



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO
INSTITUTO NACIONAL DE CANCEROLOGIA

**EVALUACION DEL MARCADOR TUMORAL
CYFRA 21-1 EN CARCINOMA EPIDERMÓIDE
CERVICO UTERINO.**



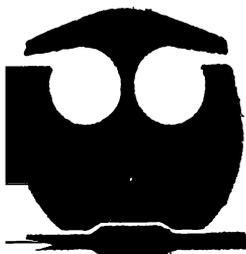
TESIS DE POSTGRADO

QUE PARA OBTENER EL DIPLOMA DE
E S P E C I A L I S T A E N
BIOQUIMICA CLINICA

P R E S E N T A

QFB MARIA ANTONIETA MOLINA MARADIAGA

DIRECTORA DE TESIS:
DRA. JEANNETTE GUARNER LANS



FACULTAD DE
QUIMICA

MEXICO, D. F.



1996



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.

A LA MEMORIA DE MI QUERIDA TIA ANTONIETA:

ESTE TRABAJO VA POR TI.

TE EXTRAÑARE SIEMPRE.

A la Dra. JEANNETTE GUARNER:

QUIEN DE MANERA INCONDICIONAL
ME DIO LA MANO CUANDO CREI,
QUE TODO ESTABA PERDIDO.
" GRACIAS POR CONFIAR EN MI "

Tony.

A DIOS: por acompañarme día con día
y darme la oportunidad de realizar
mis metas.

A MIS PADRES: porque sin ustedes mi sueño
no se hubiera realizado, a ustedes les
debo lo que soy y lo que será de mi vida;
estén seguros que no los defraudaré.

A mi Abuelita MARGARITA: ejemplo de bondad y humildad.

A mi Abuelito JOSE: gracias
por todo, no olvides que te
queremos.

A mis hermanos: Karla y Juan José

Les prometo ser su apoyo

en el camino que apenas inician

A mi querido sobrino:

Luis Alonzo; aún no te conozco
pero ya te quiero.

A la memoria de Miguel y María Luisa:

los extrañamos

A mis tías ROSA, GLORIA e IRMA: no se imaginan

cuanto las quiero.

A Ligia: Gracias por compartir todos esos momentos.

A mi querida Dulce: Porque siempre estuviste a mi lado
especialmente, cuando más te necesi-
taba. Sin tí no lo hubiera logra-
do. Te debo una más. No tengo con -
que pagarte y agradecerte todo lo -
que hiciste por mí.

A mi dulce Angelito: por su paciencia, compañía y dedicación
en esas noches de arduo trabajo.

A Lucy, Ely y Winy: mi más sincero aprecio por su
cariño, amistad, paciencia y
confianza.

A mi amigo Héctor: Jamás te olvidaré, sigue adelante
eres un NENUCO SENSACIONAL

A mis Amigos del Laboratorio Clínico: Paty, Maiite,
Aurora, Lupita, Valentin, Paty Olmos,
Josefina, Marisela, Juan Carlos, Luis,
Ricardo, Rene, Pili, Chayo, Delfina,
Elva, Florencio, Rafael. Por todos los
momentos que pasamos juntos siempre los
recordaré.

A la Dra. Ma. Dolores Lastra: Por el apoyo que siempre me ha
brindado.

A mis maestros de la Especialidad: Magdalena Oliva,
Jesús Guzmán y Fernando Montiel.

A la Dra. Rebeca Franco: " mi gran maestra

A las Dras. Lupita Alvarez y Paty Baz:
mil gracias por todo.

A los Doctores: Alán Hernández, Paty Cortés, Freadman Cepeda
y Alejandro López Cueto.

A mis compañeros: Walter, Raúl, Héctor, Sixta, Lupita,
Pancho, Laura y Vicente.

A mis amigas Mirna y Mary: las quiero mucho.

A tíos y tías: con mucho cariño.

A mis primos: con amor.

A Fredy Armando, Marcela, Nicole y Ma. Antonieta:
el vivo retrato de lo que tanto amamos
y ya se nos fue.

A Dalila: mi buena amiga.

Al Dr. Gilberto Solorza: mi jefe, mi maestro y sobre todo el
amigo que siempre me brindo su apoyo;
en donde quiera que este no olvide que
puede contar conmigo y que el cariño y
el respeto que siento para Usted sera
perdurable.

Su consen.

A Myriam y Elizabeth: por el cariño que siempre me hicieron sen-
tir y la confianza que siempre me han de-
mostrado ante todo y todos.

A Armando: por el apoyo incondicional que
siempre me brindaste para la
realización de este trabajo.

A Yuri y Cristina, Verónica, Cuahutémoc, Enrique,

Felipe, Claudia, Manuel, Arturo y Julio César.

A Elvia y Ricardo.

A mi tía Ligia: por su apoyo, confianza y cariño.

A Gabriel y Manuel: los quiero muchísimo.

A mis tíos Pepe y Blanca: los adoro y los amo, por todos los
momentos que pasamos juntos.

Su chiquititita.

A la familia Mata Padilla: mi gratitud infinita.

A la familia Mendez Antonio: gracias por todo.

A mi queridísima LUDY: no te olvido.

A mis amigos: Elda, Julián, Soco, Carmelita, Lucy, Zoila,
Yola, Bety, Angeles, Corina, Chely, Aurora,
Aurea, Soco Vargas, Hayde, Claudia, Felix,
Hilario y mi queridísimo Efrén Maldonado.

A mi querido e inolvidable:

INSTITUTO NACIONAL DE CANCEROLOGIA.

A todo el personal del Laboratorio Clínico:

POR EL APOYO QUE SIEMPRE ME BRINDARON
PARA MI MADURACION TANTO PERSONAL COMO
PROFESIONAL.

A la Compañía LAKESIDE S.A. de C.V. por el apoyo que me
brindaron en este trabajo.en especial a :
Mary Carmen Barrientos. Silvia Suárez,
Armando Tellez, Eleonora Escalante y
Gustavo Sánchez.

Al Honorable Jurado.

Y A TODOS Ustedes GRACIAS.

I N D I C E

CAPITULO I	I N T R O D U C C I O N	pág.
1.1.	Planteamiento del problema	1
1.2.	Objetivos	5
1.3.	Hipótesis	5
CAPITULO II	A N T E C E D E N T E S	
2.1.	Neoplasia Cérvico Uterina	7
	2.1.1. Epidemiología	7
	2.1.2. Historia Natural de la enfermedad	9
	2.1.3. Tipos Histológicos	11
	2.1.4. Clasificación por estadios	11
	2.1.5. Síntomas	13
	2.1.6. Diagnóstico	14
	2.1.7. Factores de riesgo	15
	2.1.7.1. Actividad Sexual	15
	2.1.7.2. Tabaquismo	16
	2.1.7.3. Anticonceptivos orales	17
	2.1.7.4. Virus del Papiloma Humano	18

2.2.	Marcadores Tumorales y su importancia	19
	2.2.1. Utilidad de los marcadores tumorales	24
2.3.	Importancia de los marcadores tumorales en el cáncer cérvico uterino.	30
2.4.	Marcador Tumoral CYFRA 21-1	33

CAPITULO III P A R T E E X P E R I M E N T A L

3.1.	Diagrama de flujo	38
3.2.	Material, Reactivos y Equipo	39
	3.2.1. Material biológico	39
	3.2.2. Material de laboratorio	39
	3.2.3. Reactivos	40
	3.2.4. Equipo	40
3.3.	Metodología	41
3.4.	Revisión de expedientes	43
3.5.	Análisis estadístico	44

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

4.1.	Controles Sanos	46
4.2.	Controles con cáncer no epidermoide	48
4.3.	Pacientes con diagnóstico de cáncer de pulmón	51

4.4.	Pacientes con diagnóstico de cáncer de cabeza y cuello	54
4.5.	Pacientes con diagnóstico de cáncer cérvico uterino	57
4.6.	Pacientes con seguimiento de determinación del marcador tumoral CYFRA 21-1	62
4.7.	Prueba estadística de t de Student	66
4.8.	Sensibilidad y especificidad del marcador tumoral CYFRA 21-1	68

CAPITULO V D I S C U S I O N

5.1.	Controles Sanos	72
5.2.	Controles con cáncer no epidermoide	73
5.3.	Pacientes con diagnóstico de cáncer de pulmón	74
5.4.	Pacientes con diagnóstico de cáncer de cabeza y cuello	75
5.5.	Pacientes con diagnóstico de cáncer cérvico uterino	75
5.6.	Pacientes con seguimiento de determinación del marcador tumoral CYFRA 21-1	77
5.7.	Prueba estadística de t de Student	78

5.8.	Sensibilidad y especificidad del marcador tumoral CYFRA 21-1	78
CAPITULO VI	C O N C L U S I O N E S	80
	B I B L I O G R A F I A	82

C A P I T U L O I

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

C A P I T U L O I

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

1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Mundialmente el cáncer ocupa el segundo lugar (22 %) como causa de muerte después de las enfermedades cardiovasculares con aproximadamente 160,000 nuevos casos anuales. Este número continúa aumentando año con año (5,32).

En México, según el Registro Histopatológico de las Neoplasias Malignas, el cáncer cérvico uterino ocupa el primer lugar en cuanto a la localización. Los grupos de edad más afectados son las mujeres entre los 35 y 49 años. Las principales variantes histológicas incluyen el carcinoma epidermoide (95%) y el adenocarcinoma (5%) (14). En el Instituto Nacional de Cancerología el cáncer de cuello del útero ocupa el primer lugar con un 23.53% de los tumores, siendo en su mayoría neoplasias invasoras, y sólo el 4.42% son "in situ". En comparación, el cáncer de pulmón en México se reportó como séptima localización; siendo el grupo etario más afectado aquellas personas mayores de 60 años, en hombres el 65 % de los casos se reportaron a partir de los 55 años y solamente el 34.8 % de los casos se presentan en mujeres. En pulmón, el carcinoma epidermoide constituyó la principal variante histológica (48.8 %), la segunda posición la ocupó el

adenocarcinoma (40.8 %) y la tercera el carcinoma de células pequeñas (4.7 %) (14).

La presencia de sustancias en suero que denoten la existencia de una neoplasia han sido buscadas desde principios de siglo. Estas sustancias, denominadas marcadores tumorales, aparecen frecuentemente debido al metabolismo alterado de la célula transformada o pueden ser consecuencia de la respuesta del tejido sano al estar en contacto con el tumor. Pueden determinarse histológicamente en el tejido neoplásico (marcadores tumorales celulares) o en líquidos corporales como es el suero (marcadores tumorales humorales) (18).

Una de las características de los tejidos epiteliales neoplásicos es la expresión diferencial de las proteínas conocidas como filamentos intermedios. La expresión de citoqueratinas no es solamente intracelular sino también hacia la circulación. La citoqueratina es considerada un filamento intermedio y puede clasificarse de acuerdo con su peso molecular en aquellas de alto o bajo peso (8,9).

Con la producción de los anticuerpos monoclonales dirigidos específicamente contra la citoqueratina fue posible hacer una mejor clasificación de las neoplasias de diversos tejidos, siendo característico de adenocarcinomas la positividad a citoqueratinas de bajo peso molecular, mientras que los carcinomas escamosos expresan la citoqueratina de alto peso molecular. Las

citoqueratinas de alto peso molecular (15 a 19 Kd) son particularmente abundantes en carcinomas epidermoides de diversos orígenes como son pulmón, cérvix uterino y vías respiratorias altas (8,19).

Los fragmentos de filamentos intermedios, en este caso de citoqueratina, pueden ser solubles en suero y así mismo pueden ser detectados y medidos con ayuda de anticuerpos monoclonales. Actualmente, existe el anticuerpo CYFRA 21-1 (LAKESIDE Mannheim, República Federal de Alemania) que reacciona contra fragmentos solubles de citoqueratina con peso molecular de 19 kilodaltones (9,22).

El ensayo CYFRA 21-1 fue desarrollado para detectar los fragmentos solubles de citoqueratina 19 en suero, usando dos anticuerpos monoclonales específicos, Ks 19.1 y BM 19.21. Ambos anticuerpos monoclonales reconocen un epítipo en la región de enrollamiento 2 de la citoqueratina 19 y no presenta reacción cruzada con otra citoqueratina (8). Para su detección se utiliza un ensayo inmunoenzimático tipo sandwich; la sensibilidad de la prueba se aumenta al usar estreptavidina-biotina. Independientemente del tipo histológico, CYFRA 21-1 emerge como un tipo de marcador de amplio espectro por su alta sensibilidad (8).

Este marcador ha sido probado en especial para cáncer de pulmón, por varias razones:

- a). es el tumor más frecuente en países industrializados

- b). es difícil la detección temprana del carcinoma pulmonar

- c). una gran mayoría de neoplasias pulmonares son de tipo epidermoide por lo que el marcador CYFRA 21-1 puede ser de gran utilidad. Los resultados de estos estudios (9,10,36,37) han demostrado que es un muy buen marcador para el seguimiento de pacientes con esta neoplasia.

En los países en desarrollo el problema neoplásico principal es el de cáncer cérvico uterino; siendo el tipo histológico epidermoide el más frecuente. Por esta razón se presupone que un marcador tumoral como CYFRA 21-1 puede ser de gran utilidad para el seguimiento de las pacientes (19,23). En este caso el diagnóstico temprano no es el problema ya que el cérvix es bastante accesible y se puede tener diagnóstico directo cuando las mujeres llevan a cabo exámenes anuales con estudio de Papanicolaou. En este trabajo se busca conocer la frecuencia de elevación de CYFRA 21-1 en pacientes con cáncer cérvico uterino, y ver la posibilidad de utilizarlo como marcador de seguimiento cuando las pacientes reciben tratamiento.

1.2. OBJETIVOS

1. Determinar la frecuencia de elevación del marcador tumoral CYFRA 21-1 en carcinoma epidermoide cérvico uterino.
2. Correlacionar los valores de CYFRA 21-1 con el estadio clínico de la enfermedad.
3. Corroborar si el intervalo de referencia de concentración normal de CYFRA 21-1 indicado en la literatura extranjera, es aplicable a la población mexicana del Instituto Nacional de Cancerología para cáncer cérvico uterino.
4. Determinar sensibilidad y especificidad del marcador tumoral CYFRA 21-1 para carcinomas epidermoides.
5. Observar el seguimiento de un grupo de pacientes antes y después de tratamiento con CYFRA 21-1.

1.3 HIPOTESIS

1. CYFRA 21-1 es un marcador para carcinoma epidermoide, por tanto su utilidad no sólo se verá en cáncer de pulmón sino también en otras neoplasias escamosas como es el carcinoma cérvico uterino.
2. CYFRA 21-1 no es un marcador para carcinoma epidermoide, por tanto su utilidad se verá en cáncer de pulmón, pero no en otras neoplasias escamosas como es el carcinoma cérvico uterino.

C A P I T U L O I I

A N T E C E D E N T E S

C A P I T U L O I I

A N T E C E D E N T E S

2.1. NEOPLASIA CERVICO UTERINA:

2.1.1. EPIDEMIOLOGIA.

El cáncer de cuello uterino es la segunda neoplasia maligna más frecuente entre mujeres a nivel mundial, ocupando el primer lugar el cáncer de mama. Se estima que el número de nuevos casos por año es de 465,600, lo que significa que corresponde al 15% de todos los cánceres diagnosticados en mujeres. En muchos países en desarrollo, como aquellos de Africa, Centro y Sudamérica, y Asia excluyendo a Japón, el cáncer de cuello uterino es la neoplasia maligna más común y constituye 20-30% de todos los cánceres en mujeres. En áreas desarrolladas, como las de Norteamérica, Centro y Norte Europeo y Australia la incidencia del cáncer cervical es mucho menor y constituye sólo del 4-6% de los tumores en mujeres. Esto probablemente se debe parcialmente a la detección temprana a través del examen citológico utilizando la técnica del Papanicolaou. La incidencia de cáncer cérvico uterino en Europa del Este es intermedia en comparación con los otros países (24).

Las tasas de mortalidad y la incidencia por cáncer cérvico uterino han ido decreciendo en la mayoría del mundo debido a la introducción masiva de los programas de detección temprana donde se pretende buscar lesiones preneoplásicas como es la displasia del epitelio cervical. En los Estados Unidos, la incidencia de cáncer cérvico uterino disminuyó de 20,000 casos por año a menos de 14.000 casos por año (24).

En muchos países, a pesar de la disminución total de la incidencia del cáncer cérvico uterino, la incidencia específica por edad muestra una tendencia hacia el incremento en mujeres jóvenes (específicamente entre los 25 y 34 años), así como también la mortalidad por cáncer cérvico uterino en mujeres jóvenes ha aumentado significativamente en el mundo occidental incluyendo el Reino Unido, Australia, Nueva Zelanda, Canada y Estados Unidos. Los resultados de una disminución en la mortalidad por cáncer asociada con los programas de detección pueden haber ocultado en parte la verdadera incidencia y mortalidad entre mujeres jóvenes que todavía no han ingresado al grupo de edad de alto riesgo para esta enfermedad (23).

El aumento de la incidencia de cáncer cérvico uterino en mujeres jóvenes sugiere la introducción de nuevos factores de riesgo que afectan a las nuevas generaciones, que cambian en severidad y en el tiempo en diferentes países. El aumento de

mortalidad por cáncer en mujeres jóvenes se acompaña con un dramático aumento en el diagnóstico e incidencia de la enfermedad cérvico uterina premaligna (29).

2.1.2. HISTORIA NATURAL DE LA ENFERMEDAD.

Con los estudios detallados de correlación entre la citología e histología se ha podido observar que el cáncer cérvico uterino inicia su desarrollo con una lesión precursora que es llamada neoplasia intraepitelial cervical (NIC). Esta generalmente empieza con una lesión bien diferenciada que ocupa solamente el tercio inferior del epitelio (NIC I ó displasia leve), luego pasa por una fase que es menos diferenciada y que llega hasta el tercio medio del epitelio (NIC II ó displasia moderada), y posteriormente se transforma en una lesión intraepitelial indiferenciada que se extiende a todo el espesor de la mucosa (NIC III, displasia severa ó carcinoma "in situ"). Finalmente, las células malignas invaden la membrana basal y se inicia el carcinoma invasor (40) (figura 1).

HISTORIA NATURAL DE LA ENFERMEDAD

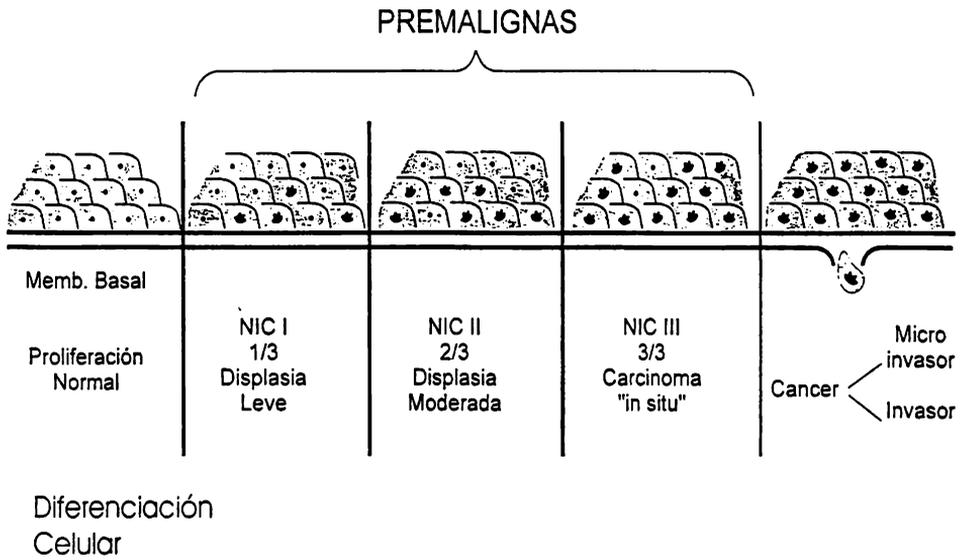


Figura No. 1

Diferenciación Celular.

El tiempo de evolución de las lesiones que progresan de NIC I a NIC III, y de esta a carcinoma invasor es muy variable, generalmente se habla de 10 a 20 años, siendo la edad promedio de las mujeres que presentan NIC I, 25 años y carcinoma invasor a los 50 años (40).

2.1.3 TIPOS HISTOLOGICOS.

Desde el punto de vista histológico y de acuerdo a su clasificación, se ha observado que aproximadamente del 95 a 97 % de las neoplasias malignas de cuello uterino son del tipo de carcinoma epidermoide y el resto son adenocarcinomas, carcinomas indiferenciados y excepcionalmente, sarcomas (24).

2.1.4. CLASIFICACION POR ESTADIOS.

Para la clasificación del cáncer cérvico uterino, en el Instituto Nacional de Cancerología se emplea la propuesta por la Federación Internacional de Ginecología y Obstetricia (FIGO), la cual permite utilizar un lenguaje internacional para planear el tratamiento para cada estadio, conocer el pronóstico y hacer investigación clínica y terapéutica (24).

CLASIFICACION SEGUN LA FIGO:

Tx = no se puede evaluar el tumor primario.

To = carcinoma "in situ" o neoplasia intraepitelial
cervical III (NIC III).

ESTADIO I = carcinoma del cérvix limitado al útero.

I A = carcinoma invasivo pre-clínico diagnosticado
microscópicamente.

I A I = mínima invasión microscópica del estroma.

I A 2 = el componente invasivo tiene 5 mm o menos de profundidad (medidos a partir de la base del epitelio) y la expansión horizontal es igual o menor de 7 mm.

I B = tumor con invasión de submucosa mayor de 5 mm.

ESTADIO II = el carcinoma se extiende más allá del cérvix pero no llega hasta la pared pélvica ni al tercio inferior de la vagina.

II A = no invade los parametrios.

II B = invade los parametrios.

ESTADIO III = el carcinoma se extiende hasta pared pélvica y/o tercio inferior de la vagina y/o produce hidronefrosis con pérdida de la función renal.

III A = el tumor afecta el tercio inferior de la vagina sin alcanzar la pared pélvica.

III B = el tumor llega a la pared pélvica y/o produce hidronefrosis con insuficiencia renal.

ESTADIO IV = el carcinoma se extiende más allá de la pelvis verdadera o tiene extensión clínica a la mucosa de la vejiga o recto.

IV A = el tumor invade la mucosa de la vejiga o el recto y/o se extiende más allá de la pélvis verdadera.

IV B = hay metástasis a distancia.

La estadificación debe hacerse desde el punto de vista clínico con ayuda de los estudios de extensión antes de iniciar el tratamiento antineoplásico.

2.1.5. SINTOMAS.

Los síntomas que acompañan a la progresión de la enfermedad en la pélvis no son patognomónicos del cáncer. En los estadios precoces puede existir sólo flujo o sangrado vaginal, en especial después del coito, así como alteraciones en la menstruación. En etapas progresivas de la enfermedad pueden aparecer signos y síntomas relacionados con la invasión y destrucción de diversas estructuras pélvicas cuya gravedad depende directamente del grado de la infiltración. En las fases finales es frecuente la insuficiencia renal por la obstrucción uretral secundaria a invasión de estas estructuras o raramente debida a las metástasis a los ganglios de la iliaca externa.

La insuficiencia renal es una de las complicaciones más frecuentes que causan la muerte de la paciente (24).

2.1.6 DIAGNOSTICO.

Los procedimientos diagnósticos más importantes para cáncer cérvico uterino son:

- 1.- Frotis periódicos cérvico vaginales estudiados con la técnica del Papanicolaou son importantes para detectar lesiones preneoplásicas, así como para los diversos estadios del cáncer.
- 2.- Exploración ginecológica exhaustiva: incluye la inspección vaginal y el tacto rectal para evaluar clínicamente la extensión pélvica de la enfermedad. Sólo el tacto rectal permite una exploración adecuada de los parametrios.
- 3.- Colposcopia: en el examen con el espejo vaginal para visualizar el cérvix uterino se puede utilizar el microscopio, de esta manera es posible localizar otras zonas anormales para la toma de biopsia.
- 4.- Prueba de Schiller: mediante la cual se diferencian las zonas normales que se tiñen de yodo (porque contienen glucógeno) de las anormales, que quedan decoloradas puesto que no contienen glucógeno. De las zonas decoloradas se debe de tomar la biopsia.

- 5.- Biopsia de la lesión cervical: cuando exista infiltración, ulceración ó tumoración. La muestra debe tomarse del borde de la lesión para evitar que los cambios necróticos e inflamatorios que se suelen producir enmascaren la naturaleza real de la enfermedad.
- 6.- Biopsia en cono: en las pacientes con biopsia positiva, pero sin lesión visible. Este procedimiento diagnóstico puede resultar terapéutico cuando se trata de lesiones "in situ".
- 7.- Si no hay tumoración evidente debe procederse a la exploración completa de la región endocervical con legrado y/o aspiración del endometrio.
- 8.- Citoscopia: para excluir la infiltración vesical. Es un examen en donde con un endoscopio se visualiza la mucosa vesical.
- 9.- Diagnóstico por imagen: si hay sospecha de que se encuentra ante enfermedad metastásica se practicará una búsqueda de metástasis lo que incluye radiografías, ultrasonido y tomografía (24).

2.1.7. FACTORES DE RIESGO.

2.1.7.1 Actividad sexual.

Epidemiológicamente el cáncer cérvico uterino se comporta como una enfermedad sexualmente transmitida: es más común

en mujeres que han tenido varias parejas sexuales, y en mujeres cuyas parejas sexuales son promiscuas (15).

Los estudios epidemiológicos asocian varios indicadores de actividad sexual con el cáncer cérvico uterino: estado civil, historia reproductiva, historia de enfermedades sexualmente transmitidas, estatus socio-económico y raza, han sido todos identificados como variables significativas en definir el riesgo para cáncer cérvico uterino. Si el factor etiológico más importante para el desarrollo del cáncer cérvico uterino es un agente sexualmente transmitido, el número de compañeros sexuales y la edad del primer coito, representan las posibilidades de exposición a este agente. Así mismo, este riesgo varia reflejando la susceptibilidad del epitelio cervical de sufrir una transformación neoplásica en los diferentes estadios de la vida reproductiva de la mujer. Esta claro, sin embargo que aunque estas variables sexuales pueden definir a las mujeres de alto riesgo, muchas mujeres que desarrollan neoplasia cervical no tendrán estos perfiles de comportamiento sexual (16). Los programas de detección se deben iniciar cuando la mujer empieza su actividad sexual.

2.1.7.2. TABAQUISMO.

Existe un aumento en la evidencia epidemiológica que implica al cigarrillo como un factor de alto riesgo significativo

e independiente para el desarrollo de la neoplasia cervical. Se ha sugerido que las fumadoras tienen tendencia a comportamiento sexual de alto riesgo para la neoplasia cervical. Muchos estudios recientes han observado que, aunque el fumar se correlaciona con la edad temprana del primer coito y gran número de compañeros sexuales, el riesgo permanece alto después de ajustar las variables. También se muestra claramente un aumento de dos veces el riesgo para lesiones precancerígenas y cáncer en fumadoras comparado con no fumadoras. No se conoce el mecanismo por el cual el tabaquismo contribuye al riesgo del cáncer cérvico uterino. La detección de nicotina en el moco del cuello cervical de las fumadoras hace esta asociación biológica posible como un probable cofactor de algún agente sexualmente transmitido (15).

2.1.7.3. ANTICONCEPTIVOS ORALES.

El uso frecuente de anticonceptivos orales por mujeres jóvenes sexualmente activas requiere un análisis crítico de esta relación. Estudios de casos controles y de cohortes indican un aumento posible en el riesgo de neoplasia cérvico uterina asociada con el uso de "la píldora". Se ha descrito un riesgo dos veces mayor en mujeres que usan anticonceptivos a dosis altas. También la proporción de progresión de Neoplasia Intracervical (NIC) de

bajo grado a las de alto grado ha sido descrita como de seis veces mayor en aquellas mujeres que los han tomado (16).

2.1.7.4 VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO.

Los virus del papiloma humano son responsables del desarrollo de lesiones epiteliales benignas y malignas. Más de 60 tipos diferentes de virus del papiloma han sido aislados hasta ahora y se sabe que algunos de ellos participan de manera importante en el desarrollo del cáncer cérvico uterino (40).

El DNA de estos virus es de doble cadena y contiene aproximadamente 8 000 pares de bases. El DNA de los tipos 16, 18 y 33 se ha encontrado presente en aproximadamente el 90% de los carcinomas genitales. Las proteínas codificadas por el DNA viral se han clasificado dependiendo del momento en que se replican al infectar las células epiteliales, las tempranas son conocidas como E (early) y las que se presentan posteriormente como L (late). Los genes E6 y E7 de los virus del papiloma humano (VPH) están involucrados en la inmortalización celular (40). Dichos genes se expresan selectivamente en tumores genitales y líneas celulares derivadas de tumores humanos, y se conservan intactos durante la integración del DNA viral al genoma celular (42). La proteína E6 tiene gran afinidad por el DNA, y se ha encontrado tanto en el

núcleo como en la membrana plasmática. La proteína E7 es una fosfoproteína que se ha localizado en el citoplasma (43). Otro gen temprano, el E2, participa en el control de la expresión de los oncogenes al unirse directamente a regiones conservadas del genoma viral. Factores del huésped, tales como el sistema inmune, oncogenes o antioncogenes, parecen jugar un papel importante en la carcinogénesis asociada a los HPVs (40).

