

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA

DETERMINACIÓN POR QUIMIOLUMINISENCIA DE LOS RECEPTORES DE
INTERLEUCINA 2 (IL2-r) EN PACIENTES CON NEOPLASIA INTRAEPITELIAL
CERVICAL Y CARCINOMA *in situ* DE CÉRVIX

INFORME DE TESIS PRES

ENTADO POR
GRISELDA CAROLINA ASTORGA DOMÍNGUEZ

PARA OPTAR AL TÍTULO DE
QUÍMICA BIÓLOGA

Guatemala, septiembre de 2005

Miembros de Junta Directiva

| | |
|---|-------------------|
| M.Sc. Gerardo Leonel Arroyo Catalán | Decano |
| Licda. Jannette Sandoval Madrid de Cardona | Secretaria |
| Licda. Gloria Elizabeth Navas Escobedo | Vocal I |
| Licda. Liliana Vides de Urizar | Vocal II |
| Licda. Beatriz Eugenia Batres de Jimenez | Vocal II |
| Br. Juan Francisco Carrascoza Mayen | Vocal IV |
| Br. Susana Elizabeth Aguilar Castro | Vocal V |

DEDICATORIA

Dedico esta tesis a la memoria de mi abuelita Carmen Palacios, quien sufrió la terrible enfermedad de cáncer de cérvix, y fue la que me motivó a realizar este trabajo en búsqueda de ayudas diagnósticas que permitan una detección temprana de esta enfermedad.

AGRADECIMIENTOS

A Jesús: por ser mi salvador, por guiarme en todas las etapas de mi vida y por enseñarme la forma correcta en que debo vivir. Gracias por haberme escogido.

A mis padres: Armando Astorga y Griselda de Astorga, por su amor, esfuerzo y apoyo incondicional, gracias por apoyarme en mis decisiones y por estar siempre a mi lado.

A mis hermanas: Lucía y Laura, por ser mis compañeras y amigas.

A mi novio Juan Pablo: por su amor incondicional. Gracias por creer siempre en mí, y por ser la persona que alegra mi vida.

A mi familia en especial a: mis abuelos Jorge Astorga, Amparo García, Graciela Palacios, Eliú Velásquez y Carmen Palacios, por ser ejemplo de unidad y amor. A mi tía Norma Astorga por ser mi amiga y confidente.

A mis compañeros y amigos en especial a: Marta María, María Eugenia, Nadia, Laura, Claudia, Carla, Fernando, Alejandro, Victor, Mary, Lesbia, Alejandra, Lilian, Sheilee, Antonio, Cesar, Julia, Rebeca, Sandrita, Cesiah, Miriam, Marla y Cristian, por demostrarme lo que significa la amistad, los llevo en mi corazón.

A mis maestros: Alba Marina Valdez, Margarita Paz, Armando Cáceres, Jorge Hernández, Rosa María Zanuncini, Marisabel Urréjola, Rubén Velásquez, Martín Gil, Tamara Velásquez, Amanda Gálvez, Karla Lange, María del Carmen Bran, Blanca Samayoa, Irma Juarez y Victor Rodríguez. Por ser un ejemplo de virtud y perseverancia, gracias por todas sus enseñanzas.

A mis asesores y revisores: Vivian Matta, Erwin Curán, Roylan Gómez, Rosario Hernández y Alba Marina Valdez, por su paciencia e instrucción.

Al personal del Hospital Nacional de Salamá, por su compañía, apoyo y amistad, gracias por ser como una familia para mí.

A los médicos que ayudaron en el estudio, en especial a Miriam Castillo, Miguel Angel Echeverría, Luis Batres y Walter Guerra. Gracias por su colaboración ya que sin su apoyo habría sido muy difícil la realización de este estudio.

A las instituciones: Universidad de San Carlos de Guatemala, Instituto de cancerología Dr. Bernardo del Valle (INCAN), Hospital de Ginecoobstetricia del Instituto Guatemalteco de Seguridad Social, Centro de Referencia de Inmuno Análisis (CERIA), y Diagnostic Products Corporation (DPC), por su aporte a la realización de esta investigación.

INDICE

| | |
|---|----|
| I. RESUMEN | 1 |
| II. INTRODUCCIÓN | 3 |
| III. ANTECEDENTES | 5 |
| A. Principios básicos de inmunología tumoral | 5 |
| 1. Papel del sistema inmune en la resistencia al cáncer | 8 |
| 2. Papel de las células T en resistencia al huésped | 13 |
| 3. Papel de los macrófagos en la resistencia del huésped | 16 |
| 4. Papel de las células citolíticas naturales en la resistencia del huésped | 17 |
| 5. Papel de los anticuerpos en la resistencia del huésped | 20 |
| B. Citoquinas | 21 |
| 1. Interleucina 2 | 22 |
| 2. Receptores de interleucina 2 | 23 |
| C. Cáncer cervical | 24 |
| D. Neoplasia Intraepitelial de cérvix | 25 |
| 1. Virus de Papiloma Humano | 25 |
| 2. Patología de la enfermedad | 26 |
| 3. Manifestaciones clínicas | 27 |
| 4. Diagnóstico | 28 |
| E. Receptores de interleucina 2 en cáncer | 31 |
| IV. JUSTIFICACIÓN | 41 |
| V. OBJETIVOS | 42 |
| A. Objetivo general | 42 |

| | |
|---------------------------------|----|
| | 6 |
| B. Objetivos específicos | 42 |
| VI. HIPÓTESIS | 43 |
| VII. MATERIAL Y MÉTODOS | 44 |
| A. Univeso | 44 |
| B- Muestra | 44 |
| C. Recursos | 45 |
| D. Materiales | 45 |
| E. Metodología | 46 |
| F. Diseño de investigación | 49 |
| VIII. RESULTADOS | 50 |
| IX. DISCUSIÓN DE RESULTADOS | 58 |
| X. CONCLUSIONES | 63 |
| XI. RECOMENDACIONES | 64 |
| XII. REFERