QUE SE REFIEREN AL DIAGNOSTICO DEL CANCER PROSTATICO.

## A Y U D A · D I A G N O S T I C A

### CRISTALOIDES DE CP RELACION CON LOS CRISTALES DE BENCE-JONES

Estructuras cristaloides de proteína se encontraron que existían en el acini maligno de CP en un 23% de casos sistemáticamente revisados. Histoquímica e inmunohistoquímicamente, aparecen relacionados de manera cercana, si no idénticos a los cristales de Bence-Jones.

Se postuló que el epitelio prostáticos puede cortar enzimáticamente "corpora amilaceae" de una proteína parecida a la de Bence-Jones, la cual es sintetizada. Se postuló posteriormente que las células prostáticas malignas pueden carecer de la maquinaria enzimática necesaria para realizar ésta - con una acumulación resultante de cristaloides dentro de sus acini.

Los cristaloides prostáticos nunca se encontraron en glándulas benignas, con raras excepciones y después se limitaron a glándulas benignas - que aparecieron adyacentes al carcinoma. La presencia de tales cristaloides en secciones microscópicas de próstata pueden ser una ayuda diagnóstica para determinar la presencia de malignidad o de un estado pre-maligno. (109)

### EL EXAMEN DE HUESO Y LAS FOSFATASAS PLASMATICAS EN EL CARCINOMA DE PROSTATA

El estudio de hueso con Tc-Sn-HEDP, el examen

esquelético radiográfico y la determinación de F - ácida y alcalina del plasma fueron llevadas a cabo en una serie consecutiva de 90 pacientes no tratados que padecían de CP Tc-Sn-HEDP proveyó una imagen de hueso satisfactoria y conveniente. La adición del estudio de hueso al examen radiográfico - aumenta el % de detección de la metástasis de esqueleto en un 16%.

La radiografía aumenta la precisión del estudio de huesos identificando como falsos positivos - (debido a la enfermedad benigna) y a los estudios falsos negativos cuando hay una metástasis de hueso difusa sistemática.

Las pruebas de fosfatasas plasmáticas son - - pruebas menos precisas para designar un estadio de la enfermedad. Los datos de la FA basan la validez de los hallazgos en los estudios que han dado resultados positivos y negativos de rayos X.

Las anomalías del estudio de hueso debido a - depósitos secundarios generalmente preceden una - - elevación de Fosfatasa alcalina plasmática. (110)

#### EL SIGNIFICADO DIAGNOSTICO DE LA CREATINA SERICA - CINASA-BB ISOENZIMA EN EL ADENOCARCINOMA DE LA - - PROSTATA.

La utilidad relativa del diagnóstico de FA sérica total, la fracción inhibitoria de tartrato, - la FAP inmunoreactiva, y la isoenzima creatincinasa-BB se evaluaron en 30 pacientes con biopsia probada de adenocarcinoma de próstata. La FA total - y la inhibida por tartrato, medida por métodos quí

micos standard, se elevaron en 8 pacientes en el -  
estadio de la enfermedad. El método de RIE confir-  
mó estos valores anormales y también indicó la pre-  
sencia de FAP sérica en 3 pacientes adicionales. -  
La fracción electroforética de creatincinasa (CK)-  
sérica total en sus varios componentes isoenzimáti-  
cos mostró la presencia de la isoenzima CK-BB, en-  
8 pacientes. En 5 de estos pacientes la isoenzima  
detectable CK-BB, los valores de RIE para FAP fue-  
ron también elevados.

Los estudios histológicos de los tejidos pros-  
táticos revelaron que la presencia de CK-BB sérica  
fue invariablemente asociada con adenocarcinoma de  
próstata pobremente diferenciado. Los resultados-  
de los presentes estudios indican que:

- 1) Con medidas simultáneas de CK-BB sérica y FAP -  
inmunoreactiva, la confirmación de laboratorio-  
de CP puede ser obtenida en 50% de pacientes.
- 2) La determinación de FA total e inhibida por tar-  
trato con CK-BB y FA prostática inmunoreactiva-  
no aumenta la frecuencia del diagnóstico correc-  
to y
- 3) La presencia de la isoenzima sérica CK-BB es su-  
gestiva de adenocarcinoma de próstata pobremen-  
te diferenciado. (111)

LA PRESENCIA DE LA ISOENZIMA CREATINCINASA BB EN -  
PACIENTES CON CP.

La isoenzima de creatincinasa (CKBB) se detec-  
tó por electroforesis en cantidades anormales en -

muestras de suero de 11 de 46 pacientes del estadio D del CP. 13 de 46 pacientes del estadio D habían elevado valores de FA y 10 de estos 13 tenían valores elevados de CK-BB. Las elevaciones de CK-BB fueron menos frecuentes en estadios más tempranos de CP; en el estadio C: 0 de 35, en el estadio B: 1 de 26; en el estadio A: 0 de 3, y ninguno en un grupo de 35 con BPH y cáncer de vejiga. Los resultados de CK-BB por un RIE específico correlacionó bien con aquellos obtenidos por electroforesis en la mayoría de los casos.

Varios pacientes se siguieron clínicamente por un cierto tiempo y los datos de CK-BB se presentan para este intervalo. El origen del CK-BB aún no está claro, la isoenzima BB predomina en el tejido prostático y la CK-BB se encuentra en el miocardio del feto. El aumento de CK-BB en suero puede relacionarse con un aumento de esta enzima proveniente ya sea de la próstata o de una lesión metastásica, o puede representar una liberación de la enzima -- del tejido del tumor no diferenciado. (112)

#### EVALUACION DE MARCADOR MULTIPLE EN CANCER PROSTATICO HUMANO CON EL USO DE ANTIGENOS ESPECIFICOS DE TEJIDOS.

El Ag específico sérico de próstata y la FAP se evaluaron simultáneamente en 22 hombres saludables y en 29 pacientes con hipertrofia benigna, -- además en 192 pacientes con carcinoma de próstata en varios estadios, así como en 30 pacientes con diferentes tipos de carcinoma de próstata. Se utilizaron 2 clases de marcados, uno de tipo "sand-

wich" y otro unido a la enzima. Se hicieron ensayos de inmunoabsorción con el uso de reactivos específicos, antiséricos. Estos ensayos revelaron una discordancia entre los 2 marcadores; la expresión de estas 2 proteínas, bioquímica e inmunológicamente distintas, específicas de próstata, pueden reflejar diferentes aspectos en la biología del CP. Una prueba de combinación con el uso de 7.5 ng de Ag prostático y 15.5 ng de FAP/ml de suero, respectivamente, revelaron una velocidad de detección positiva de 58% de CP en el estadio A (7/12) y B - - (21/36), 68% de CP en el estadio C (19/28), 92% para CP en el estadio D (106/116), y sólo 10% para hipertrofia prostática benigna (3/29). Ninguno de los otros 52 neoplasias o controles saludables se registraron como positivos. Este estudio demuestra que una prueba de marcador múltiple de Ag específico de tejido puede ser valioso auxiliar en el inmunodiagnóstico del cáncer y puede ser una aproximación lógica y efectiva, a la luz de la falta de disponibilidad de marcadores de tumor específicos. (113)

#### EL USO DE ISOENZIMAS SERICAS DE FA Y ALCALINA COMO POSIBLES MARCADORES CUANTITATIVOS DE TUMORES DE CP

Se compararon los tumores de 98 pacientes con CP metastásico con las actividades de hueso (BAP) y las isoenzimas de hígado (LAP) de la fosfatasa alcalina y la FAT (ACP) y la FAP específica (PAP). - Se sugirió una asociación cuantitativa entre estos marcadores enzimáticos.

Se utilizó la radiografía como ayuda al diag-

nóstico en los casos de metástasis. Una elevación de FAP, en contraste con la ACP (FAT), puede preceder en el progreso de la enfermedad clínica en algunos pacientes, datos presentados en este informe han indicado que los niveles de estas enzimas varían con el grado de tumores involucrados, por eso los niveles enzimáticos pueden utilizarse como marcadores bioquímicos cuantitativos de metástasis de hueso y de hígado. (114)

#### MARCADORES BIOLÓGICOS EN DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO DE CARCINOMA

Hemos revisado varios marcadores de tumores - que sirven para una cura, son ahora clínicamente - útiles, involucran ensayos tecnológicos, y están - basados en casi toda la información disponible. - Estos incluyen, receptores de estrógenos para CP, - tirocalcitonina para cáncer medular de la tiroides, FA prostático para CP, alfafetoproteína para cáncer hepatocelular, y Ag carcinoembrionario para monitorear (controlar) cáncer de colon. Hemos considerado el uso potencial de la medida de proteasas - séricas y productos de degradación proteicos debido a su actividad como posibles áreas futuras de - desarrollo, y hemos explorado medidas del tejido - aril-hidrocarburo-hidroxilasa para identificar po - blaciones con riesgo de cáncer que resultan de carcinogénesis química. Es claro que el estudio de - marcadores de tumores está mejorando el cuidado de tumores en algunas áreas específicas y ofrece un - potencial excitante para el futuro. (115)

## RIE DE LA FAP DE MEDULA OSEA

El valor clínico de las mediciones de FAP en la punción de médula ósea de pacientes con adenocarcinoma prostático no se ha aclarado.

Usando un RIE para medir FAP, hemos evaluado este indicador potencial de metástasis oculta en 127 controles y en 300 pacientes con adenocarcinoma prostático. Las elevaciones del marcador de tumor se encontraron en 9%, 10%, 19% y 82% de pacientes en los estadios de adenocarcinomas B, C, D1 y D2 respectivamente.

El seguimiento clínico va de un rango de 7 a 43 meses (promedio 23 meses) fueron disponibles para 97 pacientes sin cualquier indicación inicial de metástasis de ensayo de hueso.

En este grupo, 11 pacientes han elevado los niveles de FA de médula ósea por RIE y 4 evidencias radiológicas de metástasis de hueso en 21-25 meses siguiendo el estadio inicial. Sin embargo, sólo 3 de los 86 pacientes con niveles normales de FA de médula ósea han desarrollado metástasis de hueso. Nuestros resultados indican que la medida de FAP de médula ósea por métodos inmunológicos tiene significado prostático. La dilución de la punción de médula ósea por sangre periférica, sin embargo, puede limitar la aplicación de esta técnica. (116)

## ESTUDIOS CONTRAINMUNOELECTROFORETICOS DE FA SERICA PROSTATICA.

Se describe un ensayo de CIEF para la determinación específica de FAP. La FAP se obtuvo de tejido humano prostático y el antisuero específico - de esta enzima se produjo en conejos y cabras. La menor actividad detectable de FAP fue de 0.3 UI/1- o 4 ng/0.1 ml. Este método de CIEF se comparó con un método estándar bioquímico (ROY) en un amplio - espectro de enfermedad prostática y no prostática. Las enfermedades no prostáticas y otros desórdenes asociados con hiperácidofosfatasemia por el méto - bioquímico se encontró que no era reactivo para la FAP por CIEF. Los pacientes bajo tratamiento con - varios estadios de carcinoma prostático no mostraron elevaciones comparables por ambos métodos - - (35%). En pacientes no tratados, la CIEF fue estadísticamente más sensible en el estadio A (39%) -- por CIEF y 14% por método químico. (117)

## EXPERIENCIA COMUN DE TECNICAS DE RIE PARA FAP PROS TATICA

Los datos que se presentan demostraron que -- las técnicas de RIE para medir la FAP sérica son - más sensibles que los métodos enzimáticos en la detección de todos los estadios de CP. 6320 hombres de 45 años se estudiaron por RIE de fase sólida para discriminar CP. En este grupo, 444 (7%) tuvieron valor elevado de las pruebas. Una revisión -- unológica de los pacientes con resultados elevados de las pruebas mostró que fueron 67 sospechosos de CP, de los cuales en 59 (88%) se confirmó por biop

si a prostática.

Estos datos sugieren que el RIE para FAP, como un procedimiento clínico aislado, no es suficientemente específico como prueba discriminatoria debido al gran número de resultados falsos positivos. Sin embargo, la prueba de RIE de FAP en combinación con el seguimiento de un examen urológico es específico y merece tomarse en cuenta como un medio de discriminación para mal prostático. (118)

#### DIAGNOSTICO DEL CP METASTASICO POR UN METODO DE INMUNOPEROXIDASA

Se describe un caso no usual de CP. La próstata y la metástasis mostraron adenocarcinomas con áreas parecidas a los carcinoides. En la punta -- del apéndice se encontró un tumor con los mismos rasgos histológicos y se probó que fue metastásico; sin embargo con la tinción de FONTANA-MASSON y la microscopía electrónica no se pudo confirmar esto.

