

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

---

FACULTAD DE QUIMICA



**Investigación de Anticuerpos Antileucémicos  
en Familiares de Pacientes con Leucemia**

T E S I S

Que para obtener el título de:  
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

p r e s e n t a :

PERLA EUGENIA CUEVAS MIRANDA



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.

Tesis  
1973  
Hit-80



QUIMICA

JURADO ASIGNADO ORIGINALMENTE SEGUN EL TEMA:

Presidente:	:	Profesora	MAGDALENA ACOSTA SEGURA
Vocal	:	"	CARMEN REYNA BORDES
Secretario	:	"	ERNESTINA BALLESTEROS RUEDA
1er. Suplente	:	"	SOCORRO CAO ROMERO MARTINEZ
2do. Suplente	:	"	DEA CORONADO PERDOMO

SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TEMA:

Laboratorio de Histoçompatibilidad del  
Departamento de Investigación del  
Centro Médico Nacional del I. M. S. S.

SUSTENTANTE:

PERLA EUGENIA CUEVAS MIRANDA

ASESOR DEL TEMA:

Q. F. B. MAGDALENA ACOSTA SEGURA

SUPERVISOR TECNICO:

DOCTOR HECTOR GOMEZ ESTRADA

A mis Padres

Julián y Herlinda

con todo cariño

A mis hermanos

Pelón, Linda y Vicky

A la memoria de

"Pelón"

Hermano, Compañero y Amigo  
de siempre

A mi Piojito Feo



I N D I C E:

- I. INTRODUCCION
- II. ANTECEDENTES
- III. MATERIAL Y METODO
- IV. RESULTADOS
- V. DISCUSION
- VI. CONCLUSIONES
- VII. BIBLIOGRAFIA

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

Las enfermedades neoplásicas representan en nuestro país la quinta causa de mortalidad (\*). Por lo tanto se -- considera que en México es necesario llevar a cabo un mayor número de trabajos de investigación en este campo, tendientes a conocer, entre otros, los mecanismos inmunopatológicos que permiten la proliferación de las células neoplásicas en el organismo.

---

(\*) Anuario Estadístico de la Secretaría de Industria y Comercio, (1969). México.

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

Las células malignas, además de los antígenos de histocompatibilidad normales, presentan en su superficie otros adicionales denominados "Antígenos Neoplásicos Específicos" -- (ANE) (1-8). Por ello, las células malignas son consideradas - extrañas al organismo y contra ellas se genera una respuesta - inmune que puede erradicarlas del organismo por mecanismos - inmunológicos semejantes a una reacción de rechazo (8-16).

Sin embargo, los casos clínicos y experimentales - de neoplasias comprueban que la respuesta inmune puede resul- tar ineficaz en este sentido y se ha demostrado que inclusive - puede llegar a favorecer el crecimiento tumoral por un meca-- nismo llamado de facilitación inmunológica, mediado por anti-- cuerpos (17-23).

Los estudios inmunológicos han demostrado seis gru- pos principales de (ANE):

1. Antígenos relacionados con el virus de Epstein--Bar (VEB). Se les ha encontrado en células linfoblásticas cultivadas del tumor de Burkitt, carcinoma naso-faríngeo, sarcoidosis y en mononucleosis infecciosa. Se han encontrado anticuerpos contra los antígenos de este grupo de neoplasias en personas con dichos tumores, en individuos sanos de regiones en donde el tumor de Burkitt es endémico (24-29), o en casos no neoplásicos de mononucleosis infecciosa (30).
2. Antígenos relacionados con el grupo de los sarcomas, en los cuales se han identificado ANE en líneas celulares derivadas de estos tumores. Los anticuerpos anti-ANE se han encontrado en pacientes portadores de la neoplasia, así como en los parientes y las personas que conviven con el enfermo, por lo cual se ha sugerido una etiología viral de este grupo de neoplasias (31-33).
3. Antígenos relacionados con el grupo del melanoma, en el cual se han encontrado dos clases de -

ANE (34-36): a) Un antígeno intracelular, común a diferentes individuos que presentan la neoplasia y contra el cual se encuentran en ellos títulos elevados de anti-ANE. b) Otro superficial de la membrana celular, el cual es peculiar a cada tumor y contra el cual los anticuerpos que produce cada paciente son específicos para las células tumorales autólogas.

4. Antígenos onco-fetales (37-50), que se les encuentra en hepatomas (37-39), adenocarcinoma embrionario (40-41), adenocarcinoma del colon (42-46), gástrico (42-47) y otros tumores (48-50). Los ANE se consideran el producto de la reactivación en adultos de genes embrionarios concomitantemente a la transformación neoplásica (51-52). La reactivación ocurre por causa desconocida y sus productos antigénicos aparecen en la superficie de las células neoplásicas o son secretadas por ellas a los líquidos extracelulares (52). Los anticuerpos anti-ANE dan reactividad cruzada entre los casos de neoplasias de este grupo.

5. Antígenos relacionados con el carcinoma cérvico-uterino: En las células de esta neoplasia se han encontrado antígenos del virus del Herpes-2 humano. Las pacientes con carcinoma cérvico-uterino, así como las mujeres sin la neoplasia presentan anticuerpos a estos antígenos (53-54). También en este grupo se ha sospechado una etiología viral del carcinoma.
  
6. Las células leucémicas presentan ANE demostrables por las técnicas de inmunodifusión (55), elución de anticuerpos (56), inmunoadherencia (57-58), fijación de complemento (59), inmunofluorescencia (60-66), citotoxicidad (67), microscopía electrónica (68) y cultivo mixto de linfocitos con leucoblastos del mismo paciente o su gemelo (69-72). En el paciente leucémico no tratado o en recurrencia, se han encontrado sistemáticamente anticuerpos contra los leucoblastos que pueden considerarse anti-ANE, que ocasionalmente dan reacción cruzada contra los leucoblastos cultivados procedentes de otros pacientes (74).