De todos los tipos descritos hasta ahora de HPV, sólo algunos de ellos (tipos 6, 11, 16, 18, 31, 33, 35) se han encontrado frecuentemente en tumores genitales. Los tipos 6 y 11 se han encontrado en 90 a 100% de las lesiones benignas, en 25% de lesiones precancerosas y muy raramente (2%) en las cancerosas (40).

Por el contrario, en 90% de los carcinomas "in situ" ó invasores se han encontrado los tipos 16, 18, 31, 33 y 35. De estos casos, del 50 al 90% corresponden a los tipos 16 y 18 (en general el tipo 16 es tres veces más frecuente que el tipo 18) (44).

2.2. MARCADORES TUMORALES Y SU IMPORTANCIA.

Los marcadores tumorales son sustancias que circulan libremente en el suero de pacientes con neoplasias. Pueden ser

compuestos producidos por el propio tumor o por células normales en respuesta al cáncer. Han adquirido gran importancia por ser de ayuda en el diagnóstico y seguimiento de los pacientes, en especial los antígenos asociados con el tumor (11).

Los marcadores tumorales pueden detectarse en el tejido tumoral per se, llamándose marcadores tumorales celulares, o bien en líquidos corporales llamados marcadores tumorales humorales (12).

El empleo de los marcadores tumorales está sometido a ciertas restricciones. Ninguno de los marcadores tumorales conocidos hasta ahora se presta para tamizaje indiscriminado en una población normal, pero son esenciales en el control evolutivo de pacientes con tumor bajo terapia (18).

El uso oportuno del marcador tumoral apropiado sólo o en combinación con otro marcador, contribuye decisivamente al éxito terapéutico y con ello aumenta las posibilidades de supervivencia del paciente, sobre todo cuando hay una forma de terapia alternativa en caso de que la terapia actual no tenga éxito. Los marcadores tumorales no son estáticos y deben repetirse de acuerdo a las necesidades que el paciente presente a lo largo de la enfermedad (21).

La célula tumoral maligna es una célula transformada, que ha adquirido autonomía en el crecimiento. Inicialmente la

neoplasia presenta mutaciones del DNA, que es la molécula principal en la regulación y control de la diferenciación y proliferación celular. Con la mutación del DNA se pueden producir estados precancerosos, que con la activación de otros factores conocidos como co-carcinógenos, son capaces de inducir un crecimiento anormal autónomo. Así pues, la transformación de una célula puede deberse a mutaciones puntuales (carcinógenos químicos ó físicos), transmisión de un fragmento cromosómico del DNA (translocación), multiplicación de un gen (amplificación del gen) y/o activación de un proto-oncogen por algún virus. Sin embargo, frente a la lesión del DNA por carcinógenos, hay mecanismos de reparación y en muchos casos, los estados precancerosos vuelven a normalizarse. También, cabe mencionar el importante papel que juega el sistema inmune en la defensa contra las células transformadas. Son numerosas las alteraciones que las células malignas presentan en cuanto a la síntesis de productos metabólicos, y por consiguiente, las células de cada tumor son antigénicamente diferentes. Es por eso que cada tumor produce diferentes sustancias que pueden ser utilizadas como marcadores (18).

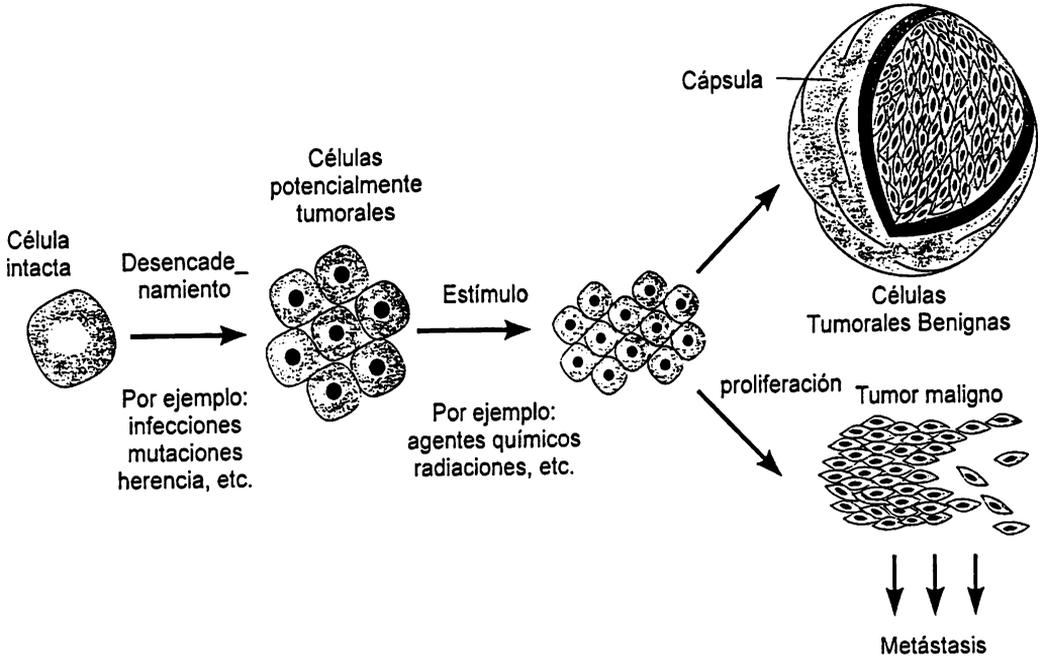


Figura No. 2. Desarrollo de células tumorales.

Una neoplasia puede ser benigna o maligna (figura 2). Los tumores benignos son muy parecidos al tejido sano, el crecimiento es lento y no producen metástasis. En cambio, los tumores malignos producen metástasis, las células son anaplásicas (no se parecen a aquellas que les dieron origen), la inhibición por contacto se pierde, los núcleos son atípicos y su crecimiento es invasor, destructivo y agresivo (17).

La mayoría de las neoplasias son diagnosticadas cuando la masa tumoral ha alcanzado o sobrepasado de 1-2 cm.; un estadio más precoz es difícil de detectar. Entre más pequeño es el tumor en el momento del diagnóstico mayores posibilidades hay de curación (17).

Con métodos de imagen pueden observarse tumores a partir de aproximadamente mil millones (10^9) de células, es decir, cuando el tumor ha alcanzado aproximadamente el tamaño de una avellana (figura 3). Los métodos inmunológicos permiten detectar marcadores tumorales circulantes a partir de aproximadamente un millón (10^6) de células (1-2 cm) malignas (18). Es por eso que muchas veces los marcadores tumorales indican recidivas ó metástasis más temprano que los métodos radiológicos. La ventaja temporal es de aproximadamente tres a seis meses por término medio, e incluso puede ser más de un año en casos individuales. Aquí los marcadores tumorales son de importancia decisiva (22).

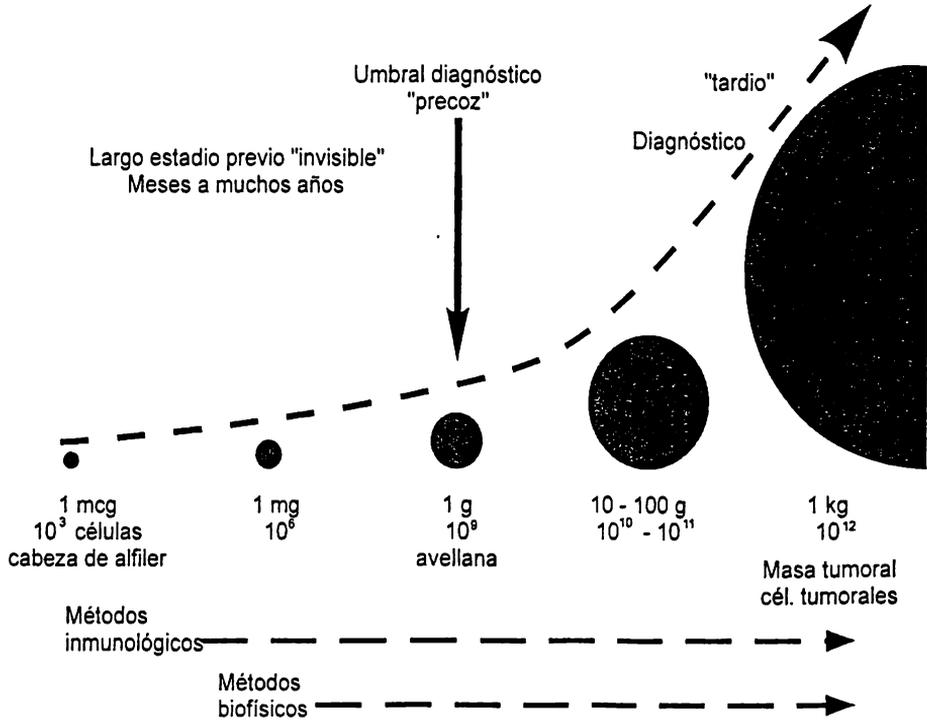


Figura No. 3. Desarrollo tumoral y su detección diagnóstica mediante métodos inmunológicos y de radioimagen.

2.2.1. UTILIDAD DE LOS MARCADORES TUMORALES.

La gran utilidad de los marcadores tumorales (5) se puede dividir en:

1. **Detección precoz:** permite identificar individuos asintomáticos, con el beneficio potencial de posibilitar el diagnóstico de tumores en estadios iniciales, lo cual brinda altas posibilidades

de curación. Debido al alto costo de los marcadores tumorales, actualmente es imposible realizar determinaciones en forma indiscriminada a toda la población. Lo que se debe hacer es la realización de marcadores tumorales con objetivos específicos: a) en personas de alto riesgo, b) en pacientes con alteraciones no diagnósticas de cáncer, pero en quienes la positividad de un determinado marcador tumoral podría orientar hacia alguna otra intervención diagnóstica, c) en sujetos asintomáticos con ó sin antecedentes familiares de alto riesgo para cáncer en quienes se desea detectar un tumor frecuente para determinado grupo de edad, y d) en pacientes con neoplasias poco comunes, pero con síntomas de enfermedad avanzada.

Para poder lograr la detección de una neoplasia a través de un marcador tumoral, es importante que la sustancia:

a). **Defina el tipo histopatológico del tumor:** cada órgano, dependiendo de los tipos de células que lo componen, puede dar lugar a diversas variedades histopatológicas, de las cuales depende el tratamiento que se llevará a cabo. Así mismo, cada neoplasia produce un marcador tumoral en forma predominante.

b). **Alta precisión en la diferenciación entre individuos sanos y enfermos:** es decir que deben de ser lo más específicos y sensibles posibles para reflejar selectividad diagnóstica, y

c). La cantidad de marcador tumoral libre en suero debe correlacionar con la masa tumoral.

2. Diagnóstico: el diagnóstico de cáncer se establece en prácticamente todos los pacientes mediante la biopsia. Existen sin embargo, situaciones especiales en las que clínicamente el diagnóstico de cáncer es casi inobjetable, en las que no se cuenta con una muestra de tejido y/o el tratar de obtener ésta puede resultar técnicamente difícil o existir alguna contra indicación médica para obtenerla. En estos casos, la positividad de ciertos marcadores tumorales puede ser suficiente para establecer el diagnóstico y con ello iniciar el tratamiento.

3. Pronóstico: El nivel sérico del marcador tumoral puede ser importante para establecer el tiempo probable de supervivencia que el paciente pueda tener.

4. Monitoreo: las determinaciones de marcadores tumorales durante la terapia del paciente pueden mostrarnos como disminuyen o aumentan al responder ó no al tratamiento las células tumorales.

5. Seguimiento: en pacientes en remisión después de tratamientos locales o sistémicos, la recaída se puede documentar con marcadores tumorales antes de que existan síntomas o masas evidentes a la palpación o en estudios de imagen.

Un marcador tumoral ideal debe tener las siguientes características:

- 1.- Alta sensibilidad y especificidad

- 2.- Reproducibilidad
- 3.- Fácil de determinar y
- 4.- Bajo costo

Si un marcador tumoral cumple con todos estos requisitos puede ser utilizado para el tamizaje. Pero es bién conocido que hasta el momento, no existe tal marcador debido a la complejidad de la génesis tumoral y a que los reactivos son todavía muy caros (21).

En estadios avanzados del tumor, los marcadores tumorales deben estar elevados; valores preoperatorios o un nuevo aumento de los marcadores después de la excisión tumoral permiten establecer un pronóstico en la enfermedad del paciente. Es aquí donde el valor predictivo positivo o negativo de los marcadores tumorales es de vital importancia y no debe pasarse por alto que puede existir un aumento temporal debido a la necrosis del tumor o en enfermedades infecciosas y/o degenerativas (21).

El valor diagnóstico de un marcador tumoral, especialmente de un valor individual depende de la sensibilidad, y la especificidad. La especificidad se refiere a la selectividad diagnóstica, en donde no deberán existir resultados positivos en personas sanas (falsos positivos). A su vez la sensibilidad se refiere a tener el mínimo de resultados negativos en personas que presentan el cáncer (falsos negativos). Normalmente el nivel en el que se establece el límite superior del valor de referencia corresponde a 2 desviaciones estandar arriba de la media de los

resultados que se obtienen en personas sanas (95%) para el marcador determinado. La reproducibilidad de los resultados es de vital importancia para los marcadores tumorales, debido a que a los pacientes se les va a medir de forma consecutiva en el seguimiento; de no existir pruebas reproducibles, un aumento en los valores podría significar al médico que existe recaída, sin embargo puede ser un error en la precisión del ensayo (18).

El marcador tumoral debe de ser determinado antes de iniciar el tratamiento (cirugía, quimioterapia o radioterapia). De esta manera los valores indican el pronóstico o sea la posibilidad de supervivencia, así como dan una idea de la posible respuesta al tratamiento. Aún así, es muy importante saber que, valores negativos no necesariamente indican ausencia del tumor (26).

Si antes de una intervención los valores eran elevados, y después de unas semanas ocurre una disminución progresiva indicará que la intervención fue un éxito; pero si la disminución es incompleta o inconsistente con la vida media del marcador en la sangre, indicará que la intervención no tuvo el éxito esperado. Los marcadores con una vida media corta en el suero reflejarán la disminución de la carga del tumor con mayor rapidez que los marcadores de eliminación lenta. De la misma manera, en los pacientes que reciben quimioterapia el valor conocido de los marcadores tumorales puede ser la causa para suprimir la terapia o para cambiarla. Sin embargo, si la terapia es exitosa y después se

produce un nuevo incremento del marcador tumoral, generalmente indica recidiva o metástasis; este seguimiento puede suceder varios meses antes de la manifestación clínica (26).