La tinción de inmunoperoxidasa para FAP se hizo en la próstata y en la metástasis. Esta tinción es específica para tejidos de origen prostático.

El teñido fue positivo en las áreas de porción carcinoidea, indicando que no era un verdadero carcinoide, sino más bien un CP con un patrón parecido al carcinoide.

Aparentemente, este es el primer caso de CP metastásico que muestra áreas carcinoides positivas para la FAP. (119)

## PAPEL DE LA MEDICION DE LA FA EN EL MANEJO DEL CP

La FA sérica se midió en 155 personas, de las cuales 15 tuvieron CP y 110 estaban en condiciones normales, o en otras condiciones.

El ensayo no descubrió casos tempranos de CP, pero reveló pacientes con CP metastásicos.

El ensayo pareció ser valioso para los propósitos de clasificar por estadíos la enfermedad, -- así como método de descubrir pacientes con formas tempranas de CP. (120)

## FA DE MEDULA OSEA POR RIE: 3 AÑOS DE EXPERIENCIA

Se presenta el seguimiento clínico de 112 pacientes clasificados por estadíos, por medio de la determinación inmunoquímica de la FAP de la punción de médula ósea. Esto representa una cifra -- del 94% (112 de 118) de un grupo estudiado previamente durante más de 2 años. De los 11 pacientes que se juzgaron de alto riesgo, 4 (36%) habían sufrido metástasis de hueso. Sólo a 3 de 86 pacientes (3%) se les hizo RIE para medir la FA de médula ósea normal. Hubo 184 pacientes con C y 77 con troles.

Aunque el RIE en punción de médula ósea mejora la especificidad grandemente, pueden encontrarse algunos resultados falsamente positivos. Este hallazgo puede ser secundario para la reacción cruzada de FA de leucocitos y/o interferencia de lípidos. (121)

EL VALOR DIAGNOSTICO DE LA ESTIMACION RADIOINMUNOLOGICA DE LA FAP. VALOR COMPARATIVO DE LA MEDIDA DE LA ACTIVIDAD ENZIMATICA.

La estimación radioinmunológica de la FAP se llevó a cabo en 72 sujetos de referencia, 42 pacientes con hipertrofia prostática benigna, 106 pacientes con CP no tratado y 25 con un C de algún otro origen. La concentración promedio en suero no acidificado fue de 1.3/0.4 (MID.S.) ng/ml para el grupo de referencia y 1.6/0.8 ng/ml para el grupo de hipertrofia benigna. El límite superior de valores discriminatorios para el diagnóstico de CP se fijó en 3 ng/ml.

Tomando este valor, el tanto por ciento de resultados positivos para CP fue de 61% (65/106). El número de casos con un valor mayor de 3 ng/ml fue de 3/18 (17%) para el estadio A, 8/27 (30%) para el estadio B, 7/13 (54%) para el estadio C y 47/48 (98%) para el estadio D.

El 8% (2/25) de C de otro origen dieron un resultado positivo.

Se compararon los resultados de 34 C prostáticos no tratados (mezcla de todos los estadios) que dieron las técnicas radioinmunológicas con aquellos obtenidos por la medida de la actividad enzimática en la cual usaban para-nitro-fenil-fosfato como sustrato. Cuando las medidas de ambas técnicas fueron llevados a cabo bajo las mismas condiciones, usando sueros frescos tan rápido como fue posible en cuanto las muestras de sangre fueron tomadas, el resultado fue anormal en 10 casos de 12- (83%) por el método radioinmunológico y en 8 casos

de 12 (67%) para la medida de la actividad enzimática.

En contraste, bajo condiciones de rutina, el tanto por ciento positivo fue de 77% (17/22) para la técnica radioinmunológica y sólo 36% (8/22) para la medida de la actividad enzimática. De esta manera, parece que la medida radioinmunológica es más confiable que la medida de la actividad enzimática. (122)

#### HIDROXI-PROLINA URINARIA Y SERICA EN EL DIAGNOSTICO DE LA METASTASIS DE HUESO EN CP.

De 31 pacientes con CP, 21 con metástasis de esqueleto probado por scintigrafía y/o radiología. se comparó la sensibilidad y especificidad de la hidroxiprolina urinaria total y la hidroxiprolina -- urinaria, creatinina, hidroxiprolina libre sérica, fosfatasas alcalinas y prostáticas y calcio sérico. El cociente hidroxiprolina/creatinina es la medida más sensible para el diagnóstico de metástasis de hueso, mientras que la excreción de hidroxiprolina urinaria para 24 hrs. es la más específica. La hidroxiprolina libre sérica no tiene significado particular para este diagnóstico. Las fosfatasas ácida y alcalina son elevadas, pero no específicas. - (123)

#### DETECCION INMUNOLOGICA DE METASTASIS DE ADENOCARCINOMA PROSTATICO.

En 6 pacientes con adenocarcinoma prostático-conocido, el tumor metastásico extraprostático se-

sospechó en estudios radiográficos. Cuando el examen citológico de tejido obtenido por punción o -- biopsia no era de valor diagnóstico, se usaba gel de inmunodifusión radial para identificar la presencia de FAP en el tejido. 4 muestras demostraron la actividad de la FAP específica, sugiriendo el diagnóstico de adenocarcinoma prostático. La técnica es altamente específica y simple. (124)

#### ENSAYO DE HUESO EN SERIE EN LA EVALUACION DEL ESTADO Y CURSO CLINICO EN CP

En una serie consecutiva de 176 pacientes con CP, se comparó el examen de hueso con 99 MTC-EHDP o 99 MTC-MDP con el examen de reconocimiento por rayos X. La determinación de los niveles de FA y los síntomas clínicos.

La metástasis de esqueleto se presentó en un 24%. En estos casos metastásicos, el 27% presentaron radiografías negativas al tiempo del diagnóstico inicial, el 29% tuvo valores de FA sérica normal y 74% tuvo síntomas diferentes a los del esqueleto, lo cual dominó el cuadro clínico. Cuando el examen de hueso era negativo para la metástasis, tales lesiones nunca se detectaron en las radiografías. De ahí que, el ensayo de hueso fue suficiente para el diagnóstico inicial de metástasis de esqueleto en un 55% de los casos.

Las variables en densidad de cuenta en enfermedad metastásica fueron seguidos por evaluación visual de exámenes de hueso en serie.

Se desarrolló un método densitométrico para -

la cuantificación de las radiaciones como ayuda en la evaluación.

El examen de hueso en serie parece ofrecer en la práctica clínica, una ayuda para el control terapéutico. (125)

#### UNA EVALUACION DE PERFILES DE PROTEINAS SERICAS EN LA SUPERVIVENCIA DE LARGO TERMINO DE CP

Los estudios diarios y por grupos de CP han confirmado que muchas formas de terapia de estrógenos tienen un efecto profundo en los niveles de varias proteínas reactivas de la fase aguda (APRP).-- Esta acción supera cualquier respuesta de los APRPS a niveles que parecen ser independientes del control de estrógenos y su respectivo aumento o disminución se asocian con el progreso del tumor -- aún cuando el paciente esté saturado con estrógenos. (126)

#### EFFECTIVIDAD DEL RIE DE LA FAP HUMANA ESPECIFICA EN EL SURGIMIENTO Y DIAGNOSTICO DE LA TERAPIA EN EL CARCINOMA DE PROSTATA.

El RIE de la FAP humana específica y la medida de la actividad catalítica de FA usando para-nitrofenol fosfato como sustrato, se comparó con el diagnóstico y seguimiento de la terapia de pacientes con CP.

Se controlaron 17 pacientes sin metástasis y 8 con metástasis durante 12 meses. Se encontró la elevación de la actividad catalítica de FA (el lí-

límite superior para el valor de referencia fue  $\pm - 2(\text{D.S.})$ .

En 24% de los sueros de todos estos pacientes (N= 25), la concentración de FAP específica medida por RIE (el límite superior para el valor de referencia fue promedio + 3 (D.S.) y fue elevado en un 80% de estas muestras antes de la terapia. La medida radioinmunológica de la FAP fue más eficiente en la detección de CP.

En varias formas de tratamiento endócrino se detectaron efectos variables, más claramente por la medida de la actividad de la FAP inmunoensayable que por la medida de la actividad catalítica.

La actividad de la enfermedad durante varias formas de tratamiento endócrino de CP, es más notorio por RIE que midiendo la actividad catalítica. - (127)

## EL PAPEL DE RIE PARA LA FAP EN EL CARCINOMA DE - - PROSTATA

Existe una controversia considerable del papel exacto de la FAP en la investigación de pacientes con adenocarcinoma de la próstata. Con objeto de comparar diferentes ensayos clínicos estándar en una selección de pacientes y la clasificación de criterios debe ser aplicado en una base prospectiva.

Otras variables que pueden conducir a discrepancias en los resultados incluye las fuentes y la purificación del Ag así como la aproximación analítica del método inmunológico usado.

La aproximación estadística ha ilustrado la vana consecuencia de discriminación y población no seleccionada. Nosotros no hemos podido reproducir la alta sensibilidad, o especificidad reportada usando 3 diferentes RIE. De ahí que, a pesar de las ventajas de los métodos inmunológicos, nosotros no podemos recomendar la aplicación del RIE para la FAP para la discriminación de varones con adenocarcinoma de próstata.

En el presente, no puede ser ofrecida una explicación clara para la elevación de la FAP en pacientes con adenocarcinoma aparentemente localizado, pero puede ser de significado diagnóstico. Nosotros hemos encontrado marcada variabilidad en la producción de FAP por neoplasia, y los niveles normales de FAP en pacientes con carcinoma metastásico puede ser asociado con tumores de capacidad secretoria limitada.

Claramente, las limitaciones fisiológicas y metodológicas del RIE deberían reconocerse. (128)

#### EVALUACION INMUNOHISTOQUIMICA DEL CP ANTES Y DESPUES DE LA RADIOTERAPIA.

Los procedimientos inmunohistoquímicos fueron aplicados al examen de tejido humano para FAP.

173 tejidos neoplásicos y normales se probaron con antisueros contra FAP humana purificada. Las muestras de 45 carcinomas no prostáticos y sus tejidos normales respectivos fueron negativos. De 4 vesículas seminales estudiadas, 2 mostraron débil reactividad. Las células epiteliales de acini normal prostático fueron uniformemente positivas -

en 25 pacientes estudiados. En contraste con el te jido normal prostático, el acini maligno de 55 pa- cientes con CP tuvieron reacciones variadas, pero- positivas.

De pacientes que recibieron radioterapia para CP, se observó teñido variable en las células neo- plásticas de 24, 8 a 52 meses después del tratamien- to. La producción continuada de FAP en las células malignas después de la radioterapia sugiere que -- ellas también pueden mantener actividades metabóli- cas necesarias para su crecimiento y metástasis. - (129)

#### PREDICTORES DE LA DISEMINACION LINFATICA EN ADENO- CARCINOMA PROSTATICO: GRUPO DE ESTUDIO DE INVESTI- GACION URO-ONCOLOGICA.

Hubo 122 pacientes con biopsia probada de ade- nocarcinoma de la próstata y ensayo radioisotópico de hueso negativo, quienes fueron sujetos a la lin- fangiografía, determinación de FAP sérica, medida- del tamaño de la lesión, reciente clasificación pa- tológica de la biopsia del tumor primario y clasi- ficación de la disección del nódulo pélvico. El - propósito de este estudio fue determinar cuál de - estas variables sería la más aproximada en produ- cir la presencia o ausencia de nódulos positivos.- Los pacientes con una escala GLEASON de menos de 5 que tuvieron solo un 13% de posibilidad de tener - nódulos positivos, mientras que pacientes con una- alta escala de GLEASON de 9 a 10 tuvieron un 100%- de oportunidad de tener nódulos positivos. La lin- fangiografía del tumor de la lesión prostática y - la FA sérica no fue suficientemente precisa para - actuar como predictores de extensión lifática y ex- cluyeron la necesidad de clasificar por estadio la disección de los nódulos pélvicos. (130)

P R O S T A T A

Aunque más de 30 años han transcurrido desde los descubrimientos de Huggins y sus colaboradores, no ha sido elucidado un método efectivo para prolongar la supervivencia de pacientes con metástasis de CP. Un inconveniente significativo de nuestra comprensión de la enfermedad ha sido la incapacidad de predecir el comportamiento biológico del tumor en un paciente individual. Mientras que algunos pacientes con cáncer prostático sobreviven por largos períodos sin efectos aparentes de la enfermedad, otros sucumben al tumor dentro del espacio de unas pocas semanas. Más aún, de todos los pacientes con adenocarcinoma prostático, sólo el 60% a 70% responderán a la hormona terapéutica, y en aquellos que responden a la duración de respuesta varían de individuo a individuo. En varios sistemas de tumores inducidos experimentalmente, así como en cáncer de seno humano, se ha demostrado una clara correlación entre la respuesta hormonal y el receptor. Debido a que ha sido difícil de identificar el receptor andrógeno en el citosol de tejido prostático humano, tal conclusión no ha sido aún demostrada en el cáncer de próstata. Sin embargo, recientes investigaciones que utilizan el andrógeno sintético potente, metiltrienolona, parece indicar que el receptor puede ser fácilmente identificado en los núcleos de las células prostáticas. Si estos resultados preliminares se confirman por investigación subsecuente, el médico puede tener una sensible herramienta para predecir una respuesta hormonal del tumor individual. La cuan-

tificación del receptor androgénico puede proveer una indicación de la duración de la respuesta a la terapia o puede identificar aquellos pacientes en recaída que se beneficiarán por un tratamiento posterior endócrino. El descubrimiento de que los tejidos normales prostáticos pueden ser convertidos en tejidos neoplásicos por virus en ciertos sistemas experimentales, el descubrimiento y caracterización de los adenocarcinomas prostáticos espontáneos en la rata, y la sugerencia de que los carcinomas prostáticos humanos producen antígenos específicos de células superficiales que sean capaces de despertar respuestas inmunológicas en el huésped, todo indica nuevas posibilidades de conocimientos. Puede predecirse seguramente que el entendimiento y el manejo del cáncer prostático será revolucionado en un futuro cercano, cuando estos esfuerzos de investigación sean exhaustivos. (131)

C A P I T U L O   V I

D I A G N O S T I C O   Y   T R A T A M I E N T O

A CONTINUACION SE PRESENTAN LOS ARTICULOS REVISADOS EN LA LITERATURA QUE SE REFIEREN AL DIAGNOSTICO Y TRATAMIENTO DEL CANCER PROSTATICO.

## DIAGNOSTICO Y TRATAMIENTO

### FA DESPUES DEL EXAMEN DE LA PROSTATA.

Reportamos el efecto del examen rectal de la próstata y la resección transuretral de la próstata (TURP) en el nivel del suero de la FA lábil al tartrato (TLAP) en 18 casos normales, 31 con agrandamiento benigno de la próstata y 20 con carcinoma.

El examen rectal de la próstata no tuvo efecto en pacientes normales con TLAP, ni en aquellos con agrandamiento benigno, ni en aquellos con carcinoma, ni inmediatamente ni al día siguiente. La resección transuretral de la próstata (TURP) para las enfermedades benigna y maligna elevaron el TLAP transitoriamente con una rápida regresión a la normalidad. Creemos que no hay justificación para postergar una estimación de TLAP siguiendo el examen rectal. (132)

## T R A T A M I E N T O

### LA QUIMIOTERAPIA DEL ADENOCARCINOMA PROSTATICO.

Un cierto número de agentes quimioterapéuticos muestran una pequeña esperanza para un tratamiento paliativo de CP metastásico.

Aunque los patrones de enfermedad metastásica dan cifras de respuesta clínica difíciles de obtener e interpretar.

La DOXORUBICINA, la CICLOFOSFAMIDA, la DACARBAZINA (DTIC) y la CISPLATINA tienen actividad en pacientes en los cuales el tratamiento hormonal - convencional ha fallado. En la mayoría de los estudios se observó que los sobrevivientes respondieron a éstos y otros agentes quimioterapéuticos. Pero los grupos que no recibieron quimioterapia, no se mejoraron.

La terapia múltiple de la droga no ha demostrado ser mejor que una terapia a base de una sola droga. Los sueros y limitaciones de la FA como tumor marcador, así como dificultades particulares - para medir la respuesta del tumor en la enfermedad se detallan en el trabajo original. (133)

#### SIEMBRAS DE $^{125}\text{I}$ PARA CARCINOMAS DE PROSTATA RECURRENTES, DESPUÉS DE IRRADIACION EXTERNA CON RAYOS-X: RESULTADOS PRELIMINARES.

114 pacientes con CP localizado; después de la radiación externa con rayos X recibieron  $^{125}\text{I}$  siembras de  $^{125}\text{I}$  en Stanford entre los años 1975 y 1979. El control local clínico se obtuvo en 11 de 14 pacientes para períodos de observación del tratamiento de 6 a 36 meses. Ocho permanecieron sin evidencia de enfermedad, pero 2 de los 3 pacientes cuyos nódulos linfáticos pélvicos estaban involucrados por carcinomas, desarrollaron metástasis. Las complicaciones consistían en cistoproctitis, incontinencia urinaria o en el desarrollo de una fístula vesicorrectal, que se presentaron en 4 de los 14 pacientes. Se notaron estas complicaciones sólo en aquellos pacientes que tuvieron siembras -

de alta densidad  $I_{125}$  (mayor de 0.50 MCS) en volúmenes prostáticos grandes (mayores o iguales a 50-cc.)

No hubo complicaciones en pacientes que recibieron menor intensidad de  $I_{125}$  en siembras en volúmenes prostáticos menores.

Se concluye que las siembras de  $I_{125}$  pueden usarse en un segundo intento para obtener control local después de una recaída posterior a una irradiación. Se evita el uso de fuentes de  $I_{125}$  de alta intensidad. (134)

### DIETILESTILBESTROL DI-TRIMETILACETATO (DSTMA) UN - ESTROGENO DE LARGA DURACION

Una serie de ésteres de estradiol y dietilestilbestrol se prepararon como parte de un estudio de las relaciones de estructura-actividad en estrógenos. Entre los ésteres probados, el des-ditrimetil-acetato (DSTMP) exhibió la combinación más favorable de una dosis efectiva mínima y la prolongación del efecto en todos los grupos experimentales (ratones, ratas, perros) la toxicidad de DSTMA fue baja. Un ensayo clínico en 4 pacientes con C en los estadios III y IV mostraron que los niveles de dosis de DSTMA eran de 75 mg/día para períodos cortos, eran bien tolerados y no había síntomas tóxicos atribuibles a los efectos del estrógeno. (135)

## CAMBIO DE NIVELES DE FA PROSTATICA Y FA TOTAL SERICAS CON EL USO DE UN TRATAMIENTO HIPERGLUCEMICO EN PACIENTES CON CARCINOMA PROSTATICO.

Con el propósito de revisar la utilidad de la determinación de la actividad de las FA total y prostáticas séricas en pacientes con CP, se estudiaron 110 pacientes escogidos al azar, de los cuales 35 eran casos de cáncer no tratados a los cuales se les determinaron las actividades de ambas fosfatasas, después se aplicó el tratamiento hiperglucémico, se volvieron a determinar los niveles de las fosfatasas, encontrándose cambios por lo que se considera útil el tratamiento hiperglucémico como herramienta para el diagnóstico de los pacientes con CP. (136)

## CANCER DE PROSTATA TRATADO EN EL INSTITUTO DE RADIOTERAPIA ROTTERDAM

Los resultados de la terapia de radiación de pacientes con CP categoría T3-4NxMo se compararon con aquellos de la terapia hormonal sola o combinada con radiación externa. El tipo de indicadores primarios de existencia o amenaza de metástasis se han evaluado, así como también su aparición después del primer tratamiento y el período entre su aparición y el desarrollo de metástasis clínica. Estos datos y quizás los niveles de FA sérica de médula ósea anteriores al tratamiento podrían ser útiles en la selección del mismo. Dado que el daño debido a la irradiación ha sido mínimo, la radiación terapéutica debería preferirse en todos los pacientes propensos a accidentes cardiovasculares y en hombres saludables de más de 75 años. (137)

INHIBICION DEL TUMOR DE LA FA PROSTATICA HUMANA -  
 CON EL USO DE: N,N-p-DI-2-CLOROETILAMINOFENOL, - -  
 N,N-p-DI-2-CLOROETILAMINOFENILFOSFATO Y OTRAS MOS-  
 TAZAS DE NITROGENO DISFUNCIONAL.

Se describe la potencia inhibición de la FA -  
 de tejido prostático de carcinoma humano por N,N-  
 p-DI-2-CLOROETILAMINOFENOL (AMPh). Ciertas otras -  
 mostazas de nitrógeno disfuncionales también fue-  
 ron inhibitorias, pero el N,N-p-DI-2-HIDROXIETILA-  
 MINOFENOL, producto hidrolizado de AMOH no fue in-  
 hibitorio. La inactivación de la enzima por AMPH -  
 fue progresiva con el tiempo, mostró una aparente-  
 reacción de primer orden. Los resultados sugieren  
 que la incapacidad de la enzima para catalizar la  
 hidrólisis de AMPH fue debido a la inhibición en -  
 la presencia de AMPH, posiblemente involucra un me  
 canismo de alquilación. Las implicaciones para la  
 quimioterapia con AMPH se discuten. (138)

FA DE MEDULA OSEA: VALOR PRONOSTICO EN PACIENTES -  
 QUE SUFREN PROSTATECTOMIA RADICAL

Las determinaciones preoperatorias de FA de -  
 médula ósea se elevaron en 18 de 31 pacientes que  
 sufrieron prostatectomía radical. Una revisión de  
 la patología quirúrgica y un seguimiento clínico -  
 demostraron una alta incidencia de metástasis en -  
 estos pacientes. (139)

RESPUESTA DEL ADENOCARCINOMA METASTASICO DE LA - -  
 PROSTATA A LA TESTOSTERONA EXOGENA.

En una revisión retrospectiva, la respuesta -  
 de 67 pacientes con adenocarcinoma metastásico de-

la próstata a la administración de testosterona exógena. De 52 pacientes se evaluaron 45 respuestas desfavorables. Hubo una rápida regresión de las respuestas más desfavorables con el retiro de la testosterona. La duración del tratamiento requirió evocar una respuesta que se relacionó con el estado clínico del paciente. El 36% presentó remisión después de la terapia endócrina y el 94% presentó recaída sintomática después de la terapia endócrina de respuesta de experiencias desfavorables a los 30 días del tratamiento. No hubo pacientes que tuvieran evidencia objetiva de la regresión del tumor durante la terapia de la testosterona, pero 7 pacientes, 6 con remisión y uno no tratado, experimentaron beneficio sintomático. Nosotros concluimos que la respuesta de pacientes con CP metastásico a testosterona exógena está relacionado con la masa y el estado del tratamiento endócrino, y que la testosterona exógena puede estimular neoplasmas prostáticos que proliferen en la ausencia de niveles normales de testosterona endógenos. - - (140)

#### COMPARACION DE HIDROXIUREA, METIL-CLOROETIL-CICLOHEXY-NITROSOUREA Y CICLOFOSFAMIDA EN PACIENTES CON CARCINOMA AVANZADO DE LA PROSTATA

Este es el 5° ensayo clínico completado al azar del Proyecto Nacional de CP.

Hubo 125 pacientes con CP en el estadio D con firmado clínica e histológicamente con recaída para recibir la hidroxurea, metil-cloroetil-ciclohexy-nitrosourea-1-ciclofosfamida. Todos los pacien-

tes habían recibido la terapia hormonal previa y - habían fallado.

Los pacientes cuya enfermedad progresó después de 12 semanas en la terapia inicial fueron tomados al azar para recibir una droga alternada. Hubo 98 pacientes disponibles para la comparación de los tratamientos.

Las respuestas objetivas incluyeron pacientes con regresión completa o parcial así como la enfermedad estable. Las velocidades de respuesta fueron del 35% para la ciclofosfamida, 30% para metil-cloroetil-ciclohexynitrosourea y 15% para hidroxiurea. Los parámetros de respuesta subjetiva incluyeron una disminución del dolor. Una 5a. parte de los pacientes mejoraron en cada área de tratamiento.

El metil-cloroetil-ciclohexynitrosourea y la hidroxiurea mostraron actividad en pacientes de CP avanzado, pero a un costo de excesiva toxicidad. - La ciclofosfamida continúa siendo el agente activo más simple en este tipo de pacientes, particularmente con relación a la duración de la respuesta y la supervivencia. Hubo una ventaja demostrable estadísticamente para la ciclofosfamida sobre la hidroxiurea y una ventaja sobre la metil-cloroetil-ciclohexynitrosourea en supervivientes. (141)

#### TRATAMIENTO SISTEMICO DEL CP AVANZADO: DESARROLLO DE UN NUEVO SISTEMA PARA UNA RESPUESTA DEFINITIVA.

La baja incidencia de metástasis medible o -- evaluable en pacientes con CP da una idea de la dificultad de respuesta o reacción. Esto es particularmente cierto en pacientes con metástasis de hueso.