El encontrar anticuerpos específicos anti-ANE en -- personas sanas, sin antecedentes transfusionales ni neoplásicos, -- ya sea que convivan o no con pacientes oncológicos, implica la posibilidad de que en ellas existe o existió una población de células -- malignas que pudieron haber dado lugar a un proceso de inmunización activa anti-neoplásica.

Se sabe que cuando la transformación maligna es inducida por un virus oncogénico, los ANE dan reacción cruzada entre sí (75).

Entre los familiares sanos del paciente oncológico se han encontrado anticuerpos antineoplásicos con una frecuencia mucho mayor que entre los individuos sanos de la población general -- (76). El hecho de que los anticuerpos específicos anti-ANE se presenten con una frecuencia mucho mayor entre los familiares sanos del paciente oncológico que en la población general, puede implicar:

- a) Que las células malignas aparecen con mayor --- frecuencia en los individuos de estas familias.
- b) Que los anticuerpos formados en ellos pertenecen

al tipo de rechazo hacia las células transformadas.

- c) Que los anticuerpos presentes en los enfermos - neoplásicos pertenecen a los del grupo de facilitación inmunológica.
- d) Que posiblemente existe en contacto con esas familias un agente oncogénico que causó en el paciente la aparición clínica de la neoplasia; pero que en los demás ésta fue abortada, posiblemente por un mecanismo de respuesta inmune adecuada.

Algunos informes hacen sospechar que algunos tipos de leucemia humana son producidos por un virus, entre los cuales están:

- a) La reaparición de células leucémicas de cariotipo masculino en la sangre y en la médula ósea, -- de una niña que fue trasplantada con células hematopoyéticas sanas de un donador del sexo masculino y en la cual la transformación maligna --

in vivo se ha sospechado fue de etiología viral - (77).

- b) La demostración de transcriptasa inversa en células leucémicas humanas (78).

En la leucemia humana, no se ha investigado la frecuencia de presentación de anticuerpos antileucoblastos entre los familiares sanos del paciente con esta enfermedad.

Con el objeto de investigarlo se probaron las células leucémicas cultivadas in vitro, contra los sueros de las personas que conviven con los casos de la enfermedad, y los resultados obtenidos se compararon con los de los individuos sanos de la población general.

### III. MATERIAL Y METODO.

## P A C I E N T E S :

Se estudiaron 47 pacientes leucémicos de edades -- comprendidas entre 20 y 55 años, de los cuales 26 correspon-- dieron al sexo masculino y 21 al sexo femenino. Todos ellos eran asistentes a la Consulta Externa o se encontraban encamados en el Servicio de Hematología del Hospital de Oncología del Centro Médi-- co Nacional del Instituto Mexicano del Seguro Social, para lo cual -- se contó con la cooperación de los Doctores Enrique Arechavala -- Perichard y Antonio Limón Limón.

Dentro de los pacientes estudiados, siete casos pre-- sentaban leucemia linfoblástica aguda, siete leucemia linfocítica -- crónica, cuatro leucemia mieloblástica aguda y veintinueve leuce-- mia mielocítica crónica (Cuadro I).

Los casos se seleccionaron dentro de los que no se -- encontraban controlados terapéuticamente de su padecimiento y te-

## C U A D R O 1

DIAGNOSTICO DE LOS PACIENTES LEUCEMICOS DE QUIENES SE INTENTO CULTIVAR LEUCOBLASTOS LEUCEMICOS	
Diagnósticos	Casos
LEUCEMIA LINFOBLASTICA AGUDA	7
LEUCEMIA LINFOCITICA CRONICA	7
LEUCEMIA MIELOBLASTICA AGUDA	4
LEUCEMIA MIELOCITICA CRONICA	29
T O T A L	47

nían del 40% al 90% de células blásticas en sangre periférica, la cual se utilizó para el cultivo de las células leucémicas.

#### FAMILIARES DE LOS PACIENTES;

Se obtuvo la colaboración voluntaria de 62 familiares, contactos habituales de los casos. De ellos se obtuvieron 5 ml. de sangre por punción venosa, la cual fue centrifugada inmediatamente a 2 000 g. (\*) por diez minutos, para la separación del suero. -- Este se congeló inmediatamente a  $-70^{\circ}\text{C}$  hasta la preparación de las placas excavadas para efectuar las pruebas de microcitotoxicidad.

#### TESTIGOS:

Se estudiaron 240 testigos adultos normales, donadores, ya sea del Banco Central de Sangre del Centro Médico Nacional del Instituto Mexicano del Seguro Social o del Banco de Sangre-

---


$$(*) \quad g = \frac{4X (3.1416)^2 \times R \times n^2}{32.2 \times 9.81}$$

r = radio expresado en pies

$$n = \text{número de revoluciones/seg} \left( \frac{\text{revoluciones} \times \text{minuto}}{60} \right)$$

del Hospital Central Militar con la colaboración de los Doctores -- Héctor Rodríguez Moyado y Aarón Hernández Méndez.

Las condiciones socioeconómicas del grupo pacientes y testigos fueron semejantes. Las muestras de sangre se obtuvieron y procesaron de igual manera que en el caso de los familiares de los pacientes.