Como regla general, los marcadores tumorales deben de determinarse antes de que se efectúe una intervención terapéutica para tener un valor basal de cada paciente. Las determinaciones pueden repetirse cuantas veces sea necesario durante el tratamiento con el fin de monitoreo ó seguimiento. Se sugiere llevar a cabo mediciones subsecuentes entre los 2 y 14 días después de una intervención quirúrgica, luego cada tres meses. Sin embargo, la secuencia temporal de las determinaciones de los marcadores tumorales debe adaptarse al paciente, y esto puede ser cada vez que se decida cambiar la terapia, cuando se presenta un aumento del marcador tumoral insospechado, y cuando exista la posibilidad de una metástasis (25).

Se han demostrado anticuerpos en suero de muchos animales portadores de diversos tumores inducidos experimentalmente (20). A pesar de que estos anticuerpos fueron útiles en la caracterización serológica y en el aislamiento de los antígenos asociados con el tumor, la presencia de una respuesta humoral no está firmemente relacionada con el aumento de la resistencia del huésped al tumor. En los últimos años se ha intentado utilizar a los marcadores tumorales con fines terapéuticos. Esto es, uniendo o conjugando material radioactivo ó

quimioterapéutico a los anticuerpos dirigidos en contra del marcador, estos anticuerpos tienen afinidad por las células tumorales y por tanto se unen a ellas y depositan el material terapéutico directamente sobre la neoplasia. Esto se ha intentado con buenos resultados en algunos pacientes, pero debe recordarse que todavía se encuentra en fase experimental (20).

2.3. IMPORTANCIA DE LOS MARCADORES TUMORALES EN EL CANCER CERVICO-UTERINO.

En México, así como en la mayoría de los países en desarrollo, se ha observado que el cáncer más frecuente es la neoplasia cérvico uterina. Así mismo, la morbi-mortalidad por esta patología es muy alta, por lo que es importante el tratar de diagnosticar el cáncer cérvico uterino en estadios tempranos, cuando existe la posibilidad de curación.

En la actualidad existen varias técnicas diagnósticas para cáncer cérvico uterino como son principalmente: el Papanicolaou, y la exploración ginecológica anual a las mujeres con vida sexual activa. En países del primer mundo estas técnicas han logrado disminuir esta neoplasia en forma significativa.

El diagnóstico a través de la citología cervical con la técnica de Papanicolaou es bueno para la detección temprana del cáncer, sin embargo para el seguimiento de los pacientes con cáncer puede no ser el método ideal ya que no ayuda en la

detección de invasión a vejiga y colon ó metástasis a distancia. Debido a ésto ha sido necesario buscar un método de diagnóstico que auxilie en el seguimiento de pacientes con cáncer cérvico uterino, que sea sensible y específico, como son los marcadores tumorales. Se han hecho intentos con los siguientes marcadores tumorales: SCC Ag, NSE, CEA, CA 125, CA 19.9 y CYFRA 21-1 para el diagnóstico y seguimiento del cáncer cérvico uterino (30). El SCC-Ag (squamous cell carcinoma antigen) fue encontrado por primera vez en el citoplasma de células queratinizantes y no queratinizantes; la concentración en suero del SCC-Ag en pacientes con carcinoma de células escamosas del cérvix depende del estadio en que se encuentren, por ejemplo: 0-16 % de las pacientes lo tienen elevado en estadio 0, 29-34% en estadio I, 59-64% en estadio II, 85-86% en estadio III y 80-85% en estadio IV. Usado para el monitoreo de pacientes con recurrencia, el 82% de ellas resultan con valores aumentados (mayores de 2.5 ng/ml) (5).

En una población estudiada de mujeres sanas y con daños ginecológicos benignos y malignos el SCCAg mostró tener propiedades útiles como marcador tumoral. De un grupo no canceroso el 4% mostraron niveles elevados, en comparación con el 14% con lesiones de NIC y el 67% con lesiones invasoras. La sensibilidad total fué de 61% y el rango de positividad fue proporcional con el grado de diferenciación tumoral (38).

En un estudio comparativo con CA 125 y CEA en sujetos con adenocarcinoma cervical, el SCCAg fue superior al CEA pero de utilidad baja en comparación al CA 125 (35).

EL CYFRA 21-1 es un marcador utilizado para el monitoreo de pacientes con carcinoma de pulmón. su sensibilidad es de un 47% a 60% para carcinoma de células escamosas. En el caso de pulmón el incremento depende del estadio tumoral: 29% para estadio I, 56% para el estadio II, y 63% para el estadio III y IV. Su utilidad en cérvix fue medida independientemente del estadio tumoral dando valores positivos arriba de 3.9 ng/ml (5,19).

Petra Steiber y cols. midieron CYFRA 21-1. SCCAg, CEA y NSE para demostrar y comprobar que CYFRA 21-1 tiene una mayor sensibilidad (47%) que el CEA (27%), el SCCAg (15%) y el NSE (16%) para el caso de pulmón. Según este grupo. en cáncer cérvico uterino el CYFRA 21-1 tiene una sensibilidad de 37% en comparación con el SCCAg (55%) y el CEA (30%) (9,36).

El CA 125 es otro marcador tumoral que también se ha probado para cáncer cérvico uterino, y se ha observado que la sensibilidad encontrada para el CYFRA 21-1 fue de 56% y para el CA 125 fue de 44% (36).

Como se ha expuesto anteriormente el cáncer cérvico uterino tipo epidermoide es el cáncer que ocupa el primer lugar en el Instituto Nacional de Cancerología. y como hasta la fecha no se cuenta con un marcador específico y sensible para este tipo de neoplasias, es por lo que se ha probado el marcador CYFRA 21-1

para comprobar su utilidad y aplicabilidad a las necesidades del Instituto Nacional de Cancerología (33).

2.4. MARCADOR TUMORAL CYFRA 21-1.

Muchos estudios se han realizado para desarrollar una técnica de laboratorio sensible para determinar la presencia de un marcador sérico que sea útil para el seguimiento, cuidado y control de la terapia de los tumores epidermoides en cáncer cérvico uterino y cáncer de pulmón. Estudios preliminares indican que una sustancia propia de la familia de la citoqueratina tiene una elevada sensibilidad como marcador sérico de este tipo (34).

Siguiendo la sugerencia de Debus y cols., las citoqueratinas fueron divididas en 20 diferentes tipos de acuerdo a su peso molecular y punto isoeléctrico por medio de la electroforesis bidimensional. La expresión de una citoqueratina simple o una combinación de ciertas citoqueratinas es típico de tejidos epidermoides; en contraste con las citoqueratinas, los fragmentos de filamentos intermedios son solubles en suero por lo que pueden ser detectados y medidos con la ayuda de anticuerpos monoclonales.

CYFRA 21-1 es un ensayo basado en un inmunsorbente de una enzima ligada a dos anticuerpos monoclonales específicos, el Ks 19.1 y el BM 19.21 para formar un sandwich. Fue desarrollado

para detectar fragmentos solubles de citoqueratina 19 en suero (9).

La expresión diferencial de proteínas de filamentos intermedios se presenta como característica fundamental en este tipo de tejidos y tumores. Después del desarrollo de anticuerpos monoclonales contra queratinas, desmina, vimentina, proteína acidica fibrilar y neurofilamentos la clasificación inmunohistoquímica de cada tejido viene a ser posible. En anatomopatología, los anticuerpos monoclonales contra filamentos intermedios son extensamente usados para clasificar tejidos malignos. De cualquier modo, muy poco se sabe acerca de la presencia de fragmentos solubles de filamentos intermedios en suero (9). Se ha demostrado que en el caso de ciertas enfermedades (cáncer de cérvix, cáncer de pulmón, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de ovario, cáncer de mama) fragmentos solubles de citoqueratinas aparecen en la circulación. Por consiguiente se desarrolló un ELISA en sandwich para la deteminación de fragmentos solubles de citoqueratina 19 en suero y plasma, el nombre de esta nueva prueba es CYFRA 21-1 (45).

Se ha evaluado la especificidad y sensibilidad de este marcador. Por ejemplo, en un estudio realizado con sueros controles así como con un panel de sueros de pacientes con enfermedades benignas y malignas en las que se hacen combinaciones de los anticuerpos Ks 19.1 / BM 19.21, Ks 19.1 / mab A, BM 19.21 / mab B; se observó que la combinación más sensible fue obtenida con

Ks 19.1 como acarreador de anticuerpo y BM 19.21 como detector de anticuerpo. Por lo tanto estos dos anticuerpos monoclonales fueron seleccionados para el ELISA CYFRA 21.1 y ambos anticuerpos son específicos para citoqueratina 19 (8).

Se ha postulado una especificidad de 95% contra enfermedades benignas del pulmón. La sensibilidad de CYFRA 21-1 en cáncer de pulmón independientemente del tipo histológico fué superior a 47%, en comparación CEA tuvo 27%, SCC 15% y NSE 16%. Especialmente en el carcinoma de células escamosas del pulmón los verdaderos positivos resultaron más altos para CYFRA 21.1 (60%) que para CEA (18%) y SCC (31%) (9).

El estudio de U. Hasholzner y cols. (10), demuestra que en cáncer de pulmón de tipo escamoso, CYFRA 21.1 posee la mayor sensibilidad cuando se compara con otros marcadores (CYFRA 21.1 60%; CEA 18% y SCC 31%; NSE 3%) y la combinación de CYFRA 21.1 con CEA y SCC tienen sensibilidades de 60 y 67%; o sea muy semejantes a las de CYFRA 21.1 solo. En adenocarcinoma de pulmón la sensibilidad de CYFRA 21.1 fue de 42%. (CEA 40%; SCC 11%; NSE 2%). Combinado CYFRA 21.1 con CEA la sensibilidad probada es claramente elevada.

Petra Stieber y cols. buscaron el marcador CYFRA 21.1 en diferentes tumores sólidos, encontrando positividad en cáncer de próstata, mama, estómago, hígado, colon y recto, páncreas, y ovario (10,36).

En la tabla I se presentan las sensibilidades comparativas de CYFRA 21-1 y otros marcadores para diversos tumores. Nótese que la sensibilidad parece ser alta en cáncer de ovario (10, 36).

SENSIBILIDAD DE CYFRA 21-1 COMPARADA CON OTROS MARCADORES EN DIVERSOS TUMORES

NEOPLASIA	CYFRA 21-1	OTROS MARCADORES
CANCER DE PROSTATA (10,36)	8 %	APE 84 %
CANCER DE MAMA (10,36)	26 %	CA. 15.3 42 % ACE 26 %
CANCER DE ESTOMAGO (10,36)	22 %	CA. 72.4 52%
CANCER DE HIGADO (10,36)	16 %	AFP 80 %
CANCER COLORECTAL (10,36)	21 %	ACE 44 % CA 19.9 27 %
CANCER DE PANCREAS (10,36)	34 %	CA. 19.9 75 % ACE 28 %
CANCER DE OVARIO (10,36)	56 %	CA.125 44%
CANCER CERVICO U. (10,36)	37 %	SCC 55 % ACE 30 %

CA. 15.3= Marcador para adenocarcinoma de mama

CA. 72.4= Marcador para cáncer de estomago

SCC Ag= Antígeno para carcinoma de células pequeñas de pulmón

ACE= Antígeno Carcino Embrionario

CA.125= Marcador para cáncer epitelial de ovario

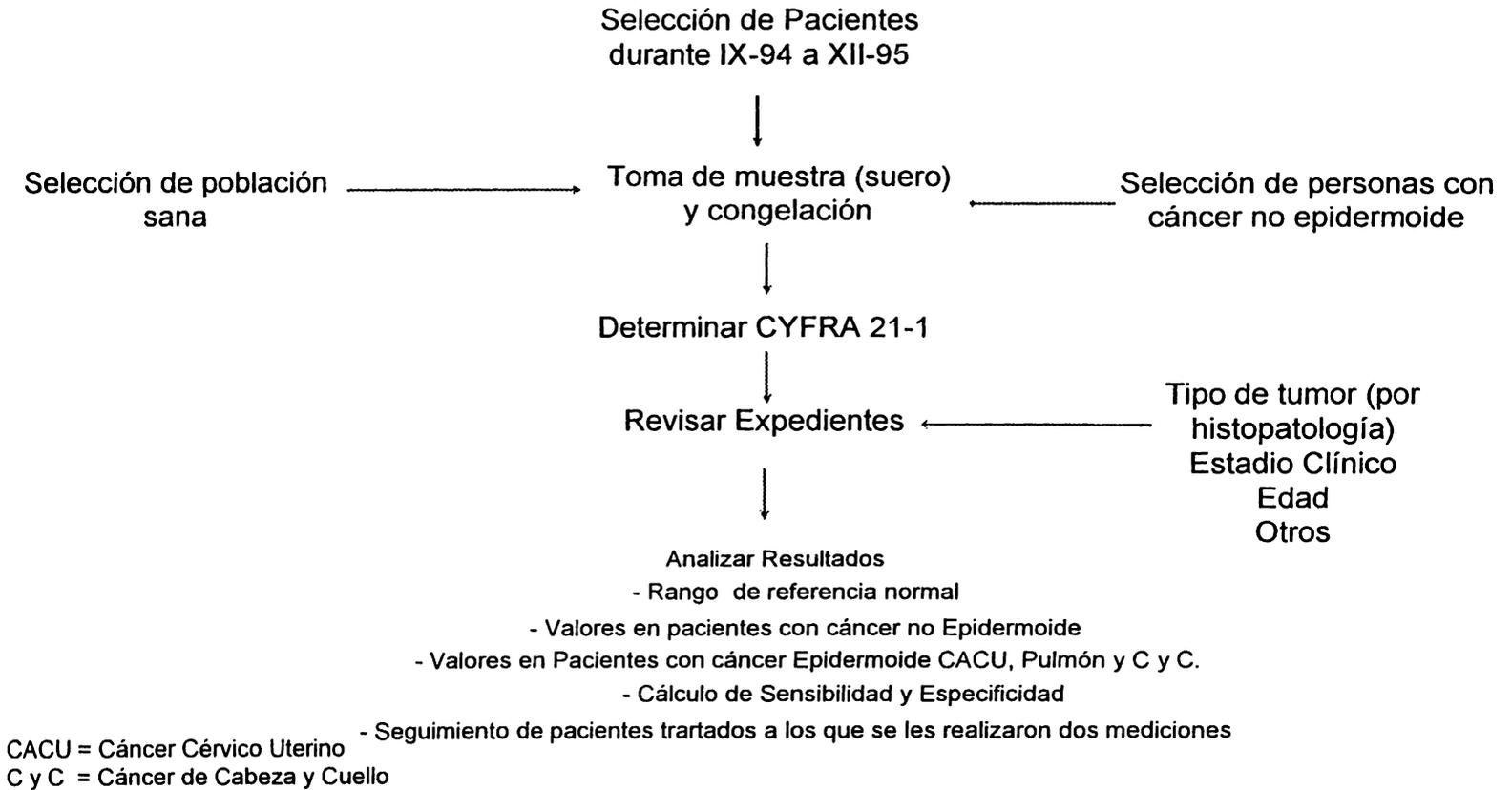
CA.19.9= Marcador para cáncer de tubo digestivo

AFP= Alfa-Feto-Proteina

APE= Antígeno Prostático Especifico

C A P I T U L O I I I

P A R T E E X P E R I M E N T A L



3.2. MATERIAL, REACTIVOS Y EQUIPO

3.2.1. MATERIAL BIOLÓGICO.

Se recolectaron sueros de pacientes del Instituto Nacional de Cancerología en un periodo comprendido entre septiembre de 1994 a diciembre de 1995. Estos pacientes se seleccionaron bajo el criterio de padecer cáncer epidermoide de pulmón, cérvico uterino ó cabeza y cuello, asistir por primera vez al Instituto y ser vírgenes a tratamiento. Como controles con cáncer no epidermoide se utilizaron sueros de pacientes a los que se les había pedido determinación de CA 125, CA 15.3, beta 2 microglobulinas o electroforesis de proteínas.

