

MARCADORES Y ANTIGENOS TUMORALES EN EL CARCINOMA BRONCOPULMONAR

A. Concha López*, Fco. Ruiz-Cabello Osuna* *. B. Alcázar Lanagrán* * *. R. Ondiviela Gracia* * * *.

*Servicio de Anatomía Patológica del Hospital General de Especialidades «Ciudad de Jaén». Jaén. **Servicio de Inmunología Clínicos de la Ciudad Sanitaria «Virgen de las Nieves». Granada. ***Servicio de Neumología del Hospital General de Especialidades «Ciudad de Jaén». Jaén. ****Departamento de Anatomía Patológica del Hospital Nacional «Marqués de Valdecilla». Santander.

INTRODUCCION

Clásicamente, el término de Marcador Tumoral (TM) se ha reservado a «cualquier sustancia producida selectivamente por la célula tumoral y liberada al torrente circulatorio en cantidades detectables».

Actualmente, esta definición es incompleta y, en parte, errónea ya que existen numerosos ejemplos y situaciones en los que no se cumple realmente. Asimismo, es frecuente utilizar los vocablos Marcador y Antígeno Tumoral como sinónimos, dado que la mayoría de las moléculas así consideradas tienen propiedades inmunógenas y pueden jugar un importante papel en la transformación celular, así como en el control inmunológico de la neoplasia (Moore, 1989).

No obstante, deberíamos reservar el segundo para designar a «aquellas moléculas presentes en las células neoplásicas capaces de provocar una respuesta inmunitaria en el organismo donde asientan».

Dichos Antígenos Tumorales (AT) pueden agruparse de la siguiente forma:

I. Antígenos Específicos de Tumor (AET)

- a) Clase I: presentes en las células de un tumor concreto en un determinado individuo.
- b) Clase II: compartidos por otros tumores de individuos diferentes.
- c) Clase III: expresados en una serie de células y tejidos normales y neoplásicos de diferentes sujetos.

II. Antígenos de Trasplante Asociados a Tumor (ATAT)

«Aquellos que inducen una reacción inmunológica capaz de provocar el rechazo del tumor en huéspedes singénicos preinmunizados». Estos ATAT son diferentes de los Antígenos del Complejo Mayor de Histocompatibilidad (CMH).

De forma genérica, Antígenos y Marcadores Tumorales pueden ser agrupados como sigue, modificando la clasificación de Daar (Daar & Lennox, 1987):

I. Antígenos de Diferenciación

- a) Apropriados o no respecto al estadio de diferenciación de las células en las que se produce la transformación neoplásica.
- b) Presentes solo y de forma restringida en células que se encuentran en fases activas de proliferación.

II. Antígenos Oncofetales

- a) Presentes tanto en tejidos embrionarios y fetales así como en ciertos tumores.

III. Antígenos del Complejo Mayor de Histocompatibilidad (MHC)

- a) Semejantes a los de las células normales del organismo portador del tumor.
- b) Alterados con respecto a los mismos.

IV. Antígenos Oncogénicos

- a) Originados por la expresión de oncogenes exógenos.
- b) Debidos a la activación de oncogenes endógenos

V. Antígenos Virales

- a) Correspondientes a los del virus transformante en aquellos tumores inducidos por virus.
- b) Procedentes de la expresión de virus endógenos.

VI. Glicolípidos, glicoproteínas y otras moléculas alteradas

- a) Presentes en células tumorales en las que, en principio, no deberían encontrarse.
- b) Presentes en dichas células, donde no son extrañas, pero con alteraciones moleculares.

No obstante, debemos realizar ciertas puntualizaciones sobre algunos de los aspectos mencionados anteriormente.

En primer lugar comentamos el conflicto, aún existente en la actualidad, sobre la existencia o no de una verdadera desdiferenciación celular en la transformación neoplásica. Existen autores que defiende la «desdiferenciación» en el sentido de un retroceso en el proceso normal madurativo de la célula. Otros piensan que se produce un bloqueo en dicho proceso y es en ese punto de «congelación madurativa» en el que las células comienzan a proliferar indiscriminadamente. Asimismo, hay quienes propugnan la existencia de fenómenos de diferenciación aberrante por anomalías en la maduración de células embrionarias o de reservas (multipotenciales) a lo que denominan «indeferenciación».

El encontrar ejemplos que avalan cada una de las teorías expuestas anteriormente, así como la posibilidad de mecanismos mixtos, intermedios, divergentes y/o diferentes nos inclina a acuñar el término de «desdiferenciación» para designar «a toda alteración, sea cual fuere su tipo y sentido, en los procesos de crecimiento y maduración celular».

Otro punto a tratar es el de «transformación neoplásica» considerándola no como un cambio abrupto en la biología de la célula sino como un proceso progresivo en el que se acoplan, entre otros, fenómenos de iniciación, promoción, selección y clonación, que van a dar lugar a una población celular con cambios genómicos, transcripciones y/o fenotípicos.

Por último, señalamos que la población celular que compone un tumor es «heterogénea y cambiante». La heterogeneidad se refiere tanto a los aspectos morfológicos como a los funcionales, y no solamente al comparar distintos tumores de un mismo tipo, sino cuando lo hacemos estudiando múltiples zonas de un mismo tumor. La variabilidad tumoral indica que las células neoplásicas cambian y se adaptan en función de factores condicionantes, intrínsecos y/o ambientales a lo largo de su evolución.

Así pues, teniendo en cuenta lo expuesto anteriormente, podemos definir como Marcador Tumoral a «toda molécula, antigénica o no, en la que la existencia de cambios cuantitativos y/o alteraciones cualitativas en su composición y estructura, o cuya sola presencia en la célula, sea indicativa de transformación neoplásica».

UTILIDAD DE LOS MARCADORES TUMORALES EN EL CANCER DE PULMON

Las aplicaciones directas que poseen estas moléculas en el caso del carcinoma broncopulmonar se pueden resumir de la siguiente forma:

I. Diagnóstico

- a) En sangre periférica y fluidos corporales (orina, de rames cavitarios, etc.), nos permiten realizar una selección de pacientes de alto riesgo con el fin de hacer un diagnóstico precoz, así como en individuos con sospecha clínica pero sin evidencia objetiva de lesión tumoral.
- b) Con técnicas de Imagen (Inmunogammagrafía) podemos detectar y localizar las lesiones neoplásicas primitivas y metastásicas.
- c) En el tejido («in situ») nos permiten tipificar la naturaleza del tumor así como su más precisa clasificación, e intentar predecir la conducta biológica de la neoplasia mediante el establecimiento de parámetros e indicadores biológicos de actividad.

II. Seguimiento

- a) Monitoreización de la respuesta al tratamiento. Detección precoz de recidivas y metástasis.