Con un modelo digital es posible medir cuantitativamente el examen de radioisótopos de hueso y el área total de la metástasis de tumor del esqueleto. Las definiciones y los criterios de respuestas en hueso han sido derivados de este modelo. Estos criterios han sido comparados con las determinaciones de FA y el estado clínico en un estudio de 44 pacientes con CP avanzado tratado con fosfato de estramustina, habiéndose efectuado exámenes de hueso cuantitativos en serie, evaluaciones clínicas repetidas y medido los niveles de FA en serie. Se propone un sistema para definir la respuesta a la terapia sistemática que es aplicable a la mayoría de los pacientes con CP metastásico. (142)

#### EL EFECTO DE LA MANIPULACION DE LA GLANDULA PROSTATICA EN FAP SERICA ESPECIFICA MEDIDA POR RIE.

Se investigaron los efectos de la palpación digital prostática, se realizó citoscopia y biopsia de la próstata y se midió la actividad de la FAP sérica por el método de RIE. Las concentraciones séricas de FAP en pacientes con próstatas hiperplásicas o normales, no excedieron el límite superior de nuestra referencia (4 microgramos por litro) después de las 48 horas de la palpación digital prostática.

Las concentraciones de FAP sérica no aumentaron significativamente en pacientes con próstatas carcinomatosas después del examen digital de la próstata. La FAP sérica aumentó en pacientes con hiperplasia prostática benigna inmediatamente después de la citoscopia de la biopsia de la próstata. No hubo variación diurna en las concentraciones de

FAP sérica durante el seguimiento clínico de 48 horas, ni se detectó variación en los grupos de pacientes con próstatas normales, hiperplásicas benignas o carcinomatosas no sometidas a examen rectal. (143)

### IMPLANTACION DE PASTILLAS SUBCUTANEAS DE ESTRADIOL EN EL MANEJO DEL CP AVANZADO

30 pacientes con CP no tratado previamente en el estudio C y D se trataron con pastillas de estradiol implantadas subcutáneamente en un esfuerzo por determinar la eficacia de este tipo de terapia en el control de CP avanzado.

Antes de iniciar la terapia se obtuvieron los niveles de suero de la gonadotropina, testosterona y estradiol a intervalos de una vez al mes posteriormente. Se observaron 28 pacientes durante un año, 16 pacientes se castraron hormonalmente a las 6 semanas después de la implantación de la pastilla. En estos 16 pacientes, los promedios del nivel de testosterona en suero fueron de 43.6 ng/dl.

22 pacientes se castraron hormonalmente a los 12 meses, siguiendo la implantación de 1 ó 2 pastillas. Esta castración hormonal fue hecha con una hormona luteinizante (LH) de 13.3 mIU/ml, y un estradiol sérico de 19.2 ng/dl. En este grupo, el nivel promedio de testosterona fue de 51.5 ng/dl, con un LH sérico de 16.2 mIU/ml y un estradiol sérico de 22 ng/dl.

15 pacientes que estaban tomando narcóticos para quitar el dolor, quedaron libres del dolor o tuvieron una marcada disminución al tomar analgésicos.

Hubo un aumento de peso en un 86% de pacientes. La implantación de pastillas fue a intervalos de 4 a 10 meses, con un intervalo promedio de 5.85 meses entre las implantaciones. Las complicaciones atribuibles en la terapia que se da en estos casos fueron mayores que las que producen las pastillas de estrógenos implantadas, las cuales parecen dar un método seguro, confiable y efectivo del control del tumor y fueron además un paliativo en el tumor avanzado de CP. (144)

**C A P I T U L O   V I I I . -   T E R A P E U T I C A**

A CONTINUACION SE PRESENTAN LOS ARTICULOS REVISADOS EN LA LITERATURA QUE SE REFIEREN A LA TERAPEUTICA DEL CANCER PROSTATICO.

T E R A P E U T I C A

## CICLOFOSFAMIDA VS LA COMBINACION DE ADRIAMICINA 5-FLUORACIL Y CICLOFOSFAMIDA EN EL TRATAMIENTO DE - CANCER METASTASICO DE PROSTATA.

Se hizo un estudio al azar con 27 pacientes - que tenían un diagnóstico de adenocarcinoma metastásico de próstata. Se hizo un ensayo prospectivo con ciclofosfamida o una combinación de adriamycin, 5-fluorouracil y ciclofosfamida.

Las dosis fueron las siguientes: con ciclofosfamida sola (800-1200 mg/m<sup>2</sup> 1 a 3 semanas) o ciclofosfamida (150-200 mg/m<sup>2</sup> Día 3-6) más 5 FU (400-500 mg/m<sup>2</sup> Día 1, 8) más Adriamicin (30-50mg/m<sup>2</sup>-Día 1) dado en tratamiento por un ciclo de 4 semanas. Los niveles más bajos de dosis fueron para los pacientes enfermos de médula ósea. La enfermedad "objetivamente estable", como se definió por una modificación de los criterios del Proyecto Nacional de CP se vió en un 53% de los pacientes tratados con 15 ciclofosfamida y en un 50% de los 12-pacientes tratados con la combinación de medicamentos.

Sin embargo, la supervivencia de los pacientes que respondieron a la ciclofosfamida fue significativamente más larga que, la de pacientes que responden a la combinación (mediana 18.6 meses vs. 8.1 meses  $p > 0.05$ ).

La toxicidad gastrointestinal y hematológica fue moderada en ambos regímenes. De ahí que, en el presente estudio, la ciclofosfamida fue tan efectiva como la combinación de ciclofosfamida, 5FU y -

adriamicin para pacientes con CP diseminado.

La toxicidad hematológica moderada en ambos regímenes sugiere una evaluación posterior en combinaciones de drogas que utilizan dosis más altas de agentes activos en esta enfermedad. (146)

### LINFADENECTOMIA PELVICA PARA GRADUAR EL CARCINOMA-PROSTATICO. ¿ES SIEMPRE NECESARIO?

Hubo 100 pacientes con CP localizado clínicamente y clasificado quirúrgicamente por estadíos - (etapas) para la evaluación de metástasis de nódulo linfático. Correlacionando la incidencia de metástasis de nódulo linfático con el nivel de FA sérica, y el estadío y grado del tumor primario, fue posible identificar un grupo de pacientes con menos del 18% de incidencia de metástasis de nódulo linfático y otro grupo con más de 92% de incidencia de nódulo involucrado.

Es en estos 2 grupos de pacientes en donde la linfadenectomía pélvica pueda no ser necesaria para la clasificación de CP. (147)

### RESULTADOS DEL TRATAMIENTO DEL ESTADO III DEL CARCINOMA DE SENO POR RADIACION TERAPEUTICA PRIMARIA.

116 pacientes en el estadío III del cáncer de seno se trataron por radiación terapéutica primaria. Las sobrevivientes de 5 años y los sobrevivientes libres de recaída fueron de 25% y 22% respectivamente. La probabilidad matemática de 5 años del control tumoral local para todo el grupo fue -

del 64%. En pacientes que sufren una biopsia escisional y en transplante intersticial del área primaria del tumor, el control local fue del 100%.

En pacientes que tenían una biopsia escisional o transplante, la probabilidad matemática del control local fue del 77% y 76% respectivamente, - en contraste, en pacientes que no tenían ni biopsia escisional, ni transplante, el control local fue solo del 41%. En pacientes que reciben una dosis total de más de 6,000 radiaciones, del tratamiento externo con rayos más un transplante intersticial, el control local fue del 78%, comparado - con el 39% en pacientes que reciben una dosis total menor de 6,000 radiaciones. Cuarenta y un pacientes recibieron algún tipo de terapia auxiliar.

Los sobrevivientes de control local y libres de recaídas mejoraron en pacientes que recibían - quimioterapia como único adyuvante y en pacientes que recibían quimioterapia combinada con un procedimiento endócrino. Sin embargo, los pacientes tratados con sólo un procedimiento endócrino, no tuvieron mejoría en el control de supervivencia, ni en el control de la lesión local. Estos resultados indican que la radiación terapéutica primaria puede proveer un control local en una alta proporción de pacientes en el estadio III de C de seno y sugieren que la quimioterapia de pacientes es efectiva para mejorar el control de la lesión local y la supervivencia de estos pacientes. (148)

## TRATAMIENTO DE CARCINOMA PROSTATICO CON ACETATO DE CIPROTERONA.

16 pacientes con CP se trataron con 200 mg de acetato de ciproterona diariamente. No se administró ningún otro tipo de tratamiento hormonal. Se observaron metástasis en 6 pacientes, mientras que la reducción significativa de metástasis tuvo lugar en 2 pacientes.

La estranguria se observó sólo en 3 pacientes. La cantidad de orina residual aumentó en 3 pacientes y se redujo en 5.

En 1/3 de los pacientes, la glándula prostática se hizo más pequeña y más suave. Los niveles de FA disminuyeron de un estado patológico a los valores normales en 7 pacientes. No hubo efectos colaterales hepáticos, ni renales ni hematológicos. Sin embargo, serias complicaciones cardiovasculares ocurrieron en los pacientes y se desarrolló hipertensión arterial en 4. Esto sugirió que el acetato de Ciproterona no puede ser recomendado como el único tipo de tratamiento hormonal de C.P. (149)

## TRATAMIENTO DE CP AVANZADO CON FOSFATO DE ESTRAMUSTINA.

El tratamiento de Estramustina (Estracyt) se usó en el tratamiento de 154 pacientes con C.P. en el estadio IV.

A 63 pacientes se les dió Estracyt del tratamiento del grupo primero, y 91 habían recibido previamente otra terapia endócrina (tratamiento del -

grupo secundario). Todos los pacientes se observaron por más de un año. La droga se les administró oral o intravenosamente. Las remisiones objetivas ocurrieron en 46% (73%) de 63 pacientes en el grupo del tratamiento primario y remisiones objetivas en todos los objetivos y en 12 pacientes adicionales (92%).

Las cifras correspondientes para el grupo - del tratamiento secundario fue de 28 (30.7%) y 52- (57.1%) de 91.

Los efectos colaterales eran despreciables, y la droga fue bien tolerada. No hubo efecto acumulativo en pacientes que habían recibido el tratamiento por más de 5 años. En nuestra opinión, el compuesto es valioso en el tratamiento de C.P. (estadio IV). (150)

#### EFFECTO DE LA TERAPIA DE ESTROGENOS EN CARCINOMA METASTASICO DE LA PROSTATA

41 pacientes con carcinoma metastásico de la próstata (estadio IV) se trataron con dietilestilbestrol o con orquidectomía bilateral o ambas y se se guido por un período de 2 años.

El efecto del tratamiento se determinó cada 6 meses y se basó en la palpación, los efectos del dolor, síntomas obstructivos, metástasis ósea, nivel de FA prostática sérica y en la evaluación clínica total del paciente. La orquidectomía bilateral fue tan efectiva como una combinación de orquidectomía bilateral y terapia de dietilestilbestrol.

El dietilestilbestrol dado solo fue menos efectivo. Los resultados más pobres obtenidos fueron atribuidos a la falla de muchos pacientes a adherirse estrictamente a su régimen de estrógenos. (151)

#### FASE AGUDA DE PROTEINAS REACTIVAS DE CANCER DE - - PROSTATA.

Un perfil de fase aguda de proteínas, ha sido estudiado en pacientes con C.P. como una ayuda al diagnóstico por estadíos y control de terapia. Un análisis de la función discriminante lineal que incorpora la FA, prealbúmina alfa-I-antitripsina, alfa-I-ácido glicoproteína y haptoglobina, permite la identificación correcta de enfermedad metastásica en 88.6% de pacientes. El perfil puede también servir para aumentar otros parámetros en la evaluación del efecto fisiológico del tratamiento estrogénico y muestra si la medicación prescrita está siendo tomada.

Se recomienda la palpación digital rectal de la próstata, así como una estimación del nivel de FAP sérica, que se recomienda en países en desarrollo para todos los pacientes de más de 50 años vistos en el hospital. (152)

#### OBSTRUCCION URETRAL DE C.P.: RESPUESTA A LA TERAPIA ENDOCRINA Y DE RADIACION.

La obstrucción uretral se presentó en 10% de los pacientes tratados por C.P., y la mayoría a menudo se asociaron con tumores diferenciados pobre-

mente. Se evaluó la respuesta de la obstrucción uretral a diferentes formas de la terapia.