#### SUEROS LEUCEMICOS:

Se estudiaron 39 pacientes leucémicos, obteniéndose en algunas ocasiones sueros del mismo caso en distintas fechas, -- por lo cual se estudiaron 69 sueros en total. De estos pacientes -- donadores de suero, 14 se encontraban en remisión terapéutica de su leucemia y no estaban controlados según criterio clínico y he-- matológico.

Se obtuvieron 5 ml. de sangre de los pacientes, sien-- do éstos diferentes a los empleados para el cultivo de células leucé micas. De aquellos doce correspondieron a leucemia linfoblástica aguda, cinco a leucemia-linfocítica crónica, diecisiete a leucemia mieloblástica aguda y treinta y cinco a leucemia mielocítica cróni-- ca (Cuadro 2). Las muestras obtenidas se procesaron como se --



## C U A D R O 2

DIAGNOSTICOS DE LOS PACIENTES LEUCEMICOS DONADORES DE SUEROS PARA INVESTIGACION DE ANTICUERPOS ANTILEUCOBLASTOS LEUCEMICOS ALOGENICOS	
Diagnósticos	Casos
LEUCEMIA LINFOBLASTICA AGUDA	12
LEUCEMIA LINFOCITICA CRONICA	5
LEUCEMIA MIELOBLASTICA AGUDA	17
LEUCEMIA MIELOCITICA CRONICA	35
T O T A L	69

indicó antes.

Dado que en un trabajo previo (74), se encontró que los leucoblastos leucémicos se encuentran forrados in vivo por anticuerpos anti-ANE, y que éstos desaparecen de la superficie celular a los cuatro días de cultivo in vitro, fue necesario obtener estas células después de un cultivo por ese lapso, antes de ser probadas por la técnica de microcitotoxicidad.

#### CULTIVO DE CELULAS LEUCEMICAS:

Se intentó cultivar los leucoblastos de los 47 pacientes mencionados, de preferencia cuando no estaban recibiendo medicamentos quimioterápicos contra la leucemia, por lo cual se efectuaron de uno a tres cultivos del mismo caso en diferentes fechas, por lo que en total se hicieron 98 cultivos. Todos se encontraban en fase de recurrencia de su leucemia por lo que presentaban de 40% a 90% de células blásticas o inmaduras en la sangre periférica.

La mezcla de los leucocitos y leucoblastos de la sangre de los pacientes fueron separadas bajo condiciones de asepsia por el método de Böyum (79);

## MATERIAL:

Tubos de plástico de 12 x 75 mm. (Falcon), tapados - herméticamente, esterilizados en envase individual.

Tubos de vidrio de 12 x 75 mm. con tapón de rosca, - esterilizados.

Perlas de vidrio de 4mm., esterilizadas.

Pipetas serológicas de 5 y 10 ml., esterilizadas.

Pipetas Pasteur esterilizadas.

Cámara cuentaglóbulos tipo Neubauer.

Cubreobjetos.

## Aparatos:

Centrífuga Sorvall GLC - 1.

Estufa precisión Thelco Mod. 16 a 37°C, temperatu--  
ra  $\pm$  0.2.

Microscopio invertido de contraste de fases (U. P. I.-  
Zeiss).

**Reactivos:**

Ficoll (Pharmacia) de peso molecular alrededor de -  
400 000.

Hypaque (Winthrop) solución al 50% en agua destilada  
y esterilizado.

Mezcla de Ficoll-Hypaque, esterilizado en autoclave  
después de prepararlo.

Medio F-10 (Grand Island Biol. Lab.) esterilizado --  
por filtración Millipore.

Albúmina humana (Cutter) esterilizada por filtración  
en Millipore.

Penicilina (Squibb).

Estreptomycin (Hoechst).

Medio F-10 con albúmina.

**Preparación de Reactivos:**

Ficoll: Se disolvieron 9 g. de Ficoll en 100 ml. de --

agua destilada, para preparar la solución al 9%.

Hypaque: 68 ml. de Hypaque al 50% se aforaron a -- 100 ml. con agua destilada, para obtener la solución al 34%.

Mezcla de Ficoll - Hypaque: A 24 partes de la solu-- ción de Ficoll al 9% se le agregaron 10 partes de la solución de Hypaque al 34%, para dar una solución de densidad 1.076.

Medio F-10 con albúmina: A 100 ml. de medio F-10 - se añadieron 5 g. de albúmina humana (Cutter), para dar una con-- centración de 5 g. en 100 ml., más 0,1 ml. de penicilina crystaliza da de una solución conteniendo 125 000 unidades/ml. para obtener - una concentración de 125 unidades/ml. y 0,1 ml. de una dilución de estreptomycin con 125 000 microgramos/ml. para dar una solución de 125 microgramos/ml.

#### T E C N I C A:

En un tubo de ensaye se colocaron 3 ml. de la mezcla de Ficoll-Hypaque y sobre ella se colocó resbalando por la pared -- del tubo 1,5 ml. de sangre leucémica desfibrinada por agitación --- con perlas de vidrio, teniendo cuidado de conservar la interfase --

que se forma entre la solución de Ficoll-Hypaque y la sangre. Los tubos se centrifugaron a 1000 g. por 30 minutos, al cabo de los cuales los eritrocitos se depositaron en el fondo del tubo; el suero queda en el sobrenadante y entre éste y la solución de Ficoll-Hypaque se recuperaron los leucoblastos leucémicos y leucocitos normales del paciente. Estos se recogieron de la interfase por aspiración con pipeta Pasteur y se lavaron en 180 volúmenes de medio de cultivo F-10 por centrifugación a 1000 g. durante 15 minutos. Enseguida se resuspenden en 3 ml. de medio de cultivo F-10 con albúmina en tubos esterilizados de plástico, tapados herméticamente, ajustando la suspensión celular a un millón de leucocitos/ml. en cámara cuentaglóbulos y microscopio invertido de contraste de fases a 500 X. Con los leucoblastos se obtienen también los leucocitos normales del paciente, en la misma proporción en que aparecen en los frotis sanguíneos.