El grupo de controles sanos fué constituido por sueros de trabajadores del Instituto y plasmas de donadores de sangre que acudieron al Banco de Sangre del Instituto. Los resultados de este grupo sirvieron para establecer los niveles de referencia del marcador tumoral CYFRA 21-1 para la población del Instituto.

Todos los sueros fueron conservados a - 20 °C para ser trabajados posteriormente.

3.2.2. MATERIAL DE LABORATORIO.

- Pipetas volumétricas de 10 ml.
- Tubos vacutainer sin anticoagulante.
- Tubos de ensaye 13x100.
- Pipetas graduadas de 10-40 µl, 40-200 µl y 200-1000 µl.
- Puntas desechables para pipetas graduadas.

- Vacutainer con tapón rojo (sin anticoagulante).
- Aguja para vacutainer.
- Torundas con alcohol.
- Accesorios del ES 300 (copillas para muestra)
- Tubos recubiertos de estreptavidina (Farmacéuticos Lakeside S.A. de C.V.)

3.2.3. REACTIVOS.

- Kit de Enzimun Test CYFRA 21-1. Boehringer Mannheim (Farmacéuticos Lakeside S.A. de C.V.)
- Control (Niveles 1 y 2) (Marker, Boehringer Mannheim)
- Sustrato cromógeno (ABTS)
- Solución de limpieza (ES 300)
- Solución de lavado (ES 300)

3.2.4. EQUIPO.

- ES 300 (Farmacéuticos Lakeside S.A. de C.V.)
- Unidad completa de pipeteo y lavado (ES 300)
- Refrigerador a -20 °C.

3.3. METODOLOGIA.

FUNDAMENTO DE LA TECNICA DEL ENZYMN-TEST CYFRA 21-1:

La determinación del marcador tumoral CYFRA 21-1 se realizó con una técnica inmunoenzimática cuantitativa que detecta fragmentos solubles de citoqueratina 19. En la figura No.4 se presenta la secuencia de la metodología empleada en la determinación de este marcador tumoral.

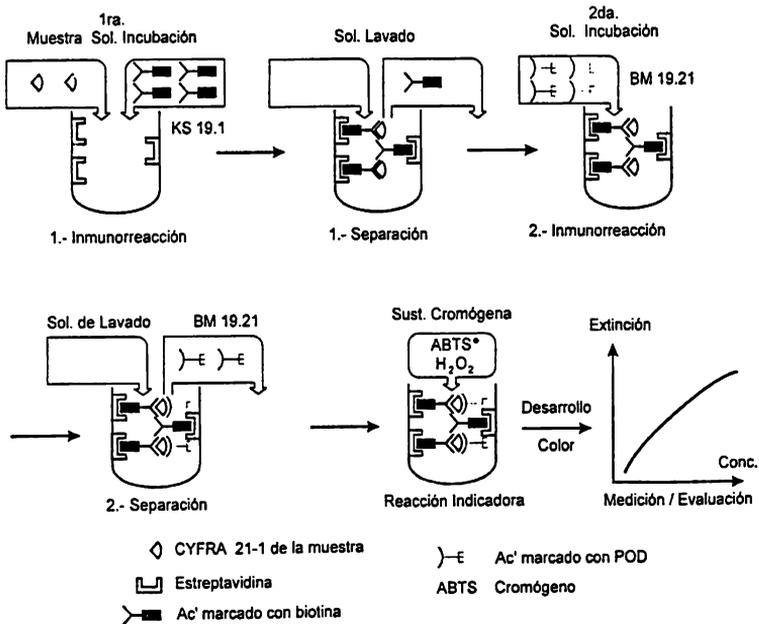


Figura No. 4. PRINCIPIO DE LA PRUEBA: ELISA/TECNICA SANDWICH EN DOS PASOS CON LA TECNOLOGIA DE ESTREPTAVIDINA.

METODOLOGIA:

Realizar el examen a 25 °C. en el analizador multiserie ES 300 automatizado y selectivo de la siguiente manera:

- 1.- Incubar los anticuerpos KS 19.1 en tubos de polietileno cubiertos de estreptavidina durante 30 minutos, para que junto con el antígeno presente en la muestra se unan formando la primera parte del sandwich.
- 2.- En seguida someter a aspiración y lavado.
- 3.- Luego adicionar 700 microlitros de solución de incubación que es la que lleva el anticuerpo conjugado HRP (BM 19.21).
- 4.- Incubar por 60 minutos.
- 5.- Repetir nuevamente la aspiración y el lavado: con esto se completa el sandwich.
- 6.- Adicionar 700 microlitros de solución de sustrato ABTS.
- 7.- Incubar por 60 minutos para el desarrollo del color.
- 8.- Medir la extinción a 422 nm.
- 9.- Calcular la concentración de CYFRA 21-1 a partir de su curva estandar.

Elaboración de la Curva Estandar.

El kit contiene 5 frascos con concentraciones conocidas, los cuales se utilizan como estandares para elaborar una curva de calibración (extinción vs. concentración de los estandares).

TUBO	CONCENTRACION
A	0 ng/ml
B	2.1 ng/ml
C	6.3 ng/ml
D	15.5 ng/ml
E	48.7 ng/ml

Realizar todas las diluciones con MULTIDILUENT 1 (matriz proteica) de LAKESIDE.

Para evaluar el control de calidad se utilizó un suero control liofilizado alto cuyo valor es de 39.36 ng/ml y un suero control de concentración baja que es de 5.90 ng/ml. Cada vez que se realizó una corrida se hizo con sus respectivos estándares y controles. En ningún caso se utilizó recalibración.

3.4. REVISION DE EXPEDIENTES.

Se revizaron 257 expedientes de pacientes del Instituto Nacional de Cancerología obteniéndose los siguientes datos: sexo, edad, origen, antecedentes oncológicos, factores de riesgo, estadios clínicos, metástasis, tratamiento, exámenes de laboratorio, radiológicos y patológicos.

De los 257 pacientes, solamente se tuvo más de una medición (seguimiento) en 7: 2 de cáncer de pulmón y 5 de cáncer cérvico uterino.

3.5. ANALISIS ESTADISTICO.

Los datos obtenidos de las determinaciones de CYFRA 21-1 fueron agrupados de acuerdo a: controles sanos, controles con cáncer no epidermoide, pacientes con cáncer cérvico uterino, pacientes con cáncer de pulmón y pacientes con cáncer de cabeza y cuello. A cada grupo de datos se les determinó la media (\bar{x}) y desviación estandard (DS), así como sus rangos de referencia a partir de la media más menos dos desviaciones standard.

Para ver si existian diferencias significativas entre las medias de los grupos se les determinó la prueba estadística de t de Student y se consideró estadísticamente significativo si la p era < 0.05 .

La sensibilidad y especificidad del marcador tumoral CYFRA 21-1, se determinó de acuerdo al Teorema de Bayes de probabilidad condicional, con las siguientes fórmulas:

Sensibilidad:

$$S = \frac{\text{verdaderos positivos}}{\text{verdaderos positivos} + \text{falsos negativos}} \quad 100$$

Especificidad:

$$E = \frac{\text{verdaderos negativos}}{\text{verdaderos negativos} + \text{falsos positivos}} \cdot 100$$

Valor predictivo positivo:

$$VPP = \frac{\text{verdaderos positivos}}{\text{verdaderos positivos} + \text{falsos positivos}} \cdot 100$$

Valor predictivo negativo:

$$VPN = \frac{\text{verdaderos negativos}}{\text{falsos negativos} + \text{verdaderos negativos}} \cdot 100$$

Donde el estandar de oro fue el estudio histopatológico del tejido obtenido para realizar el diagnóstico de cáncer en los pacientes.

C A P I T U L O I V

R E S U L T A D O S

C A P I T U L O I V

R E S U L T A D O S

4.1. CONTROLES SANOS:

Este grupo control en sus determinaciones del marcador tumoral CYFRA 21-1 obtuvo una media de 1.07 ng/ml, y una DS. de 0.78 ng/ml y el rango obtenido fué de 0.01 a 3.24 ng/ml. En la tabla II se observan los datos estratificados de acuerdo con la fuente (donadores y enfermeras). Para obtener el intervalo de referencia se sumaron 2 desviaciones estandard a la media; quedando de 0 a 2.63 ng/ml. Sin embargo, como en la literatura el valor máximo es de 3.3 ng/ml se decidió tomar el rango de los controles como valor máximo normal.

TABLA II

CONTROLES SANOS

	NUMERO DE PERSONAS	MEDIA	D.S.	VALOR DE REFERENCIA ng / ml
DONADORES DE SANGRE	80	0.69	0.46	0.0-2.3
ENFERMERIA	31	2.03	0.67	1.0-3.2
TOTAL	111	1.07	0.78	0.0-2.63

D.S. =DESVIACION STANDARD

UNIDADES = ng / ml

4.2. CONTROLES CON CANCER NO EPIDERMOIDE:

En el grupo de pacientes con neoplasias malignas cuya variedad histológica excluía al carcinoma epidermoide o escamoso tuvimos 88 sueros. Estos se colectaron porque el médico les había pedido alguna de las siguientes determinaciones: CA 125 (marcador para cáncer epitelial de ovario), CA 15.3 (marcador para adenocarcinoma de mama), .beta 2 microglobulina (marcador de activación linfocitaria que se eleva en linfomas) ó electroforesis de proteínas (marcador de mieloma múltiple). Del total de sueros trabajados se recolectaron: 22 a los que se les pidió CA 125, 22 para CA 15.3, 23 para beta-2 microglobulina y 21 sueros para electroforesis de proteínas.

En general este grupo de controles no sanos presentó en la determinación del marcador tumoral CYFRA 21-1, una media de 1.96 ng/ml, DS de 0.36 ng/ml y rango de 0.18 a 8.63 ng/ml. En la tabla III se presentan los datos de acuerdo al marcador tumoral que el médico pidió (media, desviación estandard, rango y número de casos por arriba del valor de referencia).

En la revisión de los expedientes se encontró que los pacientes con CYFRA 21-1 elevada correspondieron a 4 pacientes con medición de CA 125, y 3 pacientes con electroforesis de proteínas. Estos siete pacientes fueron considerados falsos positivos. A continuación se describen las características de estos casos.

De los 4 pacientes con determinación de CA .125 y CYFRA 21-1 arriba de 3.3 ng/ml, uno tuvo cáncer de ovario y valor de CYFRA 21-1 de 4.87 ng/ml. Ella había sido tratada con cirugía previa fuera de este Instituto y tenía tabaquismo positivo; otra paciente con valor de 5.62 ng/ml presentó cáncer de ovario y carcinoma canalicular infiltrante de mama estadio IV, con metástasis a columna lumbar; otra paciente con valor de 7.13 ng/ml tenía cáncer de ovario y posterior a su valoración inicial decidió no atenderse en el Instituto; y la última paciente presentó CYFRA 21-1 de 8.63 ng/ml y tenía adenocarcinoma poco diferenciado de ovario con metástasis a epiplón, peritoneo, pared abdominal y tejido fibroso adiposo, además presentó un segundo primario de mama y adenocarcinoma de cervix.

Los 3 pacientes a los que se les pidió electroforesis de proteína y tuvieron valor elevado para CYFRA 21-1 presentaron los siguientes antecedentes: uno con valor de 4.77 ng/ml padecía enfermedad de Hodgkin y fué tratado con transplante de células STEM; otro paciente presentó un valor de 5.07 ng/ml y tenía mieloma múltiple con metástasis a hueso presentando lesiones líticas extensas en craneo, fémures, tibias y columna, y el último paciente tuvo un valor de 3.81 ng/ml y presentó también mieloma múltiple. El valor de referencia con los resultados de este grupo de pacientes (media +/- 2 D.S) se encontró entre 0 y 2.68 ng/ml, valor que es prácticamente idéntico al encontrado en personas

TABLA III

CONTROLES CON CANCER NO EPIDERMÓIDE

MARCADOR TUMORAL	TOTAL CASOS	MEDIA	D.S.	RANGO	CASOS > 3.3 ng/ml
CA 125	22	2.8	2.01	1.0-8.6	4
B.2 M.	23	1.43	0.65	0.7-2.6	0
CA 15.3	22	1.55	0.61	0.8-2.3	0
E.P.	21	2.13	1.23	0.2-5.1	3
TOTAL	88	1.96	0.36	0.2-8.6	7

D.S. = DESVIACION STANDARD

B.2 M = BETA 2 MICROGLOBULINA

E.P. = ELECTROFORESIS DE PROTEINAS

UNIDADES = ng / ml

sanas y ligeramente menor al establecido por la casa comercial que produce este ensayo.

4.3. PACIENTES CON DIAGNOSTICO DE CANCER DE PULMON.

A los 11 pacientes con cáncer de pulmón se les clasificó de acuerdo al estadio en que se encontraban; no tuvimos pacientes con estadio I, 2 pacientes con estadio II, 7 pacientes con estadio III y 2 de estadio IV. En las determinaciones de CYFRA 21-1 los pacientes con estadio II presentaron una media de 3.30 ng/ml, D.S. de 0.83 ng/ml, rango de 2.47 a 4.14 ng/ml; los pacientes de estadio III presentaron una media de 43.11 ng/ml, D.S. de 34.21 ng/ml, rango de 4.79 a 87.0 ng/ml; y los de estadio IV presentaron media de 7.44 ng/ml, D.S. 5.48 ng/ml, rango de 3.57 a 11.32 ng/ml. En general los 11 pacientes de cáncer de pulmón presentaron una media de 29.3 ng/ml, D.S. de 32.84 ng/ml, y un rango comprendido entre 2.47 a 87.0 ng/ml como se puede apreciar en la tabla No. IV.

En la tabla No. V se pueden observar los resultados obtenidos de la revisión clínica de los expedientes de los 11 pacientes con cáncer de pulmón. Hubo 9 pacientes con antecedentes de tabaquismo y predominó el sexo masculino. Esto es semejante a lo descrito en la literatura (32). En todos los casos existió componente epidermoide en el tumor, sólo en dos casos este componente escamoso se combinó con adenocarcinoma.