La obstrucción disminuyó en 22 de 25 pacientes orquiectomizados (88%), pero sólo en 1 de 6 pacientes que reciben terapia de estrógenos o antian<sup>dr</sup>ógenos solamente (17%). Los pacientes que respondieron favorablemente a la terapia tuvieron una su pervivencia significativamente mejor que la de - - aquellos que no respondieron a la terapia.

Los pacientes tratados tempranamente en el curso de la obstrucción uretral, respondieron mejor que aquellos tratados en el período tardío, - mientras que ningún estadio del tumor ni ningún grado se correlacionó con respuesta a la terapia.

La radiación terapéutica para obstrucción uretral resistente a la terapéutica endócrina fue - - efectiva en sólo 2 de 8 casos (25%).

Se revisó la literatura de la obstrucción uretral de C.P. y su tratamiento. (153)

## EFECTO DE LA PEPLEOMICINA EN EL C.P. UN REPORTE - PRELIMINAR.

A. pacientes que ingresaron con C.P. usando pepleomicina, un análogo de la bleomicina, administrada intramuscularmente en una dosis total de 120 mg, 2 pacientes tuvieron una mejoría objetiva que duró 3 meses. También se observó una mejoría subjetiva en un paciente. Los principales efectos colaterales fueron molestias gastrointestinales, síntomas dermatológicos y fiebre. Sin embargo, la fibro

sis pulmonar, como complicación conocida de terapia de la bleomicina, no pudo encontrarse. (154)

#### TERAPIA DE CICLOFOSFAMIDA-PREDNISOLONA EN CARCINOMA PROSTATICO

La terapia de ciclofosfamida y prednisolona - se dió a 83 pacientes con C.P. diseminado resistente a las hormonas.

En 7 casos, hubo signos objetivos de regresión de metástasis. Se observó la reducción significativa de la actividad de la FA elevada en 11 casos, en 2 de ellos su valor fue normal, 55 pacientes experimentaron alivio de dolor, 26 de ellos se sintieron muy bien. En la mayoría de los casos, la duración de la remisión fue menor de 6 meses, en 2 casos duró más de un año. (155)

#### TERAPIA DE FOSFATO ESTRAMUSTINA EN CARCINOMA POBREMENTE DIFERENCIADO DE LA PROSTATA.

90 pacientes con C.P. diferenciado pobremente han sido tratados con fosfato de estramustina (Estracyt). 17 de ellos que tuvieron metástasis clínica no habían tenido previa terapia.

A 73 se les dieron inicialmente estrógenos y la radiación.

La respuesta objetiva se observó en un 59%. - El mejor efecto se vió en pacientes que no se trataron principalmente. (156)

## LA IMPORTANCIA DE LA CATEGORIA ESTABLE PARA PACIENTES TRATADOS CON QUIMIOTERAPIA EN C.P. AVANZADO Y DE RECAIDA.

Las categorías de la respuesta objetiva a la quimioterapia para 460 recaídas avanzadas de C.P. en pacientes evaluados en los primeros 4 ensayos clínicos al azar del Proyecto Nacional de C.P. se comparó con sobrevivientes y otros pacientes.

Los criterios de respuesta mostraron pacientes con sobrevida, mejorados claramente y otras condiciones de enfermedad relacionadas con aquellos designados como progresión de sobrevivientes, los cuales fueron similares a la regresión parcial de pacientes, a pesar de que hubo una reducción más frecuente de tumores primarios y una mejora subjetiva en el estado de funcionamiento, dolor y peso corporal en estos pacientes de regresión parcial. Consecuentemente, sentimos que en estos estudios la categoría estable es válida y útil para determinar la eficacia del tratamiento en pacientes con CP avanzado. (157)

## PROGESTAGENOS EN CANCER DE PROSTATA

Se trató una serie de 20 pacientes con un diagnóstico histológico de CP con altas dosis de MAP (alfa-metil-17-alfa-acetato de hidroxiprogesterona). No hubo respuesta en 9 pacientes con CP en recaída.

La respuesta subjetiva se notó en 6 de 11 pacientes, los cuales no se trataron en el tiempo -

del diagnóstico. (158)

#### EL SIGNIFICADO DE LA FA DE MEDULA OSEA EN PACIENTES CON CP

Los niveles de FA total y l-tartrato se estudiaron en 49 pacientes con CP. Los resultados se compararon con un grupo control. Los niveles de FA obtenidos en médula ósea se encontraron arriba del límite superior de lo encontrado en suero de pacientes con CP. Esto puede ser debido a la liberación de FA de los glóbulos rojos durante la hemólisis.

Se encontró una relación positiva entre la FA de la médula ósea en pacientes con CP.

Se elevaron los niveles de FA significativamente en médula ósea (arriba del límite superior), solamente en pacientes del estadio IV en niveles elevados.

Los niveles de FA de médula ósea no dieron información diagnóstica suplementaria en ninguno de los pacientes con CP. Se duda de la hipótesis de que niveles elevados de FA de médula ósea no son diagnósticos de metástasis temprana de CP. (159)

#### RESPUESTA DE LA HAPTOGLOBINA SERICA AL TRATAMIENTO HORMONAL Y LA RELACION DE LOS VALORES DEL PRE-TRATAMIENTO A LA MORTALIDAD EN PACIENTES CON CP.

La haptoglobina se midió en muestras séricas de pacientes de CP antes y después de un tratamien

to de 3 meses con Premarín, Provera y Dietilestilbestrol, y otro tratamiento que consistió en 3 dosis de dietilestilbestrol o placebo.

Los niveles de haptoglobina en el pre-tratamiento eran elevados, superiores a los niveles observados en controles normales.

Los niveles de pre-tratamiento de pacientes - en el "Estudio 2" fueron más bajos que aquellos -- del "Estudio 3". Los niveles de pacientes del estadío III de la enfermedad fueron significativamente más bajos que aquellos pacientes que se encontraban en el estadio IV de la enfermedad en ambos estudios. Así, los niveles de haptoglobina estaban relacionados con el grado y la severidad de la enfermedad y ésta a su vez con la presencia de metástasis. Los niveles de fibrinógeno y cortisol están relacionados negativamente con niveles de hemoglobina.

Los niveles de haptoglobina disminuyeron significativamente por tratamiento con los estrógenos, pero no fueron cambiados o sólo disminuyeron moderadamente con placebo o tratamiento de Provera. La mortalidad se calculó por pre-tratamiento de los niveles de haptoglobina para todos los tratamientos de los pacientes de los estadios III y IV, combinado por el Estudio 2 y Estudio 3 separadamente.

Tales cifras se calcularon de acuerdo a todas las causas combinadas y para la muerte de CP o enfermedad cardiovascular separadamente. Los niveles de haptoglobina fueron significativa y positivamente relacionados con las cifras de las muertes de CP, pero no con cifras de enfermedad cardiovascu--

lar. La correlación entre niveles de haptoglobina del pre-tratamiento y las cifras por muerte de CP para el Estudio 2 fue  $r=0.875$ ,  $p \geq 0.016$ ; y para el Estudio 3  $r=0.952$ ,  $p \geq 0.002$ . Los pacientes con niveles de pre-tratamiento arriba de 285 mg/dl en el Estudio 2 y arriba de 330 mg/dl en el Estudio 3 eran 3 y 5 veces más altas las cifras que los pacientes con niveles dentro de límites normales. Las disminuciones siguientes al tratamiento del estrógeno fueron significativamente lineales correlacionadas con la dosis para los 3 niveles de dosis del dietilestilbestrol. La disminución del nivel de haptoglobina después del tratamiento fue significativamente dependiente del nivel de haptoglobina inicial con niveles más altos que exhiben una disminución mayor. Se puede decir, en promedio, que los niveles se acercan a la normalidad después de un tratamiento de 3 meses de duración. (160)

**CAPITULO VIII****C O N C L U S I O N E S**

## CONCLUSIONES

Se revisaron 149 artículos, del año de 1978 a 1982, se encontró que 67 artículos afirman el punto de vista de que la FA es útil en el diagnóstico clínico de CP; 5 artículos lo niegan, 72 artículos no lo afirman, ni lo niegan, lo dudan 2 artículos - y lo afirman y lo niegan, simultáneamente: 3

Las razones principales son:

- 1) La toma de la muestra es sencilla si es tomada de sangre periférica, pero si pretenden tomarla del esternón (médula ósea) resulta traumática y con muchas posibilidades de obtenerse falsos positivos debido a que los eritrocitos también - contienen FA, y al romperse éstos liberan FA - que aumenta el nivel de FA de origen carcinogénico.
- 2) Esta determinación es más clara mientras mayor sea el tiempo de padecimiento del enfermo (esta día IV), ya que en los estadios tempranos puede dar resultados dudosos.

M E T O D O L O G I A

INMUNOLOGICOS 8	ENZIMATICOS 5	COLORIMETRICOS 4	ELECTROFORESIS 4	CROMATOGRAFIA 3
INMUNODIFUSION 1	CONTRA INMUNO ELECTROFORESIS 13	RADIOINMUNO ENSAYO 18	INMUNOFLUORES- CENCIA 2	INMUNOPEROXIDA- 3
PURIFICACION ELECTROFORETICA DE FLUIDO SEMI- NAL 1	SONOGRAFIA 2	METODOS QUIMICOS 1	ESTUDIOS HISTOLOGICOS 1	RADIOGRAFIA 2
MICROSCOPIA ELECTRONICA 1	METODOS ENZIMATICOS 1	METODOS INMUNOHISTO QUIMICOS 5	BIOPSIA 4	ENSAYO RADIOISOTOPICO 3

M E T O D O L O G I A

( C O N T I N U A C I O N )

LINFANGIOGRAFIA  1	DISECCION DEL NODULO PELVICO  1	LINFADENECTOMIA PELVICA  2
LINEAS CELULARES  7	METODO BIOQUIMI CO ROY  1	EXAMEN RECTAL DE LA PROSTATA  2
	CITOSCOPIA  1	

T R A T A M I E N T O S  
( C O N T I N U A C I O N )

RAYOS X	HORMONAS	ESTROGENOS	RESECCION TRANSURETRAL	RADIACION
4	15	4	3	6
ADRIAMICIN (EN RATA)	METHOTREXATO (EN RATA)	CICLOFOSFAMIDA (EN RATA)	DOXORUBICINA	DACARBAZINA
1	1	5	1	1
CISPLATINA	SIEMBRAS DE $^{125}$ DESPUES DE RADIA CION CON RAYOS X	DIETILESTILBES- TROL	TRATAMIENTO HIPOGLICEMI CO	MOSTAZA DE NITROGENO
1	1	2	1	1

T R A A T A M I E N T O S

( C O N T I N U A C I O N )

PROSTATECTOMIA  1	TESTOSTERONA  1	HIDROXIUREA  1	METILCLOROETIL CICLOHEXYNITRO SOUREA  1	FOSFATO DE ESTRAMUSTINA  3
PASTILLAS SUBCUTANEAS DE ESTRADIOL  1	CASTRACION HORMONAL CON HORMONA LUTEINIZANTE  1	ACETATO DE CIPROTERONA  1	CASTRACION  1	ORQUIDECTOMIA BILATERAL  2
PEPLEOMICINA  1	PREDNISOLONA  1	LINFADENECTOMIA PELVICA DE NODULOS  1	CRIOCIRUGIA  1	

## CAPITULO IX

## D I S C U S I O N

A CONTINUACION SE PRESENTAN LOS ARTICULOS REVISADOS EN LA LITERATURA QUE SE REFIEREN A LA DISCUSION DEL CANCER PROSTATICÓ.

## CARCINOMA DE LA PROSTATA. II. ACTIVIDAD SERICA DE LA FA, FA PROSTATICA, LDH Y SUS ISOENZIMAS

En 25 pacientes con CP T3 y en un grupo comparativo de 18 pacientes con BPH las enzimas séricas de FA, FA tartrato lábil, LDH e iso-LDH se investigaron simultáneamente en condiciones basales y después de estandarizar la biopsia prostática transrectal. La FA, la FA prostática y la LDH mostraron ser de pequeña utilidad diagnóstica.