Los tubos se dejaron tapados herméticamente en cultivo de cuatro a seis días a 37°C, al cabo de los cuales se lavaron en 180 volúmenes de medio de cultivo fresco y luego se comprobó la viabilidad celular al microscopio invertido de contraste de fases a 125 y 500 diámetros de amplificación. Las células viables se observaron móviles y refringentes, mientras que las células muertas

se vieron inmóviles y oscuras.

#### PRUEBA DE MICROCITOTOXICIDAD (MCT):

Se empleó el procedimiento de la técnica de microcitotoxicidad de Terasaki (80);

#### M A T E R I A L:

Microjeringas Hamilton 705-N, 710-N y 725-N.

Placas excavadas Falcon No. Cat. 3034.

Portaobjetos de vidrio de 75 x 50 mm.

#### Aparatos:

Congelador Forma-Scientific a  $-70^{\circ}\text{C}$ .

Microscopio invertido de contraste de fases (U.P.I - Zeiss).

#### R e a c t i v o s:

Suero fresco de conejo.

Eosina (Allied Chemicals).

Formol (Arleco) al 30%.

Aceite Mineral U.S.P. (Nujol).

#### Preparación de Reactivos:

Eosina: Se disolvieron 5 g. de Eosina amarilla en --  
100 ml. de agua destilada.

Formol: Al formol al 30%, se añadieron cuantas go--  
tas fueron necesarias de una dilución 0.1N de hidróxido de sodio,  
hasta obtener un pH de 7.

#### T E C N I C A:

Las pruebas se hicieron en placas de 60 excavaciones  
para micropruebas, las cuales contienen 10 hileras con 6 pozos  
cada una, los que se cubren con 5 microlitros de aceite mine--  
ral para evitar la evaporación de los reactivos que se usan a --  
continuación.

Los sueros, ya sean de los pacientes, de los pa--



rientes o de los donadores sanos se colocaron en volúmenes de 1 microlitro en cada pozo de una serie de placas excavadas, siguiendo un orden anotado en una hoja patrón. Enseguida las placas excavadas conteniendo los sueros se conservaron a  $-70^{\circ}\text{C}$ , hasta el momento de su empleo para la prueba de MCT.

La prueba de MCT se realizó en dos etapas de incubación de las células leucémicas, para lo cual se preparó una suspensión celular conteniendo 2 000 leucoblastos viables por microlitro y se repartieron en cada pozo en volúmenes de un microlitro, incubándose a  $22^{\circ}\text{C}$  durante 30 minutos con los sueros problema como fuente potencial de anticuerpos, y enseguida 30 minutos a la misma temperatura con 5 microlitros de suero fresco de conejo como fuente de complemento. Las células se tiñeron agregando a los pozos 2 microlitros de una solución de eosina durante 2 minutos y enseguida se fijaron con la solución de formol. Las excavaciones de la placa se cubren con un portaobjetos de vidrio.

Los resultados se observaron en el microscopio invertido, con iluminación de contraste de fases. Las lecturas

de viabilidad celular en todas las excavaciones se compararon con los testigos negativos incluidos en cada prueba. Estas fueron excavaciones sin suero problema o sin complemento.

Se consideran células muertas por la técnica de tinción o exclusión de la eosina, aquellas en las cuales el colorante penetra al interior de las células y las tinte intracelularmente, como consecuencia de la lesión de la membrana que produce por la acción del anticuerpo y del complemento. Estas células se ven de color rojo obscuro y de mayor tamaño que las células vivas que no fueron afectadas por la reacción antígeno-anticuerpo-complemento. Las células vivas se ven de menor tamaño y rodeadas de un halo de refringencia brillante y amarillo a su alrededor, porque el colorante no las penetra. En cada pozo el resultado se consideró negativo cuando aparecen no más del 10% de leucoblastos muertos y positivo cuando hubo más del 80% de ellos muertos.

IV. R E S U L T A D O S.

El número total de cultivos intentados fue de 98, -- de los cuales 53 correspondieron a enfermos leucémicos que -- se encontraban en tratamiento y 45 a pacientes que se encontraban sin recibir medicamentos antileucémicos desde diez días -- antes a la toma de sangre para el cultivo (Cuadro 3).

De los 26 cultivos de células leucémicas que se -- obtuvieron, cuatro fueron de enfermos de leucemia linfocítica -- crónica, dos de linfoblástica aguda, uno de mieloblástica aguda y diecinueve de mielocítica crónica (Cuadro 4).

En 72 casos adicionales, no fue posible obtener -- cultivos de leucoblastos con un porcentaje de viabilidad celular adecuado para efectuar la prueba de microcitotoxicidad.