TABLA IV

PACIENTES CON DIAGNOSTICO DE CANCER DE PULMON

ESTADIO	No. Ptes	MEDIA	D.S.	RANGO	CASOS > 3.3 ng/ml
II	2	3.3	0.8	2.4-4.1	1 (50 %)
III	7	43.1	34.2	4.7-87	7 (100 %)
IV	2	7.4	5.4	3.5-11.3	2 (100 %)
TOTAL	11	29.3	32.8	2.4-87.0	10 (90.9 %)

D.S. =DESVIACION STANDARD

UNIDADES = ng/ml

TABLA V

CUADRO CLINICO DE PACIENTES CON CANCER DE PULMON

ESTADIO	No. Ptes	EDAD PROMEDIO	SEXO	USO DE TABACO %	TIPO HISTOLOGICO (No. de casos)
II	2	44	1 MAS. 1 FEM.	50 %	EPIDERMOIDE (1) ADENOESCAMOSO(1)
III	7	59.71	6 MAS. 1 FEM.	100 % 100 %	EPIDERMOIDE (6) ADENOESCAMOSO (1)
IV	2	60	1 MAS. 1 FEM.	50 % 50 %	EPIDERMOIDE (2)

Mas.= Masculino

Fem.= Femenino

4.4. PACIENTES CON DIAGNOSTICO DE CANCER DE CABEZA Y CUELLO.

Los 23 pacientes con diagnóstico de cáncer de cabeza y cuello tuvieron carcinomas epidermoides desde el punto de vista histológico y se les clasificó de acuerdo al lugar de la localización del cáncer. En la tabla VI se puede observar la frecuencia en cuanto al lugar y su relación con la elevación de CYFRA 21-1; 3 pacientes se clasificaron como cáncer de piel debido a que la neoplasia estaba localizada en piel, uno en la región frontal y dos en la región temporal. Los pacientes con cáncer de laringe presentaron una media de 8.18 ng/ml, D.S. de 9.53 ng/ml y un rango de 2.81 a 23.56 ng/ml, los de cáncer en lengua tuvieron una media de 3.13 ng/ml, D.S. de 0.57 ng/ml, y un rango de 2.59 a 3.47 ng/ml; los de cáncer de encia presentaron una media de 2.95 ng/ml, D.S. de 0.55 ng/ml, y un rango de 2.34 a 3.40 ng/ml; los de piel tuvieron una media de 4.11 ng/ml, D.S. de 1.97 ng/ml, y un rango de 2.59 a 6.34 ng/ml.

A continuación se describen los cinco casos que tuvieron CYFRA 21-1 por arriba de 5 ng/ml:

a). un paciente con una determinación de 5.22 ng/ml, el cual tenía carcinoma epidermoide poco diferenciado e invasor de nasofaringe además presentó metástasis a ganglio cervical; b). otro paciente con determinación de 6.34 ng/ml presentó carcinoma epidermoide

bién diferenciado de antro maxilar, tabaquismo positivo y metástasis a base de cráneo; c). otro paciente con determinación de 10.86 ng/ml con cáncer epidermoide bien diferenciado de larige (glótico), taquismo positivo y metástasis a estómago y a cuero cabelludo; d). un paciente con determinación de 26.53 ng/ml, tenía cáncer epidermoide poco diferenciado de laringe, tuberculosis pulmonar, tabaquismo positivo, tumoración yudolodigástrica, tumoración supraglótica de cuerda vocal izquierda con infiltración a base de lengua, epiglotis y metástasis ganglional derecha de cuello y e). un paciente con CYFRA 21-1 de 7.28 ng/ml tenía un linfo epitelioma cervical (es un cáncer epidermoide con un componente inflamatorio muy alto que en ocasiones se puede confundir histológicamente con un linfoma). Como se puede observar todos los pacientes con este marcador positivo tenían enfermedad extensa.

TABLA VI

PACIENTES CON DIAGNOSTICO DE CANCER DE CABEZA Y CUELLO

LOCALIZACION	No. Ptes.	MEDIA ng/ml	D.S. ng/ml	RANGO	CYFRA > 3.3 ng/ml
LARINGE	6	8.18	9.53	2.81-26.53	2 (33.3 %)
LENGUA	3	3.13	0.57	2.59-3.47	1 (33.3 %)
ENCIA	3	2.95	0.55	2.34-3.40	1 (33.3 %)
PIEL	3	4.11	1.97	2.59-6.34	2 (66.6 %)
NASOFARINGE	2	6.21	1.4	5.22-7.2	2 (100 %)
LABIO	1	3.42	0	—	1 (100 %)
ADENOIDEO	1	3.63	0	—	1 (100 %)
AMIGDALA	1	3.16	0	—	0
SENO MAXILAR	1	1.74	0	—	0
HIPOFARINGE	1	3.26	0	—	0
PISO DE BOCA	1	3.63	0	—	1 (100 %)
TOTAL	23	4.81	5.12	1.74-26.53	11 (47.8 %)

D.S.= Desviación Standard

4.5. PACIENTES CON DIAGNOSTICO DE CANCER CERVICO UTERINO.

En las tablas No. VII y VIII se aprecian los resultados de las 135 pacientes con cáncer cérvico uterino. Se encuentran clasificadas por estadios; tuvimos 29 casos en estadio I, 45 en estadio II, 36 en estadio III y 13 en estadio IV; todas ellas con carcinoma epidermoide. Así mismo 12 pacientes presentaron carcinoma adenoescamoso.

Las pacientes con carcinoma escamoso en estadio I presentaron una media de 2.87 ng/ml, con D.S. de 2.01 ng/ml, rango de 0.93 a 10.40 ng/ml; de las pacientes con estadio II la media correspondió a 6.02 ng/ml, D.S. de 6.44 ng/ml, rango de 1.29 a 36.26 ng/ml; de las pacientes con estadio III su media fué de 17.26 ng/ml, D.S. de 33.97 ng/ml, rango de 1.63 a 45.7 ng/ml; en el estadio IV la media fué de 31.83 ng/ml, la D.S. de 49.11 ng/ml y el rango de 4.70 a 178.9 ng/ml. En general, las pacientes con cáncer cérvico uterino de tipo epidermoide presentaron una media de 12.15 ng/ml, con D.S. de 27.30 ng/ml y el rango comprendido entre 0.93 a 178.9 ng/ml. Aunque las diferencias observadas en las medias no son significativas, el valor de la media va en aumento progresivo conforme aumenta el estadio tumoral; siendo para el estadio IV-B una media de 31.83 ng/ml. En el caso de los pacientes con diagnóstico adenoescamoso de cérvix cabe decir que conforme aumenta el estadio hay más pacientes con valores arriba del nivel de referencia (3.3 ng/ml).

Los datos clínicos se presentan en la tabla IX. Encontramos lo siguiente: en el estadio I la edad promedio fué de 39.26 años, con inicio de vida sexual activa (IVSA) alrededor de los 14.67 años, el promedio de gestaciones (G) fué 4.27, con 3.58 partos (P) y 1.06 abortos (A). Para las pacientes en estadio II observamos que el promedio de edad fué alrededor de 52.24 años, con IVSA aproximadamente a los 17.85 años, con 8.76 gestas, 7.31 partos y 3.20 abortos. En el estadio III se observó un promedio de edad de 42.87 años, con IVSA alrededor de los 18.04 años, con 7.6 gestas, 6.55 partos y 1.71 abortos. Para el estadio IV la media de edad correspondió a 49.99 años, con IVSA de 17.45 años y 6.68 gestas, 6.65 partos y 1.5 abortos. Es interesante notar que conforme avanza el estadio clínico aumenta el promedio de edad así como el promedio de gestaciones. Esto es semejante a lo que se ha publicado en la literatura (15). También se pudo observar que en general todas las pacientes con cáncer cérvico uterino no tenían antecedentes de tabaquismo, alcoholismo, anticonceptivos y por lo general habían amamantado a sus hijos.

TABLA VII

**PACIENTES CON DIAGNOSTICO DE CARCINOMA
ESCAMOSO DE CERVIX**

ESTADIO	No.Ptes.	MEDIA	D.S.	RANGO	CYFRA > 3.3 ng/ml
I	29	2.9	2	0.9-10.4	7 (24 %)
II	45	6	6.4	1.3-36.2	31 (68 %)
III	36	17.3	33.9	1.6-45.7	29 (80 %)
IV	13	31.9	49.1	4.7-178.9	13 (100 %)
TOTAL	123	12.1	27.3	0.9-178.9	80 (65 %)

D.S.= DESVIACION STANDARD

UNIDADES=ng/ml

TABLA VIII

**PACIENTES CON DIAGNOSTICO ADENOESCAMOSO
DE CERVIX**

ESTADIO	No.Ptes.	MEDIA	D.S	RANGO	CYFRA > 3.3 ng/ml
I	1	3.4	0	0	1 (100 %)
II	5	4.9	2.5	2.2-8.2	3 (60 %)
III	4	10.2	12.1	2.6-28.3	3 (75 %)
IV	2	6.7	0.2	6.6-6.9	2 (100 %)
TOTAL	12	6.8	7	2.2-28.4	9 (75 %)

D.S = DESVIACION STANDARD

UNIDADES = ng/ml

TABLA IX

CUADRO CLINICO DE PACIENTES CON CANCER CERVICO-UTERINO

ESTADIO	EDAD \bar{X}	IVSA (años) \bar{X}	G \bar{X}	P \bar{X}	A \bar{X}
I	39.26	14.67	4.27	3.58	1.06
II	52.24	17.85	8.76	7.31	3.2
III	42.87	18.04	7.6	6.44	1.71
IV	49.99	17.45	6.68	6.55	1.5

\bar{X} = MEDIA

IVSA = Inicio de Vida Sexual Activa

G= Gestaciones

A = Abortos

P = Partos

4.6. PACIENTES CON SEGUIMIENTO DE DETERMINACION DEL MARCADOR

TUMORAL CYFRA 21-1.

Existieron 7 pacientes a los que se les realizó una determinación antes de iniciar tratamiento y otra después de haber recibido tratamiento, principalmente radioterapia, quimioterapia ó cirugía. En la gráfica No. I podemos observar claramente que en los dos pacientes con cáncer de pulmón el marcador tumoral CYFRA 21-1 se encontraba elevado a su ingreso al Instituto, y después de 8 meses de tratamiento, uno de ellos con radioterapia y quimioterapia, y el otro con cirugía, el marcador desciende considerablemente permaneciendo aún ligeramente elevado después del tratamiento. En ambos casos, las pacientes refieren mejoría de su padecimiento.

Las dos pacientes con cáncer cérvico uterino estadio IV-A presentan inicialmente valores elevados para CYFRA 21-1 y después del tratamiento con radioterapia el marcador desciende a valores normales, encontrándose las pacientes en respuesta total a su tratamiento. Las 2 pacientes con cáncer cérvico uterino estadio II-B recibieron tratamiento de radioterapia y su marcador permanece con variaciones insignificantes después del tratamiento en ellas el marcador siempre se encontró en niveles bajos; en una de ellas a pesar del tratamiento administrado, no se presentó

ninguna modificación en cuanto a la evolución del tumor, mientras que la otra paciente estaba libre de actividad tumoral después del tratamiento. La paciente con cáncer cérvico uterino estadio I-B fué tratada con radioterapia, después de 1 año entre las determinaciones, CYFRA 21-1 presenta descenso del marcador de 10 ng/ml a niveles por debajo del valor de referencia, en el momento de la segunda toma la paciente estaba sin evidencia de actividad tumoral.

TABLA X

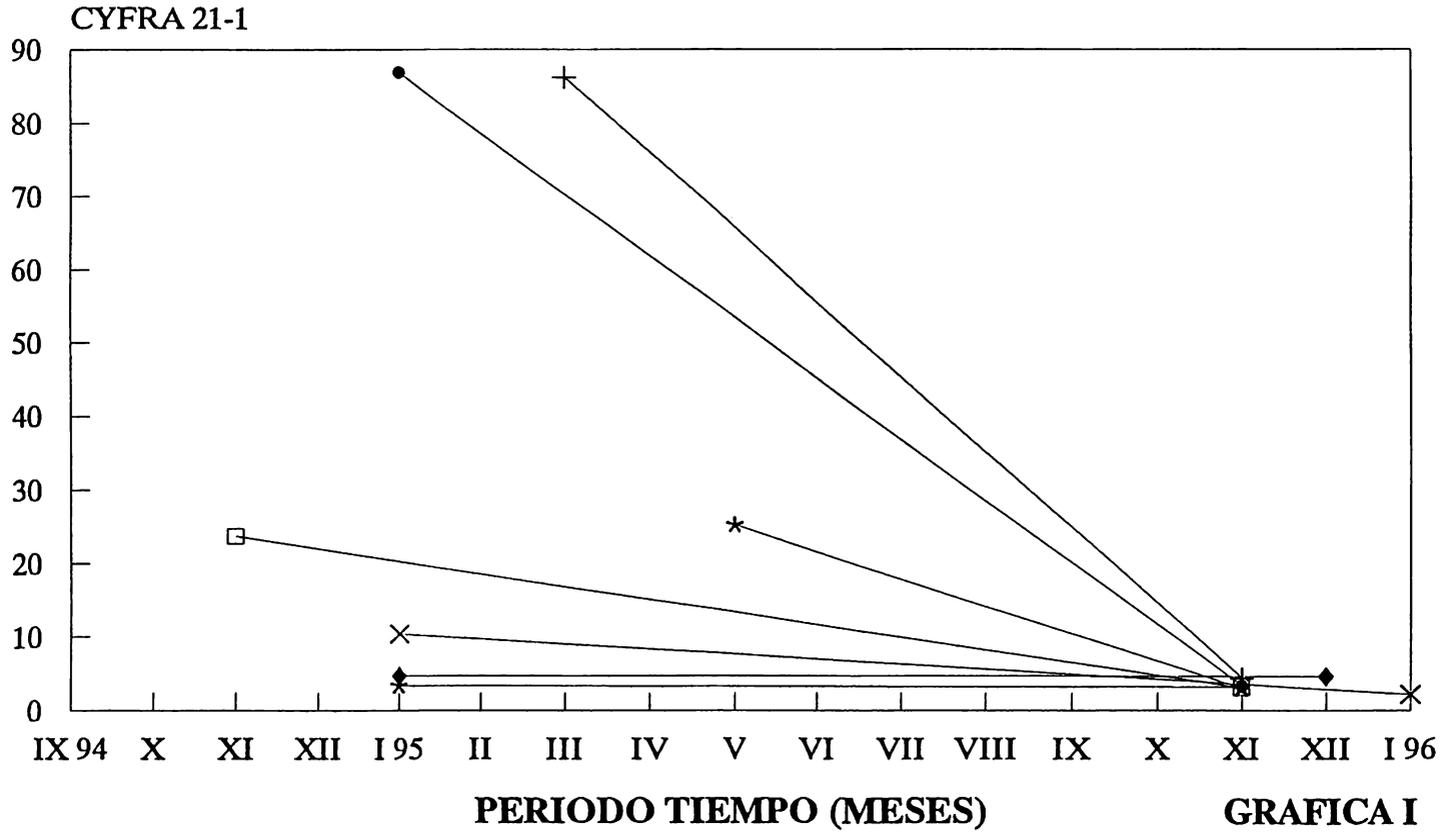
PACIENTES CON SEGUIMIENTO DE CYFRA 21-1

TIPO DE CANCER	TRATAMIENTO	INT.DETERM. (MESES)	1° VALOR CYFRA 21-1	2° VALOR CIFRA 21-1
CACU IB	RADIO	12	10.4	2.18
CACU IIB	RADIO	11	4.74	4.66
CACU IIB	RADIO CIRUGIA	11	3.4	3.18
CACU IV A	RADIO	14	23.72	3.09
CACU IV A	RADIO	6	25.25	2.97
CA PUL. III	RADIO QUIMIO	8	87	3.35
CA PUL. III	CIRUGIA	10	86.3	4.39