La reacción de los niveles de enzima sérica - que siguen la biopsia prostática estandarizada fue la misma en pacientes con CP y en pacientes con BPH. Al estudiar las isoenzimas LDH encontramos - que la 3a. fracción se elevó en casi todos los pacientes. Este cambio aparentemente no es de origen prostático, y no podríamos atribuirlo a las enfermedades concomitantes encontradas en algunos pacientes. (161)

## CARCINOMA DE LA PROSTATA. I. EXAMEN HISTOQUIMICO - COMO UNA AYUDA PARA EVALUAR EL CARCINOMA PROSTATICO

Se compararon las características histoquímicas e histológicas (en el curso clínico), en 26 pacientes con CP, en pacientes que recibían tratamiento hormonal terapéutico y en pacientes que NO lo recibían. En el grupo control, 16 pacientes con BPH se examinaron de la misma manera. Se encontró que los tipos histológicos de CP no pueden ser identificados por estadíos.

La alta actividad de la LDH en CP fue la única distinción contra la BPH (162).

### EL SIGNIFICADO DE LA CREATINCINASA (CKBB) EN CANCER METASTASICO DE LA PROSTATA

Las alteraciones de las isoenzimas de creatinincinasa se observaron en 5 casos de CP.

La isoenzima creatinincinasa BB se encontró en el suero de 2 ó 3 casos con metástasis.

Su presencia en el suero no parece estar relacionada con la actividad de la FA, pero parece estar asociada con la propagación del tumor hacia otros tejidos. Los estudios preliminares en pacientes con próstatas malignas y no malignas mostraron que CK - BB era detectable sólo en citologías positivas. La observación de CK-BB en pacientes (2 de cada 3) con carcinoma metastásico de la próstata es de interés y sugiere que las isoenzimas KC-BB pueden dar algún valor predictivo para observar el curso de este padecimiento. (163)

### EL SIGNIFICADO DE LA FA DE MEDULA OSEA EN PACIENTES CON CANCER DE PROSTATA

Los niveles de FA total y lábil (l-tartrato)-se estudiaron en 49 pacientes con CP. Los resultados se compararon con los resultados de un grupo control. Los niveles de FA de la médula ósea no sobrepasaron el límite superior normal de la FA sérica en el grupo control, ni en el grupo problema. - Esto puede ser debido a la liberación de la FA pro

veniente de hemólisis de eritrocitos. Hubo una conclusión positiva entre los niveles de suero y los niveles de FA de médula ósea en pacientes con CP.

Los niveles de FA de médula ósea aumentaron - significativamente (arriba del límite superior del valor normal del grupo de control) en pacientes - que se encontraban en el estadio IV con niveles de suero significativamente aumentados.

Los niveles de FA de médula ósea no dieron información diagnóstica suplementaria en ninguno de los pacientes con CP. Existe cierta duda respecto a la hipótesis de que los niveles elevados de FA - de médula ósea constituyan un diagnóstico de metástasis temprano de CP. (164)

## CAPITULO X

## B I B L I O G R A F I A

B I B L I O G R A F I A

- (1) Bruce, A.W., Mahan, D.E.: Adenocarcinoma of the prostate in perspective. Can Med Assoc H. 119.9;1077 a 1084, 1978
- (2) Romas, N.A., Rose, N.R., Tannenbaum, M.: - - Acid phosphatase: new developments. Hum Pathol 10.5; 501 a 512, 1979
- (3) Tietz, N.W.: Química Clínica Moderna. Ed. Interamericana. Barcelona, España; 403 a 405, - 417 y 418, 1972
- (4) Lin, M.F., Lee, C.L., Wojcieszyn, J.W. y - - cols.: Fundamental Biochemical and Immunological aspects of prostatic acid phosphatase. Prostate 1.4; 415 a 425, 1980
- (5) Foti, A.G., Herschman, H. Cooper, J.F.: Isozymes of acid phosphatase in normal and cancerous human prostatic tissue. Cancer Res - 37.11; 4120 a 4124, 1977
- (6) Fischer, Dr., Gevers, M.: Biochemical and - electrophoretic properties of acid phosphatase isozymes and their inhibition in cell - - functions from neoplastic prostatic tissues. Urol Int 35.3; 216 a 225, 1980
- (7) Guha, K., Vanha-perttula, T.: Acid phosphatases in the human testis after prolonged estrogen treatment. Andrologia 12.3; 252 a 260.

- (8) Mercer, D.W.: Separation of tissue and serum acid phosphatase isoenzymes by ion-exchange-column chromatography. Clin Chem 23.4; 653 a 658, 1977
- (9) Guha, K., Ryt Oluoto, K., Arkk Ainen, R., - Vanha-Perttula, T: Further studies on human-testicular acid phosphatases. Andrologia - - 12.5; 448 a 452, 1980
- (10) Chu, T.M., Wang, M.C., Kuciel, R. y cols.: - Enzyme markers in human prostatic carcinoma. Cancer Treat Rep 61.2; 193 a 200, 1977
- (11) Choe, B.K., Pontes, E.J., Mc. Donald, I., y cols: Immunochemical studies of prostatic - acid phosphatase. Cancer Treat Rep 61.2; 201 a 204, 1977
- (12) Drucker, J.R., Moncure, C.W., Johnson, C.L., y cols.: Immunological staging of prostatic-carcinoma: three years of experience. J Urol 119.1; 94 a 98, 1978
- (13) Fishleder, A., Tubbs, R.R., Levin, H.S.: An-immunoperoxidase technique to aid in the - - differential diagnosis of prostatic carcinoma. Cleave Clin 48.3; 331 a 335, 1981
- (14) O'Donoghue, E.P., Constable, A.R., Sherwood, T. y cols.: Bone scanning and plasma phosphatases in carcinoma of the prostate. Br J - - Urol 50.3; 172 a 177, 1978

- (15) Mahan, D.E., Doctor, B.P.: A radioimmune - - assay for human prostatic acid phosphatase - levels in prostatic disease. Clin Biochem - 12.1; 10 a 17, 1979
- (16) Branckman, W.D., Lastinger, L.B., Sedor, F.: Unpredictable fluctuations in serum acid -- phosphatase activity in prostatic cancer. - JAMA 245.24; 2501 a 2504, 1981
- (17) Bruce, A.W., Mahan, D.E., Sullivan, L.D., y cols.: the significance of prostatic acid -- phosphatase in adenocarcinoma of the prostate. J Urol 125.3; 357 a 360, 1981
- (18) Milleman, L.A., Weissman, W.D., Culp, D.A.: - Serum protein, enzyme and immunoglobulin res - ponses following perineal cryosurgery for - carcinoma of the prostate. J Urol 123.5; 710 a 711, 1980
- (19) Guha, K., Vanha-Perttula, T.: Acid Phosphata - ses in the human testis after prolonged es - trogen treatment. Andrologia. 12.3; 352 a - 360, 1980
- (20) Helma, S.R., Brattain, M.G., Pretlow, T.G. y col: "Prostatic acid phosphatase?" A compari - son of acid phosphatase activities in epi - thelial cells, granulocytes, monocytes, lympho - cytes, and platelets purified by velocity - sedimentation in isokinetics gradients of Fi - coll in tissue culture medium. Am J Pathol - 88.3; 529 a 537, 1977

- (21) Zeigel, R.F., Arya, S.K., Horoszewicz, J.S., y col: A status report: human prostatic carcinoma, with emphasis on potential for viral etiology. *Oncology* 34.1; 29 a 44, 1977
- (22) Ohnuki, Y., Maureen, M.M., Merrell, S.B., y cols.: Chromosomal analysis of human prostatic adenocarcinoma cell lines. *Cancer Res* - 40.3; 524 a 529, 1980
- (23) Jacobs, S.C., Lawson, R.K.: Mitogenic factor in human prostate extracts. *Urology* 16.5; - 488 a 491, 1980
- (24) Yam, D.T., Hanckila, A.J., Li, C.Y.: Presence of "Prostatic Acid Phosphatase" in human-neutrophyls. *Invest Urol* 19.1; 34 a 38, 1981
- (25) Pretlow, T.C.: Prostate cancer: normal prostatic from human and hamster. *Natl Cancer -- Int Monogr* 49 ; 11 a 16, 1978
- (26) Carson, C.C., Akwari, O.E.: Rectal ejaculation and prostatic carcinoma. *Urology* 16.2;- 188 a 189, 1980
- (27) Shimada, H., Misugi, K., Sasaki, Y. y cols.: Carcinoma of the prostate in childhood and adolescence: report of a case and review of the literature. *Cancer* 46.11; 2534 a 2542, - 1980

- (28) Bollack, C., Helwig, J.J., Offner, M.: Are - serum acid phosphatase levels of diagnostic - significance in prostatic cancer? Sem Hop - Paris. 55.43; 2022 a 2026, 1979
- (29) Mc Gowan, D.G.: Radiation therapy in the management of localized carcinoma of the prostate: a preliminary report. Cancer 39.1; 98 - a 103, 1977
- (30) Tietz, N.W.: Present and future trends in se lected areas of clinical enzymology. J Clin - Chem Clin Biochem. 18.11; 763 a 769, 1980
- (31) Elder, J.S., Scott, W.W., Nyberg, L.M.: Over ve view of past and current philosophy of prostatic cancer. Prostate 1.3; 287 a 301, 1980
- (32) Johnson, C.D., Costa, D., Castro, J.E.: Acid phosphatase after examination of the prostate. Br J Urol 51.3; 218 a 223, 1979
- (33) Alsabti, E.A., Safo, M.: Prognostic value of bone marrow acid phosphatase in prostatic - carcinoma. Urol Int 34.5; 350 a 355, 1979
- (34) Hoehn, W., Schroeder, F.H., Reimann, J.F. y cols: Human prostatic adenocarcinoma: some - characteristics of a serially transplantable line in nude mice (PC82). Prostate 1.1; 95 - a 104, 1980
- (35) Nadji, M., Tabei, S.Z., Castro, A. y cols.: - Prostatic origin of tumor. An immunohistoche mi cal study. A M H Clin Pathol 76.6; 735 a - 739, 1980

- (36) Papsidero, L.D., Wang, M.C., Valenzuela, L.A. y cols.: A prostate antigen in sera of prostatic cancer patients. *Cancer Res* 40.7; 2428 a 2432, 1980
- (37) Catalona, W.J.: Immunobiology of carcinoma - of the prostate. *Invest Urol* 17.5; 373 a 377, 1980
- (38) Henry, R.J., Cannon, D.C., Winkelman, J.W.: - *Química Clínica*, Edit. JIMS, Barcelona España, 2a. Edición Págs. 191, 112, 141, 135, - 136, 138, 139, 142, 1980
- (39) Manual Merck, Págs. 13 y 42
- (40) Gordon, B.L., Ford, D.K.,: Lo esencial de la Inmunología, Edit. El manual Moderno, Pág. - 52, 1973
- (41) Gottschalk, A., Potchen, E.J.: Diagnostic - Nuclear Medicine, Serie Golden's Diagnostic-Radiology, Edit. Williams & Wilkins Company, Págs. 215 a 219, 222 a 227, 1976
- (42) Traducción del Folleto del Radioimmunoassay-Kit - Clinical Assays, Cat. No. C A - 597. - División of Travenol Laboratories, Inc. 620-Memorial Drive, Cambridge, Massachusetts - - 02139
- (43) Bruce, A.W., Mahan, D.E., Morales, A. y cols: An objective look at acid phosphatase determinations: a comparison of biochemical and - immunological methods. *Br J Urol* 51.3; 213 a 217, 1979

- (44) Belville, W.D., Cox, M.D., Mahan, D.E. y - cols. Bone marrow acid phosphatase by radioimmunoassay. *Cancer* 41.6; 2286 a 2291, 1978
- (45) Cooper, J.F., Foti, A., Herschman, H.H. y - cols.: A solid phase radioimmunoassay for -- prostatic acid phosphatase. *J Urol* 119.3; 388 a 391, 1978
- (46) Brody, J.P., Savory, J., Sturgill, B.C. y - cols.: Prostatic acid phosphatase as measured with two radioimmunoassay kits in the detection of prostatic adenocarcinoma. *Clin -- Chem* 27.4; 605 a 607, 1981
- (47) Cooper, J.F.: The radioimmunochemical measurement of prostatic acid phosphatase. cu-rrent state of the art. *Urol Clin North* 7.3; 653 a 665, 1980
- (48) Choe, B.K., Pontes, E.J., Dong, M.K.: Double antibody immunoenzyme assay for human prostatic acid phosphatase *Clin Chem* 26.13; 1854 a 1859, 1980
- (49) Lindholm, G.R., Stirton, S., Liedtke, R.J.: - Prostatic acid phosphatase by radioimmuno- - assay sensitivity compared with enzymatic - assay. *Jama* 244.18; 2071 a 2073, 1980
- (50) Kiesling, V.J., Watson, R.A.: A closer look- at serum prostatic acid phosphatase as screening test. *Urology* 16.3; 242 a 244, 1980

- (51) Foti, A.G., Cooper, J.F., Herschman, H.: Detection of prostatic cancer by solid phase - radioimmunoassay of serum prostatic acid - - phosphatase. N Engl J Med 297.25; 1357 a - - 1361, 1977
- (52) Choe, B.K., Pontes, E.J., Morrison, M.K. y cols.: Human prostatic acid phosphatases; II. A double antibody radioimmunoassay. Arch Androl 1.3; 227 a 233, 1978
- (53) Vihko, P., Lukkarinen, O. Kontturi, M. y col: Effectiveness of Radioimmunoassay of human - prostate-specific acid phosphatase in the -- diagnosis and follow-up of therapy in prosta tic carcinoma. Cancer Res 41; 1180 a 1183, - 1981
- (54) Mc. Gregor, B., Tullock, A.G., Quinlon, M.F.: The role of bone scanning in the assessment- of prostatic carcinoma. Br J Urol 50.3, 178- a 181, 1978
- (55) Cooper, J.F., Foti, A.G.: A radioimmunoassay for prostatic acid phosphatase. Natl Cancer- Inst Monogr 49, 235 a 237, 1978
- (56) Lee, C.L., Chu, T.M., Wajsman, N.H.: Value - of new fluorescent immunoassay for human -- prostatic acid phosphatase in prostate can-- cer. Urology 15.4; 338 a 341, 1980

- (57) Vihko, P., Kostama, A.J., Anne, O. y cols.: Rapid radioimmunoassay for prostatic specific acid phosphatase in human serum. Clin Chem 26.11, 1544 a 1547, 1980
- (58) Belville, W.D., Cox, H.D., Mahan, D.E. y cols.: Prostatic acid phosphatase by radioimmunoassay tumor marker in bone marrow. J Urol 121.4, 442 a 446, 1979
- (59) Farnsworth, W.E., M.J., Cartagena, R.: Comparative performance of three radioimmunoassays for prostatic acid phosphatase. Urology 16.2; 165 a 167, 1980
- (60) Cooper, J.F., Foti, A.G., Herschman, E.: Combined serum and bone marrow radioimmunoassays for prostatic acid phosphatase. J Urol 122.4; 498 a 502, 1979
- (61) Romas, N.A., Veenema, R.J., Tomachefsky, P. y cols: Bone marrow acid phosphatase in prostate cancer: an assessment by radioimmunoassay and biochemical methods. Trans Am Assoc Genitourin Surg 71; 26 a 30, 1979
- (62) Watson, R.A., Tang, D.B.: The predictive value of prostatic acid phosphatase as a screening test for prostatic cancer. Medical Intelligence 303.9; 497 a 498, 1980
- (63) Dass, S. Bowen, N.L., Basshowe, K.D.: Rapid, fully automated radioimmunoassay of prostatic acid phosphatase in serum. Clin. Chem 26.11; 1583 a 1587, 1980

- (64) Erkon, I., Remzi, D., Cilir, G.: Tissue acid and alkaline phosphatase in prostatic carcinoma. *J Surg Oncol* 13.4; 341 a 345, 1980
- (65) Shaw, L.M., Brummund, W., Dorio, R.J.: An evaluation of a kinetic acid phosphatase method. *Am J Clin Pathol* 68.1; 57 a 62, 1977
- (66) Bochme, W.M., Augspurger, R.R., Wallner, J.-F. y col.: Lack of usefulness of bone marrow enzymes and calcium in staging patients with prostatic cancer. *Cancer* 41.4; 4132 a 4139, - 1978
- (67) Sadlowski, R.W.: Early stage prostatic cancer investigated by pelvic lymph node biopsy and bone marrow acid phosphatase *J Urol* - - 119.1; 89 a 93, 1978
- (68) Townsend, R.M.: Enzyme tests in diseases of the prostate. *Ann Clin Lab Sci* 7.3; 254 a - 261, 1977
- (69) Schwartz, M.K.: Enzyme patterns in cancer. - *Ann Clin Lab Sci* 7.2; 99 a 104, 1977
- (70) Bruce, A.W., Mahan, D.E.: Adenocarcinoma of the prostate in perspective. *Can Med Assoc J* 119.9; 1077 a 1084, 1978
- (71) Kane, R.D., Paulson, D.F.: Carcinoembryonic antigen as an adjunct to determination of clinical stage in prostate cancer. *Natl Cancer Inst Monogr* 49; 231, 1978

- (72) Mc Gregor, B., Tulloch, A.G., Quinlon, M.F.-  
y col.: The role of bone scanning in the - -  
assessment of prostatic carcinoma Br J Urol-  
50; 178 a 181, 1978
- (73) Foti, A.G., Herschman, H., Cooper, J.F.: Mea-  
surement of prostatic acid phosphatase in va-  
rious cell lines. Natl Cancer Inst Monogr 49;  
55 a 56, 1978
- (74) Schroeder, F.H., Jellinghaus, W.: EB 33, an-  
epithelial cell line from human prostate car-  
cinoma: a review. Natl Cancer Inst Monogr 49;  
41 a 46, 1978
- (75) Lubaroff, D.M.: HPC-36: an epithelial tissue  
culture line derived from human prostate ade-  
nocarcinoma. Natl Cancer Inst Monogr 49; 35-  
a 39, 1978
- (76) Stonington, O. G., Szwec, N., Webber, M.: -  
Identification of cultured, human, malignant,  
prostatic epithelial cells. Natl Cancer Int-  
Monogr 49; 31 a 33, 1978
- (77) Lubaroff, D.M.: Development of an epithelial  
tissue culture line from human prostatic ade-  
nocarcinoma. J Urol 118.4; 612 a 165, 1977
- (78) Stone, K.R., Mickey, D.D., Wunderli, H.: Iso-  
lation of a human prostate carcinoma cell -  
line (DU 145). Int J Cancer 21.3; 274 a 281,  
1978

- (79) Wajsman, Z., Chu, T.M., Saroff, J. y cols.: -  
Two new, direct, and specific methods of -  
acid phosphatase determination. National -  
field trial. Urology 13.1; 8 a 11, 1979
- (80) Foti, A.G., Cooper, J.F., Herschman, H.: --  
Counterimmunoelectrophoresis in determina- -  
tion of prostatic acid phosphatase in human-  
serum. Clin Chem 24.1; 140 a 142, 1978
- (81) Chu, T.M.: Biochemical and immunologic tech-  
niques for acid phosphatase measurement in -  
the diagnosis of prostatic cancer. Natl Can-  
cer Inst Monogr 49; 239, 1978
- (82) Mc Donald, I., Rose, N.R., Pontes, E.J. y -  
col.: Human prostatic acid phosphatases: III.  
Arch Androl 1.3; 235 a 239, 1978
- (83) Wise, W.S., Kandaswamy, K.: Comparison of -  
prostatic acid phosphatase assays. Arch Pa-  
thol Lab Med 105.11; 622 a 625, 1981
- (84) Gupta, M.K., Rajaraman, S., Gupta, S.K.: Im-  
munochemical measurement of serum prostatic-  
acid phosphatase (PAP). Clinical evaluation-  
of radioimmunoassay and counterimmunoelectro-  
phoresis. Am J Clin Pathol 76.4; 430 a 436,-  
1981
- (85) Killian, C.S., Vargas, F.P., Lee, C.L.: Quan-  
titative counterimmunoelectrophoresis assay-  
for prostatic acid phosphatase. Invest Urol-  
18.3; 219 a 224, 1980

- (86) Papsidero, L.D., Wojcieszyn, J.W., Horosze--  
wicz, J.J. y cols.: Isolation of prostatic -  
acid phosphatase binding immunoglobulin G --  
from human sera and its potential for use -  
as a tumor localizing reagent. *Cancer Res* 40;  
3032 a 3035, 1980
- (87) Foti, A.G., Herschman, H., Cooper, J.F.: Iso  
zymes of acid phosphatase in normal and can-  
cerous human prostatic tissue. *Cancer Res* -  
37; 4120 a 4124, 1977
- (88) Sun, T., Lam, K.W., Narukar, L.: Clinical -  
applicability of acid phosphatase isoenzyme-  
assay. *Clin Chem* 27.10; 1742 a 1744, 1981
- (89) Fischer, D.R., Gevers, W.: Altered distribu-  
tion of acid phosphatase in neoplastic prost-  
atic cells. *Urol Res* 8; 15 a 22, 1980
- (90) Ablin, R.J.: Immunohistological localization  
of prostatic acid phosphatase. *Allergol Im--  
munopathol (Madr)* 7.5; 361 a 364, 1979
- (91) Romas, N.A., Veenema, R.J., Hsu, K.C. y - -  
cols.: Bone marrow acid phosphatase in prost-  
atic cancer: an assessment by immunoassay -  
and biochemical methods. *Trans Am Assoc Geni  
tourin Surg* 71; 26 a 30, 1979
- (92) Dungen dorfer, U., Drohovsky, D.: Estrogens -  
in carcinoma of the prostate. Effects on en-  
zymes and polypeptide hormones. *Argneim - -  
Forsch* 28.6; 1027 a 1030, 1978

- (93) Yam, L.T., Janckila, A.J., Lam, W.K.: Immuno histochemistry of prostatic acid phosphatase. Prostate 2.1; 97 a 107, 1981
- (94) Warren, R.J., Moss, D.W.: An automated continuous monitoring procedure for the determination of acid phosphatase activity in serum.- Clin Chim Acta 77.2; págs. 179 a 188, 1977
- (95) Pontes, J.E., Choe, B.K., Rose, N.R. y col.: Bone marrow acid phosphatase in staging of-- prostatic cancer: how reliable is it? J Urol 119.6; 772 a 776, 1978
- (96) Pontes, J.E., Choe, B.K., Rose, N.R.: Clinical evaluation of immunological methods for-- detection for serum prostatic acid phosphatase. J Urol 126.3; 363 a 365, 1981
- (97) Lee, P., Lam, K.W., Li, C.Y. y col: A simple immunohistochemical method for the detection of prostatic acid phosphatase. Arch Pathol - Lab Med 105.4; 205 a 206, 1981
- (98) Aum Uller, G.; Pohl, C.C., Van Etten, P.L. y col: Immunohistochemistry of acid phosphatase in the human prostate: normal and pathologic. Citochemistry and biochemistry of acid-phosphatase. II. Virchows Arch (Cell Pathol) 35.3; 249 a 263, 1981
- (99) Stegehuis, G.P., Jöbsis, A.C., Meijer, A.E.: Comparative investigation of the mixed aggregation immunocytochemical technique and the-

indirect peroxidase technique and the indirect peroxidase technique for the detection of prostate specific acid phosphatase in paraffin or paraplast sections. Histochemistry 62, Págs. 45 a 54, 1979

- (100) Lee, C.L., Killian, C.S., Murphy, G.P.: A solid phase immunoabsorbent assay for serum prostatic acid phosphatase. Clin Chim Acta - 101.2; 209 a 216, 1980
- (101) Moncure, C.W.: Clinical application of immunodiffusion assay for prostatic acid phosphatase. Natl Cancer Inst Monogr 49; 241 a 242, 1978
- (102) Wright, G.L., Schellhammer, P.F., Brassil, D.N. y cols.: Comparison of countercurrent-immunoelectrophoretic assay with commercial-radioimmunoassay kits for measuring prostatic acid phosphatase. Clin Chem 27.10; 1747-a 1752, 1981
- (103) Pontes, J.F., Rose, N.R., Ercole, C. y col.: Immunofluorescence for prostatic acid phosphatase: clinical applications. J Urol 126.2; 187 a 189, 1981
- (104) Belville, W.D., Cox, H.D., Mahan, D.E. y cols.: Bone marrow acid phosphatase by radioimmunoassay. Cancer 41; 2286 a 2291, 1978
- (105) Smehaug J.: Metastases of the penis from carcinoma of the prostate. Scand J Urol Nephrol 13.2; 205 a 206, 1979