El medio F-10 adicionado de 5% de albúmina humana se encontró adecuado para conservar la viabilidad de los -- leucoblastos in vitro, sin necesidad de cambiarlo. La mayor -- viabilidad celular de los cultivos correspondió a la leucemia -- mielocítica crónica, posiblemente debido a una mayor supervi-

## C U A D R O 3

GRUPOS DE CULTIVOS DE PACIENTES LEUCEMICOS EN LOS QUE SE INTENTO EL CULTIVO DE LEUCOBLASTOS CON ANOTACION DE DIAGNÓSTICOS Y SI ESTABAN O NO RECIBIENDO MEDICAMENTOS ANTILEUCEMICOS		
Tipos de Leucemia	Con Tratamiento	Sin Tratamiento
LINFOBLASTICA AGUDA	17	6
LINFOCITICA CRONICA	7	5
MIELOBLASTICA AGUDA	5	1
MIELOCITICA CRONICA	22	35
T O T A L E S	53	45

## C U A D R O 4

GRUPOS DE CULTIVOS OBTENIDOS DE PACIENTES LEUCEMICOS, CON ANOTACION DE DIAGNOSTICOS Y SI ESTABAN O NO RECIBIENDO MEDICAMENTOS ANTILEUCEMICOS		
Tipos de leucemias	Con Tratamiento	Sin Tratamiento
LINFOBLASTICA AGUDA	0	2
LINFOCITICA CRONICA	1	3
MIELOBLASTICA AGUDA	0	1
MIELOCITICA CRONICA	7	12
T O T A L E S	8	18

vencia de este tipo de leucoblastos in vitro bajo las condiciones del presente trabajo.

Con las células que se obtuvieron de los cultivos leucémicos se efectuaron las pruebas de MCT. De ellos, se hicieron 1359 pruebas con los sueros de los testigos normales, resultando quince de ellas positivas (1.1%). Se hicieron 901 -- pruebas con los sueros de los otros pacientes leucémicos, resultando positivas noventa y seis (10.6%). Se efectuaron 855 -- pruebas con el suero de los parientes que convivían con los pacientes leucémicos, resultando positivas sesenta y cuatro de -- ellas (7.5%) (Cuadro 5).

C U A D R O 5

RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE MICROCITOTOXICIDAD CON SUEROS NORMALES, DE PACIENTES LEUCEMICOS Y DE LOS PARIENTES DE PACIENTES LEUCEMICOS, PROBADOS CONTRA LOS LEUCOBLASTOS CULTIVADOS DE ESTOS				
Cultivos leucémicos con sueros de:	Total de Pruebas	Pruebas Positivas	Porcentaje de pruebas positivas	P con relación a I
Individuos normales	1359	15	1,1	--
Pacientes leucémicos	901	96	10,6	0,01
Parientes de leucémicos	855	64	7,5	0,01



V. D I S C U S S I O N.

Existen varios grupos de padecimientos neoplásicos - en los que se han encontrado anticuerpos en las personas sanas de la población general, en los individuos que habitan en zonas en donde algunos tumores son endémicos o entre los parientes - o individuos sanos que conviven con el caso de la enfermedad - neoplásica (24-76).

Estos resultados han hecho sospechar la presencia - de un agente infeccioso, posiblemente viral. Este es capaz de inducir la enfermedad o una respuesta inmune en determinadas - personas, las cuales desarrollan el tumor o bien lo rechazan - por una respuesta inmune adecuada. Si el paciente desarrolla - la neoplasia, o bien si queda sano, en ambos casos ocurriría - una respuesta inmune contra la neoplasia que se haya producido o abortado. El encontrar anticuerpos en sujetos sanos, despierta la duda de si en ellos ya han aparecido células malignas en - su organismo, si persisten en estado latente o si han sido re--

chazadas por mecanismo inmunológicos (1-14).

En los casos clínicos de algunas neoplasias, frecuentemente se encuentran anticuerpos que pueden corresponder a los -- llamados de facilitación inmunológica o bloqueadores (15-22, 81). -- Estos son capaces de inhibir la respuesta inmune celular de re-- chazo hacia las células malignas y favorecer el crecimiento --- neoplásico. De hecho, la respuesta celular ha sido considerada el principal mecanismo de vigilancia inmunológica contra el --- desarrollo de células neoplásicas en el organismo (11-12) y la -- respuesta inmune humoral como de facilitación inmunológica --- (15-22, 81), favorecedora de la permanencia y proliferación de -- las células malignas en el organismo.

Se ha encontrado (74), que los pacientes leucémicos no tratados o con leucemias resistentes a los agentes quimioterapéuticos presentan en su suero y sobre las células malignas -- anticuerpos anti-leucoblasto demostrables por las técnicas de -- MCT. Dichos anticuerpos no fijan complemento autólogo, por -- lo cual fueron considerados del tipo de facilitación inmunológi-- ca. En el presente trabajo no se intentó investigar la capaci-- dad para fijar complemento autólogo de los anticuerpos del sue--

ro de los pacientes leucémicos, de los parientes o de los donadores sanos, dado que el período de almacenamiento de los sueros, mientras se obtenían los cultivos de las células leucémicas de todos los casos, podría afectar la actividad del sistema del complemento y se empleó como fuente de complemento - el suero fresco de conejo.

El hecho de haber encontrado anticuerpos antileucoblastos con una frecuencia mayor entre los parientes de los pacientes leucémicos que en la población general sugiere la posibilidad de que en contacto con las familias exista un agente oncogénico, posiblemente viral. Sin embargo, llama la atención - que los sueros de los familiares de un paciente leucémico raramente dieron reacciones positivas contra las células leucémicas de éste, y que habitualmente fueran contra los leucoblastos de - pacientes de otras familias.

Existe información en la literatura respecto a la etiología viral de leucemias y otros tipos de neoplasias de animales (89-90) de experimentación. De ellos ha sido posible obtener los virus oncogénicos e inducir la transformación maligna in vivo e in vitro de células normales. En esta forma ha si-

do posible la demostración de la etiología viral de muchas neoplasias experimentales, cumpliendo los postulados de Koch. Esta evidencia no es posible obtenerla en seres humanos, dada la imposibilidad de transmitir deliberadamente un padecimiento -- maligno de un ser humano a otro, ni se tienen noticias de que esto haya ocurrido accidentalmente. En favor de una etiología viral en la leucemia humana se ha observado la transformación maligna de las células precursoras de la médula ósea de un niño cuando éstas fueron trasplantadas a una hermana leucémica - (77) y el hallazgo de transcriptasa inversa en los leucoblastos - leucémicos (78).

Otro dato que podría hablar en favor de una posible etiología viral de la leucemia, podría ser el encontrar antígenos que dan reactividad cruzada entre el suero de diferentes -- pacientes leucémicos o la existencia de anticuerpos antileuco--- blastos en las personas sanas que conviven con el caso de la -- enfermedad, o en individuos de la población general, como se -- ha encontrado en el presente trabajo.

VI. C O N C L U S I O N E S.

Se investigó la presencia de anticuerpos citotóxicos - anti-leucoblastos leucémicos en individuos sanos, parientes y - pacientes con esta enfermedad. Se encontró un 1.1% de positividad en los individuos sanos, 7.5% entre los parientes y 10.6% - en los pacientes, por la prueba de M C T.

El hecho de haber encontrado un porcentaje no muy - elevado de positividad entre los familiares de los pacientes leu- cémicos o entre los donadores sanos, podría hablar en favor - de una transmisibilidad limitada del posible agente oncogénico - en humanos o de una reducida frecuencia de transformación leu- cémica por mutaciones espontáneas entre los grupos estudiados.

El paciente leucémico puede beneficiarse con la ad-- ministración pasiva de anticuerpos de rechazo contra las células leucémicas que se obtienen de sus familiares o de otros donado- res (82). La información adicional que se obtenga en este sen-

tido puede ser de utilidad para comprender mejor las relaciones inmunológicas existentes entre las células malignas y el organismo portador de la neoplasia, así como sentar mejores bases para el tratamiento inmunoterápico de la leucemia y otras neoplasias.



VII. BIBLIOGRAFIA.

1. Day, E.D. 1965. The Immunochemistry of Cancer. Charles C. Thomas Pub. Springfield Illinois.
2. Haughton, G. and D.B. Amos. 1968. Immunology of Carcinogenesis. Cancer Res. 28 : 1839.
3. Smith, R.T. 1968. Tumor specific immune mechanisms. New Eng. J. Med. 278 : 1207.
4. van Rood, J.J. and A. van Leeuwen., A. Schippers., H. Balner. 1968. Human histocompatibility antigens in normal and neoplastic tissues. Cancer Res. 28 : 1415.
5. Hamilton-Fairley, G. 1969. Immunity to malignant disease in man. Brit. Med. J. 2 : 467.
6. Law, L.W. 1969. Studies on the significance of tumor antigens in induction and repression of neoplastic diseases : Presidential Address : Cancer Res. 29 : 1.

7. Hellström, I. and K.E. Hellström., G.E. Pierce, J.P.S. Yang. 1968. Cellular and humoral Immunity to different types of human neoplasms. *Nature* 220 : 1352.
8. Oettgen, H.J. and L.J. Old., E.A. Boyse. 1971. Human Tumor Immunology. *Med. Clin. North. Am.* 55 : 761.
9. Editorial. 1966. Spontaneous regression of Cancer *Lancet* 2 : 896.
10. Burnet, F.M. 1961. Immunologic recognition of self. *Science* 133 : 307.
11. Burnet, F.M. 1967. Immunological aspects of malignant disease. *Lancet* 1 : 1171.
12. Keast, D. 1970. Immunosurveillance and Cancer. *Lancet* 2 : 710.
13. Simposium sobre Inmunología y Cáncer. 1961. *Cancer Res.* 21 : 1165.
14. Everson, T.C. and W.H. Cole. 1956. Spontaneous regression of Cancer : Preliminary report. *Ann. Surg.* 144 : 366.

15. Klein, G. and F.H. Oettgen. 1969. Immunologic factors involved in the growth of primary tumors in human or animal hosts. *Cancer Res.* 29 : 1741.
16. Baldwin, R.W. 1971. Tumor associated antigens and tumor host interactions. *Roy. Soc. of Med.* 64 : 1030.
17. Kaliss, N. and A. A. Kandtsch. 1956. Acceptance of tumor homografts by mice injected with antiserum. I. Activity of serum fractions. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 91 : 118.
18. Goner, P.A. and N. Kaliss. 1959. The effect of isoantibodies in vivo on three different transplantable neoplasms in mice. *Cancer Res.* 19 : 824.
19. Kaliss, N. 1957. The survival of homografts in mice pre-treated with antisera to mouse antigens. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 64 : 977.
20. Kaliss, N. and B.F. Bryant. 1968. Factors determining homograft destruction and immunological enhancement in mice receiving successive tumor inocula. *J. Nat. Cancer Inst.* 20 : 691.
21. Green, H. N. and R. Wilson. 1958. Further observations on tumor enhancing factors: Their bearing on the immunological theory of cancer. *Nature* 182 : 1054.

22. Müller, G. 1968. Studies on the mechanisms of immunological enhancement of tumor homografts. I. Specificity of immunological enhancement. *J. Nat. Cancer Inst.* 30 : 1153.
23. Hutchin, P. 1968. Mechanisms and functions of immunological enhancement. *Surg. Gynec. Obst.* 126 : 1331.
24. Henle, G. and W. Henle. 1966. Immunofluorescence in cells derived from Burkitt lymphoma. *J. Bacteriol.* 91 : 1248.
25. Klein, G. and G. Pearson., G. Henle, W. Henle, G. Goldstein, P. Clifford. 1968. Relations between E. B. viral and cell membrane immunofluorescence of Burkitt tumor cells. III Comparison of blocking of direct membrane immunofluorescence and anti EBV reactivities of different sera. *J. Exp. Med.* 129 : 697.
26. Pearson, G. and G. Klein, G. Henle, W. Henle, P. Clifford. 1969. Relations between Epstein-Bar viral and cell membrane immunofluorescence in Burkitt tumor cells. IV. Differentiation between antibodies responsible for membrane and viral immunofluorescence. *J. Exp. Med.* 129 : 707.
27. Lin, T.M. and C.S. Yang, S.W. Ho., J.F. Chiou, et al. 1972. Antibodies to Herpes-type virus in Nasopharyngeal carcinoma and control groups. *Cancer* 293 : 603.

28. Klein, G. and P. Clifford, E. Klein, et al. 1966. Search for tumor-specific immune reactions in Burkitt lymphoma patients by the membrane immunofluorescence reaction. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 55 : 1628.
29. Old, L. J. and E. A. Boyce, H. F. Oettgen, et al. 1966. Precipitating antibody in human serum to an antigen present in cultured Burkitt's lymphoma cells. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 56 : 1699.
30. Henle, G. and W. Henle, V. Diehl. 1968. Relation of Burkitt's tumor-associated herpes-type virus to infectious mononucleosis. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 59 : 94.
31. Hirshaut, Y. and P. Glade, L. Octavio, et al. 1970. Sarcoidosis another disease associated with serologic evidence for herpes-like virus infection. *N. Engl. J. Med.* 283 : 502.
32. Morton, D. L. and R. A. Malongren, W. T. Hall, et al. 1969. Immunologic and virus studies with human sarcomas. *Surgery* 66 : 152.
33. Giraldo, G. and E. Beth, Y. Hirshaut, et al. 1971. Human sarcomas in culture: foci of altered cells and a common antigen: induction of foci and antigen in human fibroblast cultures by filtrates. *J. Express. Med.* 133 : 454.

34. Oettgen, H. F. and T. Aoki, L. J. Old, et al. 1968. Suspension culture of a pigment-producing cell line derived from a human malignant melanoma. J. Natl. Cancer Inst. 41 : 827.
35. Muna, M.N. and S. Marcus, C. Smart. 1969. Detection by immunofluorescence of antibodies specific for human malignant melanoma cells. Cancer 23 : 88.
36. Lewis, M.G. and R.L. Ikonopisov, R.C. Nairn, et al. 1969. Tumor specific antibodies in human malignant melanoma and their relationship to the extent of the disease. Br. Med. J. 3 : 547.
37. Abelev, G.I. 1968. Production of embryonal serum alpha-globulin by hepatomas: a review of experimental and clinical data. Cancer Res. 28 : 1344.
38. Buffe, D. and C. Rimbaut, J. Lemerle, et al. 1970. Présence d'une ferroprotéin d'origine tisulaire l'alpha-2H dans le serum des enfants porteurs de tumors. Int. J. Cancer 5 : 85.
39. Alpert, M.E. and J. Uriel, B. de Nichaud. 1968. Alpha fetoprotein in the diagnosis of human hepatoma. N. Engl. J. Med. 278 : 984.
40. Tatarinov, Y.S. 1966. Content of embryo-specific alpha-globulin in fetal and neonatal sera and sera from adult humans with primary carcinoma of the liver. Fed. Proc. 25 (suplem. traduccion) (translation suppl) : 344.

41. Mawas, C. and M. Kohen, J. Lemerle, et al. 1969. Serum alpha-1 foeto-protein (fetuin) in children with malignant ovarian or testicular teratomas : preliminary results. *Int. J. Cancer* 4 : 76.
42. Häkkinen, I. and O. Järvi, J. Grönroos. 1968. Sulphoglycoprotein antigens in the human alimentary canal and gastric cancer. An immunohistological study. *Int. J. Cancer* 3 : 572.
43. Burtin, P. and D. Buffe, S. V. Kleist, et al. 1970. Mice en évidence de l'antigène carcinoembryonnaire spécifique des cancers digestifs dans des tumeurs humaines entre tenues en culture organotypique. *Ing. J. Cancer* 5 : 88.
44. Gold, P. and S. O. Freedman. 1965. Demonstration of tumor specific antigens in human colonic carcinomas by immunological tolerance and absorption techniques. *J. Exp. Med.* 121 : 439.
45. Gold, P. and M. Gold, S. O. Freedman. 1968. Cellular location of carcinoembryonic antigens of the human digestive system. *Cancer Res.* 28 : 1331.
46. Thompson, D. M. P. and J. Koupey, S. O. Freedman, et al. 1969. The radioimmunoassay of circulating carcinoembryonic antigen of the human digestive system. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 64 : 161.



47. Häkkinen, L. and S. Vilkkari. 1969. Occurrence of fetal sulphoglycoprotein antigen in the gastric juice of patients with gastric diseases. *Ann. Surg.* 169 : 277.
48. *Annals of surgery.* 1969. 277.
49. Fishman, W.H. and N.I. Inglis, L.L. Stolbach, M.J. Krant. 1968. A serum alkaline phosphatase isoenzyme of human neoplastic cell origin. *Cancer Res.* 28 : 150.
50. Fishman, W.H. and N.I. Inglis, S. Gree. 1971. Regan isoenzyme: a carcinoplacental antigen T. N - I. *Cancer Res.* 31 : 1054.
51. Stonehill, E.H. and A. Bendich. 1972. Retrogenic expression: The reappearance of embryonal antigens in cancer cells. *Nature* 228 : 370.
52. Alexander, P. 1972. Foetal "antigens" in cancer cells. *Nature* 235 : 137.
53. Catalano, L.W. and L.D. Johnson. 1971. Herpes virus antibody and carcinoma in situ of the cervix. *J. A. M. A.* 217 : 447.
54. Smith, J.W. and S.P. Lowry, J.L. Melnick, et al. 1972. Antibodies to surface antigens of herpesvirus types 1 and type-2-infected cells among woman with cervical cancer and control woman. *Infection and immunity* 5 : 305.