III. Tratamiento

- a) Sirven como «diana» en aquellas estrategias terapéuticas de base inmunológica tales como las inmunotoxinas o las oncovacunas.
- b) En aquellos casos en los que estén directamente relacionados con procesos biológicos de transformación y crecimiento tumorales, podemos ejercer algún tipo de manipulación que modifique o anule su acción.

ANTIGENOS TUMORALES EN EL CARCINOMA BRONCOPULMONAR

Tomando como referencia la clasificación de antígenos tumorales anteriormente señalada, destacamos los siguientes por su importancia en la patología del cáncer broncopulmonar:

I. Antígenos de Diferenciación

A - de Membrana:

El Antígeno de Membrana Epitelial (EMA) es una glicoproteína de 265-400 kd. obtenida del glóbulo graso de la leche humana. Se encuentra ampliamente distribuido en epitelios glandulares y de forma parcheada en los de tipo escamoso. Aunque en un primer momento se pensó que era característico de carcinoma mamario, podemos detectarlo no sólo en adenocarcinomas de cualquier origen, sino en los carcinomas transicionales y epidermoides. No obstante, también se puede encontrar en células perineurales y plasmáticas así como en un grupo de linfomas de alto grado de malignidad (Linfomas anaplásicos de células grandes), que pueden carecer a su vez del Antígeno Leucocitario Común.

En el tejido pulmonar, el EMA se aprecia en la superficie apical del epitelio bronquiolar y de las glándulas seromucinosas al igual que en los neumocitos tipo I y II. Nosotros hemos encontrado en los adenocarcinomas (Fig. 1)

y carcinomas de células grandes de pulmón una positividad difusa y homogénea. En los carcinomas de células pequeñas, también hemos hallado reactividad difusa pero más débil que en los anteriores. En los carcinomas epidermoides, la expresión del EMA es heterogénea con claro predominio en las zonas más queratinizadas y mejor diferenciadas (Fig. 2). Nuestros hallazgos coinciden con los de otros autores (Gatter et al 1985) aún utilizando anticuerpos diferentes al nuestro (E29).

Si su expresión tiene o no implicaciones pronósticas es algo que estamos tratando de conocer pero, dado que puede detectarse en tejido procesado rutinariamente, es de gran ayuda en el diagnóstico diferencial de tumores malignos, incluyendo el mesotelioma, puesto que en éste es negativo o presenta una reactividad muy débil.

En nuestra experiencia la expresión del EMA está en relación directa con el grado de diferenciación del tumor.

Otro antígeno de importancia es el denominado Ca, detectado por el anticuerpo monoclonal Ca 1, y que está constituido por una glicoproteína de 350-400 Kd. Cuando fue aislada se consideró como marcador específico de malignidad (antígeno asociado a tumor). Sin embargo, estudios de muestreo posteriores (Mulshine et al, 1987) demostraron que tejidos epiteliales normales (urotelio, epitelio cervical y tubárico, etc.), incluidos el bronquial y los neumocitos tipo II, también lo expresan así como los tumores que de ellos se origina.

Curiosamente, los adenocarcinomas de próstata y la mayoría de los gastrointestinales carecen de dicho antígeno.

Los mesoteliomas, al igual que ocurría con el EMA, son negativos o muy debilmente positivos por lo que se puede utilizar en el diagnóstico diferencial. Además, puede ser detectado en plasma y utilizarse en el seguimiento de la enfermedad.

Existen otros muchos antígenos emparentados con el anterior ya que son glicoproteínas relacionadas en cierto modo con la transformación neoplásica celular. Entre ellos destacamos el Ca 15.3, reconocido por los anticuerpos DF3 y 115D8, que surgió como marcador específico de carcinoma de mama, el Ca 125, detectado por el anticuerpo OC 125, también denominado antígeno celómico ya que se encuentra fuertemente expresado en carcinomas serosos de ovario y en mesoteliomas, si bien es encontrado también en otros tipos de carcinomas. El Ca 19.9 es otro ejemplo de antígeno carbohidratado asociado a carcinoma, al igual que el B 72.3 que nos sirve también en la discriminación entre adenocarcinoma y mesotelioma. El anticuerpo B 1.1 que reacciona con una glicoproteína de 180 kd. que parece ser idéntica al Antígeno Carcinoembrionario (CEA), y el B 6.2 dirigido contra una glicoproteína de 90 kd. coexpresada con el CEA, son también de utilidad en el diagnóstico y seguimiento de carcinomas de pulmón.

El Antígeno Polipeptídico Tisular (TPA) es una molécula detectada en la mayoría de los distintos tipos de carcinomas de pulmón, así como en muchos otros de distintas localizaciones. Es muy útil en el seguimiento de la evolución de los pacientes ya que posee una buena relación sensibilidad/especificidad (Bruccheri et al., 1987).

Existen otros anticuerpos y antígenos que poseen, en alguna medida, cierta especificidad en el sentido de constituir antígenos asociados a tumor tales como el LAM 8 y el SWA 20 que identifican antígenos de membrana presentes en un 45% de los carcinomas de células pequeñas de pulmón (SCLC), el MEI evidente en adenocarcinomas, la Apoproteína Surfactante Pulmonar reconocida en los carcinomas bronquiolo-alveolares, el Antígeno de Carcinoma de Células Escamosas (SCC) presente en una proporción de carcinomas epidermoides dependiendo de su grado de diferenciación y detectable en sangre periférica o el Leu M 1 característico de ciertos histiocitos y células de Hodgkin que además se puede encontrar en adenocarcinomas pero no en mesoteliomas.

B – Citoplásmicos

En primer lugar citaremos los Filamentos Intermedios que son estructuras fibrilares constituyentes del citoesqueleto celular cuyo tamaño está comprendido entre las microfibrillas y los microtúbulos. Podemos diferenciar cinco tipos diferentes mediante el uso de anticuerpos monoclonales en técnicas inmunohistoquímicas.

Citoqueratinas: familia de 19 tipos diferentes de filamentos cuyo peso molecular está comprendido entre 40 y 68 kd. y constituidos por un dímero. Genéricamente Podemos clasificarlas en dos grandes grupos (Taylor, 1986):

a) Alto peso molecular: presentes en epitelios escamosos y mesotelio así como en sus tumores correspondientes.

b) Bajo peso molecular: presentes en epitelios simples y glandulares y por tanto en las neoplasias en ellos originadas.