- (106) Greene, L.F., Farrow, G.M., Ravits, J.M. y cols.: Prostatic adenocarcinoma of ductal origin. J Urol 121.3; 303 a 305, 1979
- (107) Grayhack, J.T., Wendel, E.F., Lee, C. y cols.: Analysis of prostatic fluid in prostatic disease. Cancer Treat Rep 61.2; 205 a 210, - - 1977
- (108) Taylor, W.J.: Radiation Oncology. Cancer of the prostate. Cancer 39; 856 a 861, 1977
- (109) Holmers, E.J.: Crisalloids of prostatic cancer. Relation-ship with Bence-Jones cris----talls. Cancer 39; 2073 a 2080, 1977
- (110) O'Donoghue, E.P., Constable, A.R., Sherwood, J.J. y cols: Bone scanning and plasma phosphatases in carcinoma of the prostate. Br - J Urol 50; 172 a 177, 1978
- (111) Aleyassine, H., Macisaac, S.G.: The diagnostic significance of serum creatine kinase-BB isoenzyme in adenocarcinoma of the prostate. Clin Biochem 13.3; 109 a 112, 1980
- (112) Feld, R.D., Van Steirteghem, A.C., Zweig, M. H. y cols: The presence of creatine kinase-BB isoenzyme in patients with prostatic cancer. Clin Chim Acta. 100.3; 267 a 273, 1980
- (113) Kuriyama, M. Wang, M.C., Lee, C.L. y cols.: - Multiple marker evaluation in human prostate cancer with the use of tissue specific antigens. J N C I 68.1; 99 a 105, 1982

- (114) Killian, C.S., Vargas, F.P., Pontes, E.J. y cols.: The use of serum isoenzymes of alkaline and acid phosphatase as possible quantitative markers of tumor load in prostate cancer. *Prostate* 2.2; 187 a 206, 1981
- (115) Holyoke, E.D., Block, G.E., Jensen, E.: Biologic markers in cancer diagnosis and treatment. *Curr Probl Cancer* 6.2; 1 a 68, 1981
- (116) Bruce, A.W., Maham, D.E., Beleville, W.D.: - Radioimmunoassay of bone marrow prostatic acid phosphatase. *Prostate*. 1.4; 457 a 463, - 1980
- (117) Romas, N.A., Hsu, K.C., N.G., Py y cols.: -- Counterimmunoelectrophoretic studies of serum prostatic acid phosphatase. *Prostate* 1.4; 451 a 456, 1980
- (118) Cooper, J.F., Finkle, W.D.: Current experience with radioimmunoassay techniques for prostatic acid phosphatase. *Prostate* 1.4; 441 a 450, 1980
- (119) Ansari, M.A., Pintozzi, R.L., Choi, Y.S. y cols.: Diagnosis of carcinoid-like metastatic prostatic carcinoma by an immunoperoxidase method. *Am J Clin Pathol* 76.1; 94 a 98, 1981
- (120) Klein, L.A., Shapiro, P.: Role of acid phosphatase measurement in management of prostate cancer. *Urology* 17.6; 550 a 553, 1981

- (121) Belville, W.D., Mahan, D.E., Sepúlveda, R.A. y cols.: Bone marrow acid phosphatase by --- radioimmunoassay: 3 years of experience. J - Urol 125.6; 809 a 811, 1981
- (122) Tellier, J.L., Chatal, J.F., Bourdin, S. y - cols.: The diagnostic value of the radioimmu- - nological estimation of prostatic acid phos- - phatase. Comparative value of the measure- - ment of enzyme activity. J Urol 87.3; 169 a 173, 1981
- (123) Gasser, A.B., Jeannet, C., Depierre, D. y - col.: Urinary and serum hydroxyproline in - the diagnosis of bone metastases of prosta- - tic cancer. Schweiz Med Wochenschr 111.8; - 246 a 251, 1981
- (124) Heaney, J.A., Lin, J.C., Daly, J.J. y cols.: Immunological detection of metastases from - prostatic adenocarcinoma. J Surg Oncol 17.1; 83 a 88, 1981
- (125) Johansson, J.E., Beckman, K.W., Lindell, D.- y cols.: Serial bone scanning in the evalua- - tion of stage and clinical course in carcino- - ma of the prostate. Sean J Urol Nephrol - - (Suppl) 55; 31 a 36, 1980
- (126) Trautner, K., Cooper, E.H., Haworth, S. y -- col.: An evaluation of serum protein profi-- - les in the long-term surveillance of prosta- - tic cancer. Scand J Urol Nephrol 14.2; 143 a 149, 1980

- (127) Vihko, P., Lukkarinen, O., Kontturi, M. y -  
col.: Effectiveness of radioimmunoassay of hu-  
man prostate-specific acid phosphatase in -  
the diagnosis and follow-up of therapy in --  
prostatic carcinoma. *Cancer Res* 41.3; 1180 a  
1183, 1981
- (128) Bruce, A.W., Mahan, D.E., Belville, W.D.: -  
The role of the radioimmunoassay for prosta-  
tic acid phosphatase in prostatic carcinoma.  
*Urol Clin North Am* 7.3; 645 a 652, 1980
- (129) Mahan, D.E., Bruce, A.W., Manley, P.N. y --  
col.: Immunohistochemical evaluation of pros-  
tatic carcinoma before and after radiothera-  
py. *J Urol* 124.4; 488 a 491, 1980
- (130) Paulson, D.F., Piserchia, P.V., Gardner, W.:  
Predictors of lymphatic spread in prostatic-  
adenocarcinoma: uro-oncology research group-  
study. *J Urol* 123.5; 697 a 699, 1980
- (131) Murphy, G.P.: Prostatic cancer. Ed. PSG Pu--  
blishing Company, Inc. Estados Unidos de Nor-  
teamerica; 195, 1982
- (132) Johnson, C.D., Costa, Castro, J.E.: Acid - -  
phosphatase after prostate scanning. *Br J --*  
*Urol* 51.3; 218 a 223, 1979
- (133) Torti, F.M., Carter, S.K.: The chemotherapy-  
of prostatic adenocarcinoma. *Ann Intern Med-*  
92.5; 681 a 689, 1980

- (134) Goffinet, D.R., Martínez, A., Freiha, T. y cols.: 125 Iodine prostate implants for recurrent carcinomas after external beam irradiation: preliminary results. *Cancer* 45.11; 2717 a 2724, 1980
- (135) Noland, J.L., Amin, M.: Diethylstilbestrol - Di-trimethylacetate (DSTMA) - A long acting-estrogen. *Invest Urol* 17.6; 506 a 509, 1980
- (136) Ishibe, T.: Change of total and prostatic serum acid phosphatase levels following hyperglycemic treatment in patients with prostatic carcinoma. *Urol Int* 35.1; 13 a 19, 1980
- (137) Van der Werf-Messing, B.: Prostatic cancer - treated at the Rotterdam radiotherapy institute. *Strahlentherapie* 154.8; 537 a 541, - - 1978
- (138) Workman, P.: Inhibition for human prostatic-tumor acid phosphatase by N,N-p-di-2-chloroethylaminophenol, N, N -p-di-2-chloro-ethylaminophenyl phosphate and other difunctional nitrogen mustards. *Chem Biol Interact* 20.1; -- 103 a 113, 1978
- (139) Veenema, R.J., Gursel, E.D., Romas, N. y cols.: Bone marrow acid phosphatase: prognostic value in patients undergoing radical - - prostatectomy. *J Urol* 117.1; 81 a 82, 1977
- (140) Fowler, J.E., Whitmore, W.F.: The response - of metastatic adenocarcinoma of the prostate to exogenous testosterone. *J Urol* 126.3; 372 a 375, 1981

- (141) Loenning, S.A., Scott, W.W., Dekernion, J. y cols.: A comparison of hydroxyurea, methyl--chloroethyl-ciclohexy-nitroso-urea and cyclophosphamide in patients with advanced carcinoma of the prostate. J Urol 125.6; 812 a - 816, 1981
- (142) Citrin, D.L., Cohen, A.I., Harberg, J. y -- cols.: Sistemic treatment of advanced prostatic cancer: development of a new system for defining response. J Urol 125.2; 224 a 227, - 1981
- (143) Vihko, P., Lukkarinen, O., Kontturi, M. y -- col.: The effect of manipulation of the prostate gland on serum prostate-specific acid phosphatase measured by radioimmunoassay. - Invest Urol 18.5; 334 a 336, 1981
- (144) Gearhart, J.P., Witherington, R. Coleman, G. H.: Subcutaneous estradiol pellet implantation in management of advanced prostatic carcinoma. Urology 17.1; 44 a 48, 1981
- (146) Chlebowski, D.A., Hestorf, R.N., Sardoll, A. S. y cols.: Ciclophosphamide (NSC26271) vs - the combination of adriamycin (NSC123127) - 5-fluorouracil and ciclophosphamide in the - treatment of prostate metastatic cancer. Cancer 42, págs. 2546 a 2552, 1978
- (147) Freiha, F.S., Pistenma, D.A., Bagshaw, M.A.: Pelvic lymphadenectomy for staging prostatic carcinoma: is it always necessary? J Urol - 112.2; 176 a 177, 1979

- (148) Bruckman, J.E., Harris, J.R., Levens, M.R. y-  
cols.: Results of treating stage III carcino-  
ma of the breast by primary radiation thera-  
py. Cancer 43; 985 a 993, 1979
- (149) Tveter, K.J., Otnes, B., Hannestad, R.: --  
Treatment of prostatic carcinoma with cypro-  
terone acetate. Scand J Urol Nephrol 12.2; -  
115 a 118, 1978
- (150) Jhonsson, G., Hogber, R., Nilsson, T.: Treat-  
ment of advanced prostatic carcinoma with -  
estramustine phosphate (Estracyt). Scand J -  
Urol Nephrol 11.3; 231 a 238, 1977
- (151) Anikwe, R.M.: Effect of estrogen therapy on-  
metastatic carcinoma of the prostate. Int -  
Surg 62.10; 532 a 536, 1977
- (152) Ward, A.M., Cooper, E.H., Houghton, A.L.: -  
Acute phase reactant proteins in prostatic -  
cancer. Br J Urol 49.5;  
1398 a 1399, 1977
- (153) Michigan, S., Catalona, W.J.,: Ureteral obs-  
truction from prostatic carcinoma; response-  
to endocrine and radiation therapy. J Urol -  
118.5; 733 a 738, 1977
- (154) Niijima, T., Koiso, K.: Effect of peploe-my--  
cin in prostatic cancer. A preliminary re- -  
port. Scan J Urol Nephrol (Suppl) 55; 177 a-  
179, 1980

- (155) Anderson, L., Edsmyr, F. Esposti, P.L. y cols.: Cyclophosphamide Prednisolone therapy in advanced prostatic carcinoma. Scan J Urol Nephrol (Suppl) 55; 169 a 171, 1980
- (156) Edsmyr, F. Esposti, P.L., Anderson, L.: Estramustine phosphate therapy in poorly differentiated carcinoma of the prostate. Scan J Urol Nephrol (Suppl) 55; 139 a 142, 1980
- (157) Slack, N.H., Mittelman, A., Brady, M.F. y cols.: The importance of the stable category for chemotherapy treated patients with advanced and relapsing prostate cancer. Cancer 46.11; 2393 a 2402, 1980
- (158) Denis, L., Declercq, G.; Progestogens in prostatic cancer. Eur Urol 4.3, 162 a 166, 1978
- (159) Fossa, S.D., Sokolowski, J., Theodorsen, L.: The significance of bone marrow acid phosphatase in patients with prostatic carcinoma. Br J Urol 50.3, 185 a 189, 1978
- (160) Seal, U.S., Doe, R.P., Byar, D.P. y cols.: Response of serum haptoglobin to hormone treatment and the relation of pretreatment values to mortality in patients with prostatic cancer. Cancer 42, 1720 a 1729, 1978
- (161) Mrtaz, J., Vrabel, F., Hanselov'a, M.: Carcinoma of the prostate. II. Serum activity of acid phosphatase, prostatic acid phosphatase, LDH and its isoenzymes. Int Urol Nephrol 11.4; 301 a 309, 1979

- (162) Vrabel, F., Mrtaz, J., N'eme'cek, R. y cols.: Carcinoma of the prostate. I. Histochemical-examination as an aid in evaluating prostate carcinoma. *Int Urol Nephrol* 11.4; 295 a 299, 1979
- (163) Forman, D.T.: The significance of creatin kinase (CKBB) in metastatic cancer of the prostate. *Ann Clin Lab Sci* 9.4; 333 a 337, 1979
- (164) Fossa, S.D., Sokolowski, J., Theodorsan, L.- The significance of bone marrow in patients with cancer of the prostate. *Br J Urol* 50, - 185 a 189, 1978