55. Seligman, M. and P. Grabar, J. Bernard. 1955. Etudes sur la constitution antigénique des leucocytes normaux et leucémiques par les méthodes de précipitation spécifique en milieu géliné. *Le sang.* 26 : 52.
56. Brody, J. 1962. Reactivity of red cell eluates and serum in patients with acquired hemolytic anemia and chronic lymphocytic leukemia. *J. Clin. Inv.* 41 : 471.
57. Dore, J.F. and L. Marholev, R. Motta, et al. 1967. New antigens on human leukemic cells, and antibody in the serum of leukemic patients. *Lancet* II : 1396.
58. Yoshida, T.O. and K. Inay, T. Sugiyama. 1969. Autoantibodies to leukemic cells detected by immune adherence (abstract). *J. Immunol.* 102 : 1343.
59. Armstrong, D. and G. Henle, W. Henle. 1966. Complement fixation test with cells lines derived from Burkitt's lymphoma and acute leukemias. *J. Bact.* 91 : 1257.
60. Grab, S. and A. Stein, G. Sims. 1962. The production of antihuman leukemia serum in rabbits. *J. Immunol.* 88 : 142.
61. Holeckowa, E. and B. Selka, B. Cumblivski, et al. 1963. Specific antileukemic activity of heterologous immune sera from animals pretrated after birth with normal human antigens. *Acta Un. Int. Cancer* 19 : 197.

62. Fink, M. and M. Karon. 1964. Application of immunofluorescence to the study of human leukemia. *J. Nat. Cancer Inst.* 33 : 581.
63. Fink, M.A. and M. Karon, F.J. Rauscher, *et al.* Further observations on the immunofluorescence of cells in human leukemia. *Cancer* 18 : 1317.
64. Berceanu, S.T. and M. Stoichita, I. Iamandi. 1965. Recherches sur la spécificité antigénique des leukocytes des leukemies aigües ou Chroniques. *Proc. 10th. Congr. Int. Soc. Blood. Trans. Stokholm.* 1964. *Biblioteca Hematológica. Fasc. 23*, part. 1, p. 185.
65. Yohn, D.S. and J.S. Horoszewick, R.R. Ellison, *et al.* 1968. Immunofluorescence studies in human leukemia. *Cancer. Res.* 28 : 1692.
66. Henly, W. 1968. Evidence for viruses in acute leukemia and Burkitt's tumor. *Cancer* 21 : 580.
67. Heberman, R.B. and J.H. Fahey. 1968. Cytotoxic antibody in Burkitt's tumor and normal human serum reactive with cultures of lymphoid cells. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 127 : 938.
68. Aokit. 1971. Surface antigens of murine leukemia cells and murine leukemia viruses. *Transplant. Proc.* 3 : 1195.
69. Bach, M.L. and Bach F.H., P. Joo. 1969. Leukemia - associated antigens in the mixed leukocyte culture test. *Science* 166 : 1520.

70. Fridman, W.H. and F.M. Kóurilsky. 1969. Stimulation of lymphocytes by autologous leukemic cells in acute leukemia. *Nature* 224 : 277.
71. Rudolph, R.H. and E. Michelson, E.D. Thomas. 1970. Mixed leukocyte reactivity and leukemia study of identical siblengs. *J. Clin. Invest.* 40 : 2271.
72. Sternsward, J. and B. Johansson, E. Svedmyr, R. Sunbland. 1970. Indication of tumor specific cells bound immunological reactivity and depressed general reactivity in a pair of twins. *Cling. Exp. Immunol.* 6 : 429.
74. Gómez Estrada, H. y E. Arechavala Perichard, J. Arellano Blanco, A. Isassi Chapa, P. Fernández Quintero, A. Luján Pedroza. 1971. Anticuerpos a células leucémicas. *Patología* 9 : 195.
75. Klein, G. and H.F. Oettgen. 1969. Immunologic factors involved in the growth of primary tumors in human or animal hosts. *Cancer Res.* 29 : 1741.
76. Wood, W.C. and D.L. Morton. 1970. Microcitotoxicity tests: Detection in sarcoma patients of antibody cytotoxic to human sarcoma cells. *Science* 170 : 1318.
77. Fialkow, P.J. and J.L. Bryant, E.D. Thomas, P.E. Neiman. 1971. Leukaemic transformation of engrafted human marrow cells in vivo. *Lancet* I : 251.

78. Ting, C.R. and S.Y. Stringer, R.C. Gallo. 1972. Reverse transcriptase R.N.A. tumor virus transformation and derivatives of Rifomycin S.V. *Nature N. B.* 236 : 163.
79. Böyum, A. 1968. Separation of leukocytes from blood and bone marrow. *Scand. J. Clin. Lab. Invest. Supp.* 97 : 21.
80. Terasaki, P.I. and J.D. Mc. Clelland. 1964. Microdroplet assay of human serum cytotoxins. *Nature* 204 : 998.
81. Hellström, I. and K.E. Hellström. 1971. Some aspects of the immune defense against cancer. II. In vitro studies on animal tumors. *Cancer* 28 : 1266.
82. Bias, W.B. and G.W. Santos, P.J. Burke, G.M. Mullins, R.L. Humphrey. 1972. Cytotoxic antibody in normal human serums reactive with tumor cells from acute lymphocytic leukemia. *Science* 178 : 304.