En nuestra casuística, utilizando los anticuerpos LP 34 y CK5 que reconocen citoqueratinas de 48-67 kd. y el polipéptido 18 de la subfamilia acídica, hemos encontrado que todos los carcinomas broncopulmonares son positivos, si bien el patrón de reactividad es diferente según los casos. La LP 34 (Fig. 3) presenta un patrón y reactividad semejante al de las prequeratinas (precursores directos de las queratinas) aunque en muchas más células mientras que la CK5 se reconoce preferentemente en las porciones menos queratinizadas de los carcinomas epidermoides y de forma difusa en el resto de los tumores.

Vimentina: filamento intermedio de 56 kd. propio de células mesenquimales y sarcomas de diferentes tipos. No obstante en determinados carcinomas, como los renales y endometriales así como en los pulmonares, podemos observar su existencia generalmente en zonas de menor diferenciación histológica o en aquellas de mayor actividad proliferativa, hecho ya observado en cultivos de células epiteliales sometidas a determinadas condiciones. De todas formas, la expresión de citoqueratinas y de vimentina en una rrusina neoplasia de aspecto glandular decanta el diagnóstico hacia mesotelioma con un gran margen de seguridad.

Neurofilamentos: constituyen un riplete de 68,160 y 200 kd. y cuya presencia se restringe a células neurales y neuroectodérmicas. Así, aquellos tumores con rasgos neurales y neuroendocrinos van a contenerlos en mayor o menor medida como ocurre en la práctica totalidad de los SCLC y en algunos de los de células grandes de pulmón.

Los restantes tipos de filamentos intermedios, Desmina y Proteína Ácida Glial Fibrilar carecen, por el momento, de interés en patología pulmonar, ya que los encontramos en fibras musculares, los primeros, y en células gliales y quizás en mioepiteliales, los segundos, por lo que se pueden detectar en ciertos tumores de glándulas salivares y bronquiales.

Existen enzimas, péptidos y hormonas en el citoplasma celular cuya detección puede ser de importancia diagnóstica y en el seguimiento de la enfermedad neoplásica. Uno de los más importantes es la Enolasa Neuronal Específica. Esta es una enzima de la vía glicolítica constituida por un dímero con tres posibles subunidades. La Alfa está ampliamente distribuida por todo el organismo, la Beta se encuentra fundamentalmente en músculo estriado (esquelético y cardiaco) y la Gamma se detecta en células de estirpe neural y neuroendocrina, si bien puede localizarse también en otros tipos de tejidos y tumores. En pulmón se detecta en el epitelio cilíndrico respiratorio y en los neumocitos tipo II. Por ello, no es de extrañar que se encuentre en una proporción variable de carcinomas pulmonares (15-55%) y, muy especialmente, en los SCLC (70-100%).

Cuantitativamente, los niveles tisulares de Gamma-ENE en SCLC y en NSCLC es 35 y 4 veces superior que en el tejido normal. Además, los carcinomas de células grandes poseen una concentración del enzima 9 veces superior al del parénquima pulmonar, por lo que se encuentra en una posición intermedia entre ambos grupos.

Los niveles de G-ENE en sangre periférica pueden ser útiles para el seguimiento de los pacientes ya que en un 75% de los casos de SCLC se encuentran elevados.

Sin embargo, el dato que nos resulta de mayor utilidad es la relación G-ENE/G+A-ENE que se encuentra aumentada significativamente sólo en los SCLC (Fujita et al., 1987).

Otros enzimas, como la L-Dopa Decarboxilasa y la Histaminasa también sirven como marcadores neuroendocrinos y son, en cierto modo, similares a la G-ENE.

La Cromogranina A es una proteína estructural involucrada en el «empaquetamiento» de péptidos en los gránulos neurosecretorios. Se encuentra en células neuroendocrinas y en los tumores del sistema APUD (feocromocitomas, carcinoides, carcinoma medular de tiroides, etc.). Se detecta en un 25-40% de los SCLC y en un 5% de NSCLC. Su presencia está en relación con el número y maduración de los gránulos secretorios antes citados.

La Sinaptofisina es otro componente integral de la membrana de las vesículas sinápticas de neuronas y células cromafines de la médula adrenal. Su distribución y significado es semejante al de los neurofilamentos pues se encuentra en un 80% de SCLC y en un 8% de NSCLC.

El antígeno HNK-1 (CD57) es compartido por dos estirpes diferentes de células. En una subpoblación de células linfoides, fundamentalmente NK, se aprecia en la membrana plasmática, mientras que en otras de origen neuroectodérmico, se detecta como componente de la matriz de los gránulos de almacenamiento de catecolaminas. En un 80% de los SCLC y hasta en un 20% de los NSCLC (fundamentalmente en carcinomas de células grandes) se puede apreciar.

Otro antígeno semejante al anterior, NKH-1 (CD56) también característico de células NK, puede encontrarse en un 30% de SCLC. El antígeno Thy-1 y el CD3 también presentan ésta «reacción cruzada» pero en menor grado y, por tanto, sin apenas interés.

Otro grupo de antígenos y productos de secreción con importancia en el tema que nos ocupa es el de las hormonas secretadas por las células tumorales. Dichas hormonas pueden ser exportadas al torrente circulatorio en cantidades suficientes para provocar síndromes endocrinos o alteraciones clínicas importantes. Las más conocidas son la ACTH, Calcitonina, Parathormona, VIP, etc. presentes casi siempre en aquellos carcinomas con diferenciación neuroendocrina y por tanto en SCLC.

Debido a su importancia comentamos ahora un péptido identificado con la epidermis de los anfibios, denominado Bombesina, y que posee un importante efecto mitogénico al igual que su homólogo en mamíferos, el Péptido Liberador de Gastrina, el cual se ha detectado en fases embrionarias del desarrollo pulmonar.

En el carcinoma de pulmón actúa como un importante factor de crecimiento autocrino, ya que la célula secreta la molécula al medio extracelular y allí se une selectivamente y con una gran afinidad al receptor específico de membrana localizado en la misma célula. Este factor posee una gran importancia ya que su presencia es diagnóstica (se encuentra en un 75% de los SCLC), se puede detectar en plasma y derrames cavitarios y, muy especialmente, bloqueando la porción C-terminal funcional mediante anticuerpos monoclonales (como el 2A11) se inhibe su unión al receptor y su acción mitogénica.

Este fenómeno realizado en ratones «desnudos» a los que se les ha transplantado células de SCLC ha provocado la regresión total del tumor tras la administración del anticuerpo 2A11.

La Neurotensina es otro factor de crecimiento y marcador de SCLC pero mucho menos conocido que el anterior. Otros factores autocrinos de crecimiento tales como la Transferina o aquellos relacionados con oncogenes serán comentados en sus apartados correspondientes.