CACU = Cáncer Cérvico Uterino

CA PUL = Cáncer de Pulmón

PACIENTES CON SEGUIMIENTO CYFRA 21-1



● Series 1 + Series 2 * Series 3 ◻ Series 4 × Series 5 ◆ Series 6 ✱ Series 7

4.7. PRUEBA ESTADISTICA DE t DE STUDENT.

Se realizó la t de Student para comparar y comprobar si existían diferencias significativas entre las medias de los donadores y personas sanas versus los pacientes con carcinomas epidermoides (cáncer cérvico uterino, cáncer de pulmón y cáncer de cabeza y cuello). Se encontró que sí existen diferencias significativas entre estos grupos. Cuando se comparó la media de los pacientes con carcinomas no epidermoides se observó que existían diferencias significativas con cáncer de pulmón y carcinoma cérvico uterino. Sin embargo, ésto no fue así para los carcinomas de cabeza y cuello. Esto último probablemente se debe a que existieron sólo ligeras elevaciones del marcador CYFRA 21-1 en los tumores de cabeza y cuello.

TABLA XI

Comparación de las medias (\bar{x}) por la prueba "t" Student.

Grupo 1	Grupo 2	\bar{X}_1	\bar{X}_2	D.S.1	D.S.2	P. Obtenida por la prueba de "t"
Sanos	Ca.Cu.	1.07	10.71	0.78	24.75	$p < 0.0005$
Sanos	Ca. Pulmón	1.07	29.39	0.78	32.84	$p < 0.0005$
Sanos	Ca. C y C	1.07	4.81	0.78	5.12	$p > 0.0005$
No Sanos	Ca Pulmón	1.96	29.39	0.36	32.84	$p < 0.0005$
No Sanos	Ca. Cu.	1.96	10.71	0.36	24.75	$p < 0.0002$
No Sanos	Ca. C y C.	1.96	4.81	0.36	5.12	$p > 0.0007$

D.S = Desviación Standard

\bar{X} = Media

Ca. Cu = Cáncer Cérvico Uterino

Ca. C y C = Cáncer de Cabeza y Cuello

4.8. SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD DEL MARCADOR TUMORAL CYFRA 21- 1

En la tabla XII se puede apreciar la comparación de las pacientes con cáncer cérvico uterino y el grupo control sano, en donde se determinó una sensibilidad de 65.9%, especificidad de 100%, valor predictivo positivo de 100% y valor predictivo negativo de 70.7%. En este caso el estándar de oro para la determinar sensibilidad y especificidad fué la biopsia positiva para carcinoma escamoso y adenoescamoso del cérvix.

En la tabla XIII se puede apreciar la comparación de los pacientes con carcinoma escamoso y adenoescamoso por biopsia de diversas localizaciones vs. pacientes con otro tipo de cáncer y controles sanos, en donde se determinó una sensibilidad de 63.3%, especificidad de 96.5%, valor predictivo positivo de 93.8% y un valor predictivo negativo de 75.8%.

En la tabla XIV se pueden observar las sensibilidades y especificidades que han sido reportadas en la literatura para CYFRA 21-1 en cáncer cérvico uterino. Como se puede observar nosotros obtuvimos mejor sensibilidad y especificidad.

TABLA XII

SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD EN CARCINOMA EPIDERMÓIDE DE CERVIX

		CARCINOMA DE CERVIX	CONTROLES
CYFRA 21-1	+	89	0
	-	46	111

SENSIBILIDAD = 65.9 %

ESPECIFICIDAD = 100 %

VALOR PREDICTIVO POSITIVO = 100 %

VALOR PREDICTIVO NEGATIVO = 70.7 %

TABLA XIII
**SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD EN CARCINOMAS
 EPIDERMOIDES**

		CARCINOMA ESCAMOSO	CONTROLES
CYFRA 21-1	+	107	7
	-	62	195

SENSIBILIDAD = 63.3 %
 ESPECIFICIDAD = 96.5 %
 VALOR PREDICTIVO POSITIVO = 93.8 %
 VALOR PREDICTIVO NEGATIVO = 75.8 %

TABLA XIV

SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD REPORTADA PARA EL MARCADOR TUMORAL CYFRA 21-1

AUTORES	No. CASOS DE CACU	SENSIBILIDAD %	ESPECIFICIDAD %
PETRA STIEBER,MD	55	37	47
P. SCHMIDT-RHODE	20	55	52
HEINZ BODENMULLER	29	47	No reportada
M. PLEBANI	21	44	58
H. HAFNER	32	54	49
NUESTRO ESTUDIO	135	65.9	100

C A P I T U L O V

D I S C U S I O N E S

C A P I T U L O V

D I S C U S I O N

5.1. CONTROLES SANOS.

De los 111 donadores que formaron el grupo de controles sanos se puede observar que el rango de valores de referencia normales para el marcador tumoral CYFRA 21-1, es de 0.0 a 2.63 ng/ml. La literatura establece el valor de referencia entre 0.0 y 3.3 ng/ml (5,45). Se tomaron como población sana al grupo de donadores de sangre ya que ellos son en general parientes de nuestros pacientes lo que los hace una población socioeconómica y culturalmente muy parecida a la de nuestros pacientes.

En este estudio se decidió trabajar como nivel alto de referencia el rango mayor, ya que fué prácticamente idéntico al valor estipulado en la literatura. Se decidió no trabajar con 2.63 ng/ml ya que la diferencia con 3.3 ng/ml fue mínima; debido a que la mayor parte de los donadores fueron hombres y sólo tuvimos 30.0% de mujeres, en ellas el rango apareció hasta 3.3 ng/ml, por lo que se decidió tomar este valor como límite superior normal, en especial porque el padecimiento a estudiar se presenta solamente en mujeres.

5.2. CONTROLES CON CANCER NO EPIDERMÓIDE.

De acuerdo a los resultados para el marcador tumoral CYFRA 21-1 encontrados para este grupo, se aprecia que sí existen falsos positivos, en especial los pacientes con mieloma múltiple y el paciente con enfermedad de Hodgkin ya que no debieron presentar elevaciones del marcador. En las 4 pacientes con cáncer de ovario y CYFRA 21-1 elevado se podría suponer que son carcinomas epiteliales con enfermedad tan extensa que posiblemente algunos puedan producir citoqueratinas de alto peso molecular y por tanto ser positivos al marcador. Así mismo, varios autores (10,36) han encontrado positividad hasta 56.0% de los casos con cáncer de ovario. En nuestra experiencia fueron sólo 18.0% de los casos con cáncer de ovario los positivos a CYFRA 21-1.

Por otra parte, se sabe que el marcador tumoral CYFRA 21-1 es sensible y específico para detectar citoqueratinas, pero no presenta especificidad al lugar de origen de su producción, ni a su etiología. Por lo tanto, el marcador tumoral CYFRA 21-1 puede ser de utilidad en cualquier carcinoma en el que se encuentre elevado para ayudar a la detección de metástasis (19).

5.3. PACIENTES CON DIAGNOSTICO DE CANCER DE PULMON.

Aunque el número de casos analizados fué pequeño, nuestros resultados muestran que existe mayor incidencia de cáncer de pulmón en edades avanzadas y generalmente se encuentra asociada a tabaquismo. Con respecto a la determinación de CYFRA 21-1, tuvimos pocos casos en estadio II y IV (en cada uno solamente un caso con carcinoma epidermoide) por lo que las conclusiones deberán comprobarse con un número mayor de pacientes. Sin embargo los 6 casos de carcinoma escamoso presentaron elevaciones y en 2 de ellos en su seguimiento post tratamiento hubo una disminución notable, lo que hace a este marcador un buen candidato para el uso rutinario. También se pudo observar que los valores más elevados corresponden a cáncer epidermoide poco o moderadamente diferenciado con metástasis. Sin embargo, como no es específico por elevarse en todos los carcinomas epidermoides su valor diagnóstico no es lo que podría esperarse. Podemos decir que el marcador tumoral CYFRA 21-1, puede ser de gran ayuda para el seguimiento de cáncer de pulmón, como lo ha mencionado tantas veces la literatura; de hecho es un marcador probado y utilizado para cáncer de pulmón tipo epidermoide (9,10,19,22,23,34,36,39). En nuestra población valdria la pena realizar estudios con mayor número de pacientes que permitan validar estas observaciones.

5.4. PACIENTES CON DIAGNOSTICO DE CANCER DE CABEZA Y CUELLO.

Los resultados del marcador tumoral CYFRA 21-1 para los pacientes con cáncer de cabeza y cuello obtenidos en este estudio, muestran que puede ser utilizado en el diagnóstico de cáncer epidermoide en especial cuando se presentan metástasis. En los casos estudiados la elevación fué mayor en carcinoma epidermoide de laringe y de nasofaringe, posiblemente porque estos casos tienden a diagnosticarse en etapas más avanzadas por estar localizados internamente y dar síntomas tardíos inespecíficos, que aquellos de lengua, encia y piel que son más accesibles y por lo tanto se diagnostican en etapas más tempranas (5,6).

5.5. PACIENTES CON DIAGNOSTICO DE CANCER CERVICO UTERINO.

Con los datos obtenidos en este estudio podemos decir que CYFRA 21-1 es un marcador tumoral adecuado ya que; conforme aumenta el estadio, se incrementa el valor del marcador, lo que demuestra que existe correlación con el volumen o masa tumoral. Es de notar que en cáncer cérvico uterino los valores del marcador no fueron tan altos como en cáncer de pulmón. El motivo de esta diferencia es totalmente especulativo, pero existen varias posibles explicaciones:

- a). los tumores pulmonares producen mayor cantidad de citoqueratinas ó
- b). que invaden la circulación con mayor frecuencia en comparación con los carcinomas escamosos del cérvix uterino que tienden a la invasión local de los tejidos circundantes.

Como se menciona en la literatura el marcador tumoral CYFRA 21-1 es específico para cáncer de tipo epidermoide detectando la presencia de citoqueratinas de alto peso molecular, esto se confirma con los resultados de sensibilidad y especificidad. Sin embargo, es claro que no se trata de un marcador específico para cáncer cérvico uterino (5,9,10,34,36) sino un marcador de carcinoma epidermoide. Por otra parte, el hecho de que la exploración cérvico vaginal, con toma de citología exfoliativa sea tan accesible y permita tener tejido neoplásico directamente hacen que el valor diagnóstico de CYFRA 21-1 para cáncer cérvico uterino no sea prioritario. Sin embargo, el potencial uso de este marcador es el seguimiento de las pacientes, ya que hoy por hoy no existe forma de realizar el diagnóstico de metástasis ó invasión a tejidos vecinos más que con métodos invasivos (citoscopia) ó con estudios de imagen (tomografía) que son muy caros. Aquí es donde un marcador de este tipo tiene un valor muy importante. En este trabajo se determinó que CYFRA 21-1 se encuentra elevado y correlaciona este aumento con el volumen tumoral. Este es un primer paso, en segunda instancia se tiene

que realizar un estudio prospectivo de seguimiento de las pacientes a lo largo de su enfermedad y tratamiento para demostrar que disminuye al ser efectiva la terapia y que se eleva en el momento en que existen recurrencias y/o recaídas.

Al analizar los estudios realizados sobre el marcador tumoral CYFRA 21-1 en cáncer cérvico uterino se puede observar que esta es la serie más grande de las que se encuentran reportadas actualmente (8,9,39,46). Además, es la primera en la que se correlaciona al marcador con los diversos estadios tumorales y se sigue un número reducido de pacientes.

5.6. PACIENTES CON SEGUIMIENTO DE DETERMINACION DEL MARCADOR

TUMORAL CYFRA 21-1.

Hubo pocos pacientes a los que se les realizó seguimiento del marcador tumoral CYFRA 21-1, en ellos se puede observar como disminuye este marcador tumoral después de tratamiento y existiendo remisión de la enfermedad, lo que hace tener la utilidad para seguimiento de los pacientes con neoplasias epidermoides (39). Esta observación debe ser comprobada con mayor número de pacientes y en seguimiento a más largo plazo, en especial cuando ocurran recurrencias.

5.7. PRUEBA ESTADISTICA DE t DE STUDENT.

Con los resultados obtenidos por la prueba de t de Student se puede comprobar que los valores de CYFRA 21-1, no están dados al azar, sino que existen diferencias estadísticamente significativas entre el grupo de personas control y los carcinomas epidermoides tanto de cérvix uterino como de pulmón. Esto es semejante a lo que indica la literatura acerca del marcador tumoral CYFRA 21-1. En cuanto a los cánceres escamosos de cabeza y cuello los valores no son significativos estadísticamente, debido a que las elevaciones no son tan importantes y a que el número de casos es pequeño.

5.8. SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD DEL MARCADOR TUMORAL CYFRA 21-1.

Con los resultados obtenidos en la tabla XII de contingencia 2 X 2 se puede concluir que la determinación del marcador tumoral CYFRA 21-1 es sensible para cáncer cérvico uterino (65.9%). En cuanto al valor de especificidad de 100%, indica que esta prueba es específica para pacientes con cáncer cérvico uterino, ya que ningún paciente sano mostró valores elevados para esta determinación.

En la tabla XIII, se ve que la prueba tiene una sensibilidad de 63.3% y una especificidad de 96.5% para detectar

carcinoma epidermoide. Si comparamos nuestros datos con los reportados en la literatura, se obtuvo una mejor sensibilidad y especificidad en este estudio, esto probablemente se debe a que existe mayor número de pacientes y a que se encuentran en estadios más avanzados (8).