Para terminar este grupo de marcadores citoplásmicos de diferenciación nombraremos a continuación algunos de los más novedosos y que puedan tener algún interés en patología pulmonar neoplásica. La Desmoplaquina es una

proteína que forma parte de la unión desmosómica y por tanto se detecta en carcinomas, fundamentalmente epidermoides. El anticuerpo UJI3A puede ser útil en el diagnóstico de SCLC al igual que la PGP 9.5 o proteína de distribución en tejido neurales. El anticuerpo 53AF8 detecta un antígeno presente en un 82% de SCLC o en un 40% de NSCLC. Por el contrario, el anticuerpo 703D4 es positivo en un 11 % de los SCLC y un 92% de los NSCLC.

II. Antígenos asociados a proliferación

En este apartado comentamos aquellas moléculas que se expresan en la célula que se encuentra en fases activas del ciclo de división celular pero no en aquellas de reposo proliferativo.

El más importante quizá sea el denominado Antígeno Proliferante Kí67 que corresponde a una proteína localizada en el núcleo (Fig. 4) de aquellas células en fases de división G 1, S, M y G2 pero no en fase Go (reposo). Su cuantificación y cálculo del llamado Índice Proliferativo ($IP = \text{células Ki67 (+)} / \text{células totales}$) es un parámetro pronóstico de gran importancia en aquellos tumores donde se han investigado ampliamente como en el caso de los linfomas no Hodgkin.

Nosotros hemos comprobado que los tumores de mayor II? poseen, en general, una mayor agresividad biológica.

Otro antígeno de proliferación es el denominado 4F2, detectado por el anticuerpo monoclonal FG 118 y constituido por una molécula heterodimérica (de 80/38 Kd) que se expresa desde el inicio de la fase G 1 hasta el final de la mitosis.

Tampoco ha sido estudiado, al menos minuciosamente en pulmón, pero nosotros hemos observado que en carcinomas epidermoides de laringe posee un importante valor predictivo según el patrón de expresión. (Esteban, 1990).

El Receptor de Transferrina es otra molécula asociada a proliferación. Está constituido por 2 péptidos de idéntico peso molecular (95 Kd) unidos por un puente disulfuro. La Transferrina es un importante factor mitógeno «in vivo» e «in vitro» y, al igual que la Bombesina aunque muchos más potente que ella, actúa mediante un mecanismo de secreción autocrina.

Se observa en un 50% de las líneas de SCLC estudiadas.

III. Antígenos oncofetales

No es extraño tumores, global o parcialmente muestren rasgos morfológicos embrionarios. Este hecho también se pone de manifiesto fenotípicamente cuando se produce una expresión en las células neoplásicas de antígenos presentes fisiológicamente en los tejidos embrionarios y/o fetales en diversas etapas de su desarrollo.

Estos son denominados Antígenos Oncofetales entre los que se incluyen el Antígeno Carcinoembrionario (CEA), la Alfa Fetoproteína (AFP) y según ciertos autores, las hormonas placentarias como la B-Gonadotropina Coriónica (B-HCG), la Hormona Lactógeno Placentaria (HLP) o la Proteína Específica del Embarazo (SP-1).

El CEA es una glicoproteína de 180-200 Kd propio del endodermo fetal. Hoy se conocen diferentes subclases:

- Componente específico de grupo (CEA).
- Determinante críptico (CEA-S).
- Variante de membrana (CEA-M).

A su vez, existen similitudes con otras moléculas glicoproteicas como:

- Sustancia del grupo sanguíneo A.
- Sulfoglicoproteína fetal
- Antígeno normal fecal (1 y 2).
- Antígeno de reacción cruzada normal fecal.
- Antígeno de reacción cruzada no específicos (1 y 2)
- Glicoproteína biliar 1.

Sus niveles basales plasmáticos en pacientes fumadores o con enfermedades inflamatorias (colitis ulcerosa, artritis reumatoide, etc.) o hepatopatías crónicas (cirrosis) pueden estar elevados respecto al de la población normal.

Entre un 30 al 100% de los carcinomas pulmonares poseen este antígeno. En nuestra experiencia los adenocarcinomas son fuertemente positivos de forma difusa y con patrón membranoso y citoplásmico (Fig. 5). Los carcinomas de células grandes exhiben un patrón heterogéneo (30-70%). En los carcinomas epidermoides hemos apreciado que la expresión se relaciona directamente con el grado de queratinización (en contra de lo que otros autores han publicado). Los SCLC son negativos o débil y focalmente positivos. También creemos que la ausencia de CEA en aquellas neoplasias que por su tipo histológico debieran expresarlo, poseen un menor grado de diferenciación y mayor de malignidad histológica (mitosis, pleomorfismo, necrosis, etc.) que las CEA (+).

La determinación del CEA en sangre, a pesar de las críticas realizadas en favor de otros antígenos y anticuerpos, sigue siendo, aisladamente o en conjunción con otros marcadores, un excelente parámetro en el seguimiento de los pacientes con carcinoma de pulmón.

La Alfa-Fetoproteína es otro antígeno oncofetal presente en el intestino primitivo y órganos derivados de él durante el período fetal. Clásicamente se ha utilizado como marcador de hepatocarcinoma y de tumores germinales (tumor del seno endodérmico).

Según su afinidad cromotográfica a diferentes lectinas (Concavalina A, Lens culinaris aglutina A, Phaseolus Vulgari s) se distinguen tres tipos que permiten diferenciar aquella presente en el Hepatocarcinoma y Tumor del Seno Endodérmico de la encontrada en algunos tumores pulmonares, los cuales suelen ser adenocarcinomas o carcinomas de células grandes. Su importancia clínica en el campo de la oncología pulmonar es por el momento pequeña.

La B-HCG es una hormona utilizada como marcador tumoral en neoplasias germinales y trofoblásticas en donde poseen un papel importantísimo (coriocarcinoma versus enfermedad trofoblástica asociada a mola hidatidiforme).

En tumores malignos de estirpe epitelial (mama, estómago) se ha detectado hasta en un 50% de los casos generalmente coincidiendo con focos de diferenciación morfológica trofoblástica. No obstante, también se presenta en carcinomas sin estos rasgos de diferenciación y en cualquier fase de su desarrollo (in situ, microinvasor, invasor) y no restringida a porciones profundas como se dijo en principio.

En los carcinomas broncopulmonares se detecta entre un 20 y un 60% de los casos dependiendo de las series publicadas pero predominando en adenocarcinomas y carcinomas de células grandes, a veces conjuntamente con el CEA y la A-FP, pero no obligadamente en las mismas células.

Su significado es oscuro pero existe la tendencia a pensar que su presencia se asocia a una mayor agresividad tumoral, aunque no sabemos si por sí misma o por encontrarse generalmente en tumores que ya de por sí poseen un alto grado de malignidad.

Las otras hormonas, LPH y SPA, poseen unos patrones de expresión semejantes pero en menor número de células.

Los antígenos denominados «oncofetales específicos de pulmón» carecen de interés clínico en la actualidad.

ANTIGENOS DEL COMPLEJO MAYOR DE HISTOCOMPATIBILIDAD

El Complejo de Histocompatibilidad (MHC) es un conjunto de genes localizados en el brazo corto del cromosoma 6 que codifica un grupo de glicoproteínas de membrana denominadas Antígenos de Histocompatibilidad (HLA).

Actualmente se reconocen tres tipos de antígenos:

- Clase I: constituido por los antígenos HLA-A, -B y -C.
- Clase II: correspondiente a los HLA-DR, -DP y -DQ.
- Clase III: representan los componentes C2, C4 y Factor de la Properdina (Bf) del complemento.

Estos antígenos están implicados en los procesos de reconocimiento celular de forma que los linfocitos T citotóxico/ supresores (CD8) no reconocen antígenos específicos si éstos no se presentan asociados a los HLA de Clase I. Por otra parte, las células presentadoras de antígenos deben exponerlos en asociación con los HLA de Clase II para que puedan interactuar con los linfocitos T cooperadores (CD4).

Es lógico pensar que estos mecanismos de «restricción» del MHC pueden jugar un papel importante en la inmunovigilancia antitumoral ya que los «*antígenos asociados a tumor*» presentes en las células neoplásicas pueden despertar una respuesta inmunitaria cuando se asocian a ellos en la superficie celular (Callahan, 1985).

Así, los cambios o alteraciones en los antígenos HLA pueden modificar la conducta biológica tumoral, no tanto en los estadios de iniciación y promoción, como en los de progresión (Ruiz-Cabello et al., 1988).

Los datos referentes al carcinoma broncopulmonar en este sentido, son escasos y variables según las series revisadas.

Se acepta, en general, que los SCLC no expresan los antígenos de HLA (Clase I y II) (Fig. 6) mientras que los NSCL sí lo hacen en mayor o menor grado (Fig. 7).

Nosotros estamos estudiando actualmente la expresión de dichos antígenos en los carcinomas broncopulmonares con una amplia batería de anticuerpos monoclonales dirigidos contra ellos. No hemos encontrado expresión alguna en los SCLC, mientras que en los NSCLC la expresión es heterogénea, aunque existe una fuerte correlación entre la ausencia de las moléculas de Clase I, la agresividad tumoral y el grado de aneuploidía obtenida por Citofluorometría de Flujo.

Asimismo estamos comparando estos resultados con los obtenidos en los estudios de activación de oncogenes ya que parece existir una asociación inversa entre la presencia de antígenos de Clase I y la amplificación de oncogén Cmyc en determinados tumores (melanomas), así como la ausencia de moléculas de HLA-DR y la activación del oncogén K-ras.

ANTIGENOS ONCOGENICOS

Se denominan oncogenes a aquellos comprometidos en la transformación de células normales en cancerosas. Estos pueden ser de origen exógeno o viral (v-onc) o provenir de genes propios de las células normales o proto-oncogenes, que al activarse son denominados oncogenes endógenos o celulares (c-onc) (Burk et al., 1988).

Unos y otros codifican proteínas relacionadas con los fenómenos de proliferación, maduración y diferenciación celular.

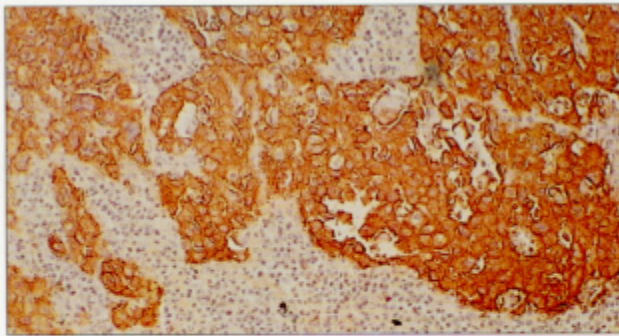


Figura 1: Patrón de expresión «membranoso» del Antígeno de Membrana Epitelial en un adenocarcinoma. PAP.

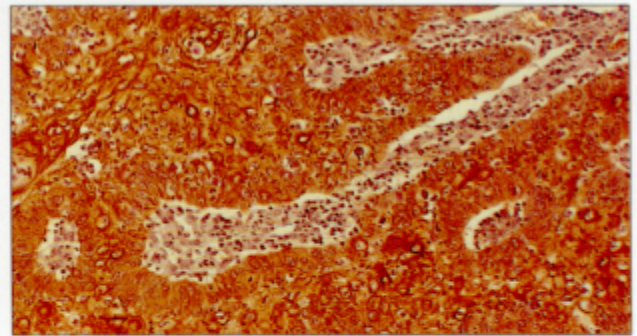


Figura 2: Carcinoma epidermoide bien diferenciado que exhibe positividad «difusa» para el Antígeno de Membrana Epitelial aunque más evidente en las porciones más queratinizadas. PAP.

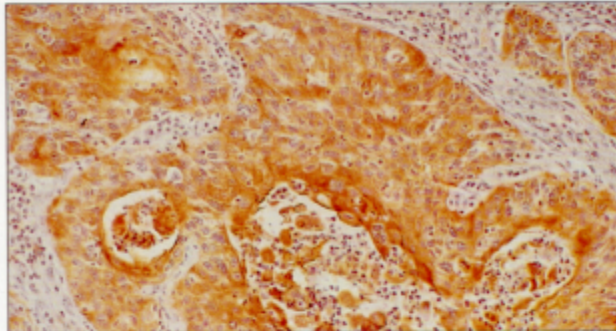


Figura 3: Presencia de Citoqueratinas (LP34) en muchas de las células de un carcinoma epidermoide dependiendo de su grado de maduración. PAP.

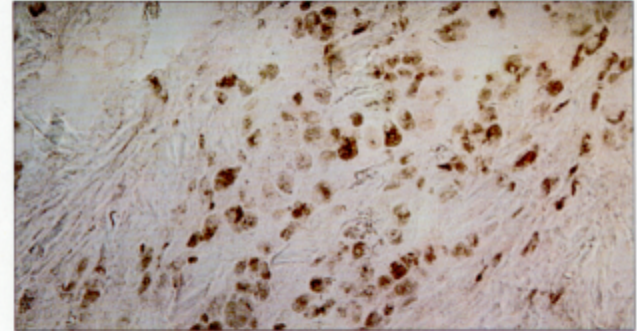


Figura 4: Antígeno de Proliferación Ki-67 presente en un gran número de núcleos de las células neoplásicas de un carcinoma de células grandes pero no en las estromales. PAP sin contrateñir.

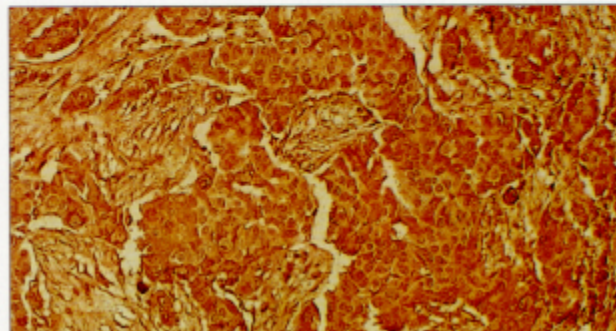


Figura 5: Antígeno Carcinoembrionario puesto de manifiesto en el citoplasma de las células de un adenocarcinoma pobremente diferenciado

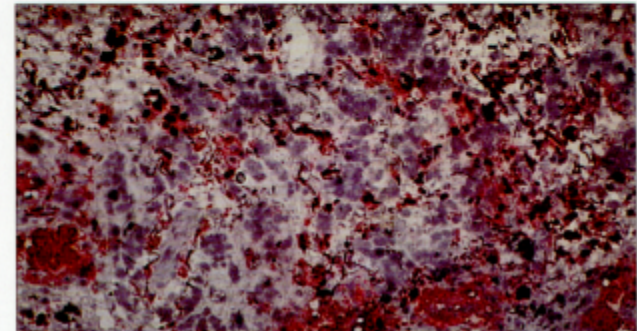


Figura 6: Carcinoma de células pequeñas que carece de antígenos de HLA-DR en contra de lo apreciado en algunas células inflamatorias. Existe abundante pigmento antracótico. FAAFA.

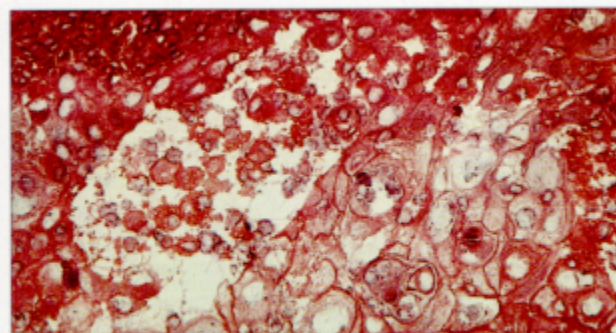


Figura 7: Moderada reactividad en las membranas plasmáticas celulares de un carcinoma epidermoide para moléculas HLA-ABC e intensa en los linfocitos peritumorales (esquina inferior derecha). FAAFA.

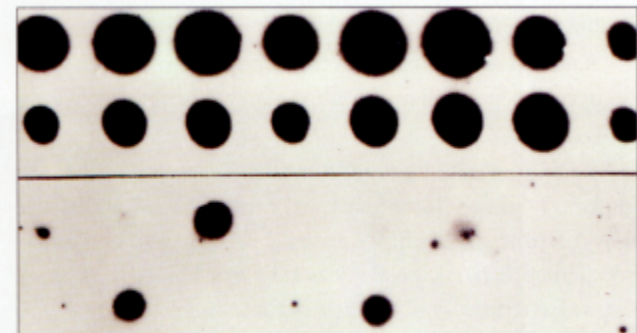


Figura 8: Demostración mediante la técnica del Dot Blot de la presencia de mutación puntual en el codon 12 del oncogen RAS en adenocarcinomas de pulmón. En la parte superior existe hibridación en todos los casos con la sonda de alelo normal pero en la inferior sólo algunos lo hacen con la sonda que detecta el cambio de las bases GGT por TGT. Esto implica la sustitución de Guanina por Cisteína.

Resumiendo, podemos agrupar los productos de tales oncogenes en cinco grupos según su actividad funcional:

- Factores de crecimiento: como el c-Sis que codifica el factor de crecimiento dependiente de plaquetas (DPGF).
- Relacionados con la Tirosin-Kinasa: como el receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFr) codificado por el oncogen c-Erb-B.
- Relacionados con la Treonin-Serin-Kinasa: Como el Raf.
- Relacionados con la Proteínas G: como los oncogenes de la familia Ras.
- Proteínas nucleares: como los de la familia Myc.

A su vez los protooncogenes pueden activarse de distintas formas:

- Inserción viral.
- Traslocación y deleciones.
- Reordenamiento genético.
- Amplificación génica.
- Mutación puntual.

Refiriéndose a los carcinomas broncopulmonares, los oncogenes que mayor importancia parecen tener en su génesis y desarrollo son los siguientes (Slebos et al., 1989; Minna, 1989).

MYC: Constituye una familia de oncogenes que codifican una proteína de 62 Kd (p62) con la propiedad de unirse al ADN y que parece estar involucrada en la regulación del ciclo celular. Dicha familia está formada por tres tipo:

c-myc: ampliamente estudiados en linfomas no Hodgkin.

n-myc: investigadas en principio de neuroblastomas.

l-myc: detectadas inicialmente en SCLC.

En líneas celulares establecidas en carcinomas de células pequeñas de pulmón (SCLC), se ha encontrado amplificación de *c-myc*: en más de un 60% de los casos, si bien no corresponden a la forma denominada «clásica» de SCLC, sino a la «variante» que presenta diferencias con respecto a la anterior consistente en una morfología distinta, mayor tasa de crecimiento, resistencia a la radiación y, aunque conserva determinados marcadores de diferenciación neuroendocrina, el nivel de la misma es menor.

Tanto en algunas de éstas líneas celulares como en otras del tipo «clásico» se han encontrado también amplificación de *n-myc* y *l-myc*.

Cuando se estudia tejido tumoral fresco procedente de biopsias o piezas quirúrgicas, los resultados obtenidos son muy inferiores (0-5% de los casos) con respecto a los correspondientes realizados con líneas celulares, si bien todavía no se pueden extraer conclusiones definitivas.

Esta divergencia de datos se explica en parte considerando que la amplificación de *c-myc* puede ser un evento tardío en la progresión y crecimiento tumoral y no en la fase inicial de la carcinogénesis. Además, dicha amplificación parece estar en relación con la transformación fenotípica de la población celular del tipo clásico del SCLC en la forma «variante», hecho que ocurre en un 20% de los tumores espontáneos humanos.

En los tumores NSCLC, tanto en líneas celulares como en el tejido fresco, se han detectado amplificaciones de *cmyc*, *n-myc* y *l-myc*, pero siempre con mucha menos frecuencia que en el caso de los SCLC.

No obstante, si bien la amplificación de *myc* puede ser un hecho tardío en la oncogénesis del carcinoma broncopulmonar, su presencia parece estar relacionada con la mayor agresividad tumoral en los casos donde se detecta.