C A P I T U L O V I

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

C A P I T U L O V I

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

- 1.- En este trabajo se establece que el límite superior de referencia (media más 2 desviaciones estandard) en la población mexicana para el marcador tumoral CYFRA 21-1 fué de 2.63 ng/ml. El rango de valores indicado en la literatura fué de 0 a 3.3 ng/ml y éste se tomó como límite superior.
- 2.- Tomando como límite superior 3.3 ng/ml solamente hubo 7 falsos positivos, por lo que consideramos que CYFRA 21-1 es un buen marcador para carcinoma epidermoide y cáncer adenoescamoso cérvico uterino y pulmonar.
- 3.- Con los resultados obtenidos en el presente trabajo se demuestra que el marcador tumoral CYFRA 21-1 en carcinoma cérvico uterino, se eleva con mayor frecuencia en estadios avanzados que en los tempranos, por lo que el aumento va en relación con el volumen tumoral.
- 4.- De acuerdo a lo que refiere la literatura respecto a la utilidad del marcador tumoral CYFRA 21-1 para carcinoma epidermoide de pulmón, se comprobó que efectivamente el CYFRA 21-1 es útil para la detección de carcinoma epidermoide de pulmón, no importando el estadio clínico del mismo.

- 5.- Las determinaciones de sensibilidad, y especificidad, para cáncer cérvico uterino vs. controles sanos demuestran tener mayor especificidad que sensibilidad que lo reportado en la literatura.

6. Aunque el número de pacientes con carcinoma cérvico uterino con dos determinaciones (seguimiento) es pequeño, CYFRA 21-1 parece reflejar lo que sucede con las pacientes. Se requiere de un estudio de seguimiento más extenso para poder confirmar esta observación.

7. Como conclusión global podemos decir que no existe un marcador tumoral único debido a que tampoco existe un tumor único.

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.- Dennis A. Noé. Diagnostic Classification. Dennis A. Noé. Laboratory Medicine. The Selection and International Interpretation of Clinical Laboratory Studies, Second edition, Williams & Wilkins, U.S.A., 1984 pp 27-30.
- 2.- Lynch Raphael Mellor, Spare Blood. Métodos de Análisis. Lynch Raphael Mellor, Spare Blood 1 y 2. Métodos de Laboratorio, Segunda edición: Interamericana, México, D.F., 1982, cap 4, pp 64-92.
- 3.- Roy N. Barnett. Pruebas estadísticas. Tood-Sanford-Davidson. Diagnóstico y tratamiento Clínicos por el Laboratorio, Octava edición, Salvat, España, 1982 cap 13, pp 55-75; cap 15 pp 351-369.
- 4.- C. Harris Spiridonidis, MD, Leslie R. Laufman, MD, Kabir A. Stidnycki, RN; et. al. Decline of Post-Treatment Tumor Marker Levels After Therapy of Non Small Cell Lung Cancer: A Useful Outcome Predictor. Cancer, 1996 7, 75:1586-1593.
- 5.- Douglas C. Aziz. Monitoring Cytokeratin Fragment 19 and Monitoring Squamous Cell Carcinoma Antigen. Douglas C. Aziz, MD, Ph.D, Use and Interpretation of Test in Oncology. Second Edition, Speciality Laboratories INC, U.S.A., 1995, pp 48-59.
- 6.- Dale H. Rice. Tumor Markers of Head and Neck Cancer. Dale H. Rice, MD., Ronald H. Spiro, M.D. Current concepts in Head & Neck Cancer. Second edition, American Cancer Society. U.S.A., 1993, cap 1, pp 1-15; cap 4, pp 11; cap 2, pp 17.

- 7.- Ebert, W., Leichtweis, B., Shapholer, B. & Muley, Th. The New Tumor Marker CYFRA is SCC Antigen and CEA in the Primary Diagnosis of Lung Cancer. Tumor Diagn. Ther. 1993; 14:91-99
- 8.- H. Bodenmuller, p. Stieber, D. Banauch, U. Hasholzner, A. Dessaver, B. Ofenloch-Hahnle, D. Jaworek, A. Fateh-Moghadam. Enzymun Test CYFRA 21-1 A New Marker of NSCLC. Method Evaluation and First Clinical Experiences. Poster Presented at the National Meeting of AACC, Chicago 1992; July 19-23.
- 9.- Petra Steiber, M. D.; Ute Hasholzner, M. D.; Heinz Bodenmuller. Ph. D; Dorothea Nasel, Ph. D, Ludger Sunder-Plasmann M.D; Werner Meirr, M.D.S; Hendrik Dienemann M.D and Ahmad Fated Moghadam M.D. CYFRA 21-1. A New Marker in the Lung Cancer. Cancer 1993; 72:707-713.
- 10.- U. Hasholzner; P. Stieber; M. Fiebig; L. Sunder-Plassmann; A. Fated-Moghadam; Institute of Clinical Chemistry, Department of Surgery; Klinikum Grobhadern, Ludwig-Maximilians, University Munich, Germany. A New Tumor Marker for Non-Small-Cell Lung Cancer. (NSCLC). Cancer R, 1994; 1-2:134-136.
- 11.- Susan E. Bates and Dan L. Longo. Use of Serum Tumor Marker in Cancer Diagnosis and Management. Sem in Oncol, 1987; 14:102-126.
- 12.- Dan L. Longo. Tumor Markers: Curren Status of the Quest-Introductory Overview. Sem in Oncol, 1987; 14:85-101.
- 13.- Fishman Alfred P. Carcinoma del Epitelio de las Vías Aereas y Alveolar. (Carcinoma Pulmonar). Fishman, Alfred P., Tratado

de Neumología, Segunda edición, Editorial Salvat, España, 1989, pp 1253-1271.

- 14.- Compendio del Registro Histopatológico de Neoplasias Malignas en México. 1990. Anuario Estadístico de Morbilidad.
- 15.- Michael J. Campion, MD., Neoplasia Cervical: Epidemiología y Etiología, Significado y Biología de la Infección Cervical por VPH. Michael J. Campion, MD., Daron G. Ferris, MD., Fernando B. Guijón, MD., Federico M. di Paola, MD., Richard Reid, MD., Colposcopia Moderna: Un Enfoque Práctico, Primera edición, American Association for Colposcopy and Cervical Pathology (A.S.C.C.P), Augusta, Georgia, 1995, pp 29-48.
- 16.- Richard Reid, MD., Inmunología del Tumor y otros Mecanismos de Defensa del Huésped. Richard Reid, MD., Booker E. Robert, MD., Ginecología Oncológica, Segunda edición, Weiss & Weiss, U.S.A., 1992, cap 16, pp 405-437.
- 17.- Robbins A.H. Neoplasias. Robbins A.H. Patología Estructural y Funcional, Quinta edición, Mc Graw-Hill, México, 1995, cap 6, pp 247-261.
- 18.- Jurgen Heise, Dr. Peter Diziol. Determinación de Marcadores Tumoraes, Desarrollo de Tumores, Características de un Marcador Tumoral "ideal", Valor Diagnóstico de un Marcador Tumoral, Marcadores Tumoraes en el Control del Curso, ¿Qué Marcadores Tumoraes en qué Tumor?. Jurgen Heise, Dr. Peter Diziol. Departamento Científico de Diagnóstica Boehringer Mannheim GmbH. Empleo Práctico de los Marcadores Tumoraes.

Segunda edición, Información Científica de Boehringer Mannheim, Alemania, 1990, cap 2, pp 9-10; cap 3, pp 11-16; cap 5, pp 18-21; cap 6, pp 21-26; cap 7, pp 27-30; cap 24, pp 7-80.

- 19.- Werner Ebert, Hendrik Dienemann, Ahmad Fateh-Maghadam, Max Scheulen, Nikolaus Konietzko, Thomas Schieich, Emilio Bombardieri. CYFRA 21-1 in Comparison with CEA, SCC and NSE in Lung Cancer. Results and International Multicenter Study. Eur J Clin Chem and Clin Biochem, 1993; 14:6-17.
- 20.- Ivan M. Roitt. Inmunidad Frente a los Tumores. Ivan M. Roitt, Jonathan Brostoff and Davidk Male. Inmunología, Segunda Edición, Salvat Editores. S.A. España, 1991, cap 18, pp 18.1-18.13.
- 21.- Juan W. Zinser. Marcadores Tumorales y su Utilidad Clínica. Consideraciones Generales. Revista del Instituto Nacional de Cancerología. 1995; 41:97-102.
- 22.- P. Schidt- Rhode, K.D. Schulz, G. Sturm, H. Hafner, H. Prinz and H. J. Kunzig. Squamous Cell Carcinoma Antigen for Monitoring Cervical Cancer. Cancer 1988; 3:87-94.
- 23.- J.J. Body, MD, J.P. Sculier, MD, N. Raymakers, BSc, M. Paesmans, MSc, P. Ravez, MD, P. Libert, MD, M. Richez, MD, J. Lecomte, MD, D. Brohée, MD, P. Mommen, RN, J. Fruhling, MD, and J. Klastersky, MD. Evaluation of Squamous Cell Carcinoma Antigen as a New Marker for Lung Cancer. Cancer, 1990; 65:1552-1556.

- 24.- R.R. Love. Tumores Ginecologicos. D.K. Hossfeld, C.D. Scherman, R.R. Love, F.X. Bosch. International Union Against Cancer. Manual de Oncología Clínica, Quinta edición, Editorial Dayma, 1992, cap 26, pp 292-295.
- 25.- Herbert A. Fritsche, PhD. Tumor Marker Test in Patient Monitoring. Laboratory Medicine. 1982; 13:528-533.
- 26.- John P. Minton, MD, PhD, FACs, and Aaron Chevinsky MD. Present Status of Serum Markers. Sem in Oncol. 1989; 5:426-435.
- 27.- G. Farante. Utilidad de los Marcadores Tumorales en Oncología. G. Farante, R. Chacon. Compendio de Oncología, Segunda edición, Salvat Editores, Barcelona, España, 1989, cap 4, pp 49-63.
- 28.- Dr. Arturo Manlio Terrés Speziale. Proababilidad Condicional: El Teorema de Bayes. Terrés Speziale Dr., Merk-México S.A. Patología Clínica: Ciencia y Tecnología. Primera edición, Merk-México S.A., México D.F., 1993, pp 50-52.
- 29.- Nadji- M, et.al. Tumor Markers in Gynecologic Neoplasms. Clin Lab Med. 1990; 10(1):105-117.
- 30.- Montag-TW, et.al. Tumor Markers in Gynecologic Oncology. Obstet-Gynecol-Surv. 1990; 45(2):94-105.
- 31.- Avall Lundquist E, et al. Evaluation of Seven Different Tumor Markers for the Establishment of Tumor Marker Panels in Gynecologic Malignancies. Eur J Gynecol. 1993, 1; 65(7):1552-1556.

- 32.- Joseph L. Andrews Jr, MD, Sarah Bloom, BA, Karoly Balogh, MD, and John F. Beamis, Jr, MD. Lung Cancer in Women: Lahey Clinical Experience, 1957-1980. *Cancer* 1985; 55:2894-2899.
- 33.- Registro de las Neoplasias Malignas en el Instituto Nacional de Cancerología. Departamento de Archivo Clínico 1993-1994.
- 34.- Jus L.V. Broers, Frans C.S. Ramaekers, Mirjam Klein Rot, Tineke Oostendorp, Anita Huysmans, Gaos N. P. Van Muijen, Sjoerd S.C. Wgenaar and G. Peter Vooijs. Cytokeratins in Different Types of Human Lung Cancer as Monitored by Chain-Specific Monoclonal Antibodies. *Cancer R.* 1988; 48(6):3221-3228.
- 35.- Coppleson. Tumor Markers. Coppleson, Monogham, Morrow, Tattersall. *Gynecology Oncology*, Secon Edition, Churchill Livingstone, Edinburgh London, Melbourne, New York and Tokio, 1992, cap 24, pp411-413.
- 36.- Petra Stieber, Heinz Bodenmuller, Dieter Banauch, Ute Hasholzner, Andreas Dessauer, Beatus Ofenloch-Hahnle, Dieter Jaworek, and Ahmad Fateh-Moghadam. Cytokeratin 19 Fragments: A New Marker for Non-Small-Cell Lung Cancer. *Clin Biochem*, 1993; 26:301-304.
- 37.- Jean-Louis Pujol, Jean Grenier, Jean-Pierre Daures, Alain Daver, Henri Pujol, and Francois-Bernard Michel. Serum Fragment of Cytoqueratin Subunit 19 Measured by CYFRA 21-1.

- Immunoradiometric Assay as a Marker of Lung Cancer. *Cancer R.* 1993; 53(1-2):61-65.
- 38.- Yvan Towitou, André Bogdan. Tumor Markers in Non-Malignant Diseases. *Perspectives in Cancer Research. Eur J Cancer Clin Oncol*, 1988; 24:1083-1091.
- 39.- M. Plebani, D. Basso, F. Navaglia, M De Paoli, A Tommasini and A Cipriani. Clinical Evaluation of Seven Tumor Markers in Lung Cancer Diagnosis: can any combination improve the results?. Department of Laboratory Medicine, University of Padova; Centre of Biomedical Research, Castelfranco Veneto, Department of Pneumology University fo Padova. Italy. 1995.
- 40.- Alejandro García-Carrancá, Patricio V. Gariglio. Aspectos Moleculares de los Papilomavirus Humanos y su Relación con el Cáncer Cérvico-Uterino. *Rev. Inv. Clin.* 1993; 45: 85-92.
- 41.- Guissmann K., Zurhausen H.; Partial Characterization of Viral DNA from Human Genital. *Int. J. Cancer.* 1980; 25: 605-12.
- 42.- Schwarz E, Freese WK, Gismann L, Mayes W, Roggenbuck B, Stemplau A, et. al. Structure and Transcription of Human Papilloma Virus Sequences in Cervical Carcinoma Cell. *Nature (London)* 1985; 314:111-4.
- 43.- Schlegel R, Phelps WC, Zhang Y, Barbosa M.S. Quantitative Keratinocyte Assays Identifies Papilloma Virus Types Associated with Human Cervical Carcinoma and Detects Two Distinc Viral Activities. *EMBOJ* 1988; 7: 3181-7.

- 44.- González-Garay M, Avilez L, Barrera Saldaña H, Garilo P.
Characterization of HPV 16 and 18 in Uterine Cervix
Carcinomas from two Different Mexican Populations. J. Cell
Biochem. 1989; 13 c :187.
- 45.- Kit Enzymun - Test CYFRA 21-1 (Test Inmunoenzimático in vitro
para la Determinación Cuantitativa de Fragmentos de
Citoqueratina 19). No. 1 293 443.
- 46.- Georges M. Akoun, MD., F.C.C.P., Helene M. Scarna, Ph.D.,
Bernard J. Milleron, MD, Marie P. Benichou, MD., and
Dominique P. Herman, MD. Serum Neuron-Specific Enolase. A
Marker for Disease Extent and Response to Therapy for Small-
Cell Lung Cancer. Chest, 1985; 87:39-43.