RAS: Es una familia de oncogenes que codifica una proteína de 21 Kd (p21) localizada en la cara interna de la membrana celular y con actividad GTPasa juega un papel en la transducción de señales de los receptores de membrana por vía adenil-ciclasa.

Está constituido por tres genes: Kirsten Ras (K-ras), Harvey ras (H-ras) y N-ras (detectado en neuroblastomas).

Se activa tanto por amplificación como por delección y mutaciones puntuales, fundamentalmente en los codones 12 y 61, lo que conlleva una disminución drástica de la actividad GTPasa que a su vez provoca una situación de actividad constante aún en ausencia de estímulo externo.

En tejido y con técnicas de Restricción de Fragmentos Polimórficos de Longitud Variable (RFLP) se han encontrado mutaciones en el codón 12 de K-ras en NSCLC (fundamentalmente en adenocarcinomas) al igual que cuando se han utilizado hibridación de oligonucleótidos mediante Reacción de Polimerización en Cadena (PCR) (Fig. 8). Este hallazgo ocurre en un 14% de los tumores espontáneos estudiados.

Además parece existir una fuerte correlación entre la activación de K-ras y el tabaquismo. Ello es lógico ya que sustancias tales como el Benzopireno, de potente efecto carcinogénico, se encuentran en el tabaco y provocan mutaciones como experimentalmente ha sido demostrado en el caso del Metilbezantraceno (MVCC) o la N-Metil-Nitrosurea (NMNU).

Debido al pequeño tamaño de las lesiones primarias y al estudio clínico en el que se encuentran los tumores con activación de Ras, es lógico pensar que ésta se produzca en las fases iniciales de la transformación neoplásica.

EGFr.- Es el receptor del factor de crecimiento epidérmico codificado por el oncogén Erb-B que puede activarse por amplificación o por reordenamiento genético.

Posee actividad Tirosin-Kinasa. En los casos en los que la activación se produce por alteración estructural del receptor, éste carece de la región extracelular así como del dominio intracitoplásmico que se traduce en una señal continua de estímulo para la división celular.

Los trabajos realizados en la actualidad ofrecen resultados confusos y contradictorios. No obstante, parece ser que no juega un papel importante en el desarrollo de los SCI-C pero sí en los NSCLC.

Es en los carcinomas epidermoides donde se encuentra una sobreexpresión del receptor mientras que en los restantes tipos de NSCLC parece que son las alteraciones en la estructura y regulación del mismo las que juegan un papel importante.

En el aspecto clínico tampoco se ha podido asociar su activación dado lo heterogéneo del conjunto de resultados obtenidos hasta el momento.

ANTI ONCOGENES (ONCOGENES RECESIVOS)

Las alteraciones cromosómicas, numéricas o estructurales, son un hallazgo común en el carcinoma broncopulmonar frecuentemente asociadas a pérdidas de ADN.

El hecho más llamativo, incluso utilizado por algunos como marcador tumoral citogenético del cáncer broncopulmonar, es la delección del brazo corto del cromosoma 3: 3p (14-23) generalmente a nivel de la región 3p21.

En todos los SCLC y en la mayoría de los NSCLC, tanto primarios como metastásicos, se detecta esta alteración, lo que supone que ocurra en fases precoces.

No obstante, se ha encontrado en carcinomas renales (3p12-14y a veces 3p21) así como en algunas adenocarcinomas de ovario (3p21-25). Esta es una región frágil del genoma cuya labilidad parece estar incrementada por el consumo del tabaco.

Existen además alteraciones hereditarias que afectan también al 3p21.

Otros cromosomas que poseen cambios detectados en diferentes ocasiones son el 11, 13 y 17.

La existencia de pérdidas en el material cromosómico supone un «desenmascaramiento» de una mutación recesiva oculta en un cromosoma citogenéticamente normal. Así después de la delección del 3p (también del 17p) y al igual que ocurre con el gen del retinoblastoma (Rb) en el cromosoma 13, se produce la expresión del gen anómalo con lo que se desencadena la acción indeseable. Curiosamente se han descubierto recientemente anomalías estructurales y en la expresión de dicho gen RB (13q 14) en SCLC pero no en NSCLC.

Ello también puede ocurrir cuando se produce una delección homocigota de los genes normales con la consiguiente disminución del RNAm. Este mecanismo se ha demostrado en los casos de retinoblastoma y tumor de Wilms pero no en los SCLC extrapulmonares.

Es significativo apreciar que ésta región (3p 14-23) incluye los genes que codifican los receptores de la hormona tiroidea (Erb-A) y el del ácido retinoico (Hap-1), que codifican receptores implicados en la transmisión de señales de diferenciación y maduración celular y que podrían ser inactivados de ésta forma.

Un caso particular lo constituye el oncogén c-raf-1 (localizado en 3p25) frecuentemente involucrado en las delecciones terminales del cromosoma 3. Con RFLP se ha visto que se expresa de forma homocigota en todos los SCLC y en muchos de los NSCLC estudiados.

Además, la expresión de la c-raf 1 Kinasa en SCLC parece ser constitutiva. La delección 3p podría desenmascarar una forma mutada de c-raf-1 con actividad Kinasa.

Otro oncogenes con relativa importancia demostrada hasta el momento son:

- A nivel nuclear: el oncogén myb y el fos que codifican proteínas nucleares y cuya activación se comienza a estudiar.
- Relacionados con factores de crecimiento autocrino como el del Péptido Liberador de Gastrina (GRP) codificado probablemente por el L-myc, el del Factor de Crecimiento Tumoral Alfa JGF-A) presente en muchos adenocarcinomas y el del Factor de Crecimiento Insulinoide-1 (IGF-1) presente en todos los tipos de carcinomas broncopulmonares.

ANTIGENOS VIRALES

Al igual que en otros tipos de carcinomas epidermoides de piel y mucosas revestidas por epitelios escamosos, ha sido demostrada la presencia de secuencias de genomas vírales, correspondientes a diferentes tipos de papilomavirus humano (HPV), insertados en el ADN de las células neoplásicas de diversos carcinomas escamosos de vías respiratorias.

Recientemente, utilizando técnicas de hibridación «in situ», han sido detectadas, en un 16% de los casos (lesiones premalignas y carcinomas epidermoides, primarios de pulmón), secuencias de HPV (Béjui-Thivolet, 1990).

Nosotros, usando técnicas de Southern blot (previa amplificación génica mediante PCR), hemos demostrado la presencia de secuencias de HPV-16 en más del 50% de los carcinomas escamosos de laringe, así como de la mucosa metaplásica adyacente, y en 3 de las 11 metástasis autólogas ganglionares (Pérez-Ayala, 1990). Puesto que la tecnología utilizada en nuestro caso es más sensible que la hibridación «in situ», es posible que la presencia real de secuencias vírales en los carcinomas broncopulmonares sea superior a la señalada anteriormente.

GLICOPROTEINAS, GLICOLIPIDOS Y MOLECULAS ANORMALES

En este apartado se incluyen todas aquellas moléculas que no forman parte específicamente de ninguno de los grupos anteriores. Un ejemplo clásico es la presencia de glicoproteínas anómalas de los antígenos sanguíneos, especialmente del grupo MN y de sus precursores (el denominado antígeno T) en los que se producen defectos de la glicosilación.

Las Lectinas son unas moléculas con residuos azucarados específicos existentes en el reino vegetal y que presentan una fuerte afinidad de unión por determinadas células de mamíferos. Su capacidad aglutinante es ampliamente utilizada en Bioquímica e Inmunohistología.

Actualmente se está estudiando la expresión fenotípica y afinidad de diferentes tipos de células por las lectinas, especialmente endotelio y células de revestimiento sinusoidal, puesto que pueden ayudar a la mejor comprensión de los mecanismos de interacción celular de gran importancia en los procesos de metastatización.

Otro grupo de moléculas que cada vez van tomando una relevancia creciente en el estudio de la transformación celular oncogénica es el de los componentes de la matriz extracelular (fibronectina, colágeno, laminina, etc.), así como los receptores de membrana específicos y los enzimas (colagenasa, catepsina B y D, etc.) que juegan, sin duda alguna, un papel fundamental en la invasión y progresión tumoral. No olvidemos que algunos de estos receptores y moléculas están regulados por oncogenes como antes hemos apuntado y que algunas proteasas son factores mitógenos autocrinos.

Por último citaremos una categoría de glicoproteínas de membranas que ya poseen una importancia primordial a nivel clínico. Nos referimos a las proteínas asociadas a la resistencia a múltiples drogas. Así la p170 (glicoproteína de 170 Kd) que está codificada por el gen MDR- 1 localizado en el cromosoma 7, puede ser detectada y cuantificada mediante el uso de las técnicas inmunohistoquímicas e inmunológicas utilizando anticuerpos monoclonales como el C-219 o el P7 dirigidos, el primero, contra la región carboxiterna intracitoplásmica y, el segundo, contra la porción externa cercana al fragmento N-terminal.

CONCLUSIONES

Teniendo en cuenta lo anteriormente expuesto, debemos modificar el concepto de Marcadores Tumorales y relacionarlo con los cambios celulares y moleculares ocurridos en la oncogénesis. Por ello, es importante el conocer las posibilidades que nos brindan en la actualidad, y, muy especialmente, aquellas que se incorporarán en un futuro no muy lejano, no sólo en el campo de la investigación básica sino en el de la práctica clínica.

Es más que probable, que en los próximos años, presenciemos una verdadera revolución en el diagnóstico y tratamiento de las enfermedades oncológicas gracias a la incorporación de las nuevas tecnologías biomoleculares a los protocolos clínicos.

BIBLIOGRAFÍA. RECOMENDADA

- Béjui-Thivolet F., Liagre N., Chignol M.H., et al.: Detection of Human Papillomavirus DNA in Squamous Bronchial Metaplasia and Squamous Cell Carcinomas of the Lung by In Situ Hybridization using Biotinylated Probes in Paraffin -Embedded Specimens. *Human Pathology* 21: 111-116. 1990.
- Bucheri G.F., Ferrigno D., Sartoris A.M. et al.: Tumor Markers in Bronchogenic Carcinoma. Superiority of Tissue Polypeptide Antigen to Carcnoembryonic Antigen and Carbohidrate Antigenic Determinant 19-9. *Cancer* 60: 42-50. 1987.
- Burck K.B., Liu E.T., Larrick J.W.: Oncogenes and Human Cancers. in: *Oncogenes. An Introduction to the Concept of Cancer Genes*. Cap. 6 Springer-Verlang. 1988.
- Callahan G.N.: Products of the Major Histocompatibility Complex on Turnor Cells en: *Monoclonal Antibodies in Cancer*. Callahn GX: Eds. Sells S. & Reisfeld R. Humana Clifton. 1985.
- Daar A.S., Lennox E.S.: Tumour Markers and Antigens. en: *Tumour Markers in Clinical Practice. Concepts and Applications*. Cap. 1 Daar A.S. Blackwell Scientific Publications. 1987.
- Esteban F., Ruiz-Cabello F., ConchaA., Pérez-AyalaNI., et al.: Relationship of 4F2 Antigen with Local Growth and Metastatic Potential of Squamous Cell Carcinoma of the Larynx. *Cancer* 66 (en prensa). 1990.
- Fujita K., Haimoto H., Imaizumi M. et al.: Evaluation of Gamma Enolase as a Tumor Marker for Lung Cancer. *Cancer*. 60: 362-369. 1987.
- Gatter K.C., Dunnill M.S., Pulford, K.A., et al.: Human Lung Tumours: a correlation of antigenic profile with histological type. *Histopathology* 9: 805-823. 1985.
- Minna J.D.: Genetics Events in the Pathogenesis of Lung Cancer 5th World Conference on Lung Cancer. *Chest* 96 (Supplement Jul) 19-23. 1989.
- Moore M.: Cancer and Immunolgy. in: *Current Opinion in Immunology*. Roitt I.M. pp. 861-925. Vol 1 ⁽⁵⁾ June 1989.
- Mulshine L, MinnaJ.D., ChuttettaF. et al.: Antigens Related to Lun Cancer en: *Tumor Markers and Tumor-Associated Antigens*. Cap. 8. Gosh B.C. & Ghosh L. McGraw-Hill Book Company. 1987.
- Pérez-Ayala M., Ruiz-Cabello F., Esteban F., Concha A., et al.: Presence of HPV- 16 sequences in laryngeal carcinomas. *Int. J. Cancer* 46 (en prensa). 1990.
- Ruiz Cabello R, López-Nevot M.A., Garrido F.: MHC Class I and II Gene Expresion on Human Tumors in: *Cancer Metastasis Prodi G*. Plenum Publishing Corporation. 1988.
- Slebos R.J.C., Rodenhuis S.: The Molecular Genetics of Human Lung Cancer. *Eur. Respir.* 1.2: 461-469. 1989.
- Taylor C.R.: Lung, Pancreas, Colon and Rectum, Stomach, Liver. *Immunomicroscopy: A Diagnostic Tool for the Surgical Pathologist*. Cap. 11. Major Problems in Pathology. Vol. 19. W.B. Saunders Company. 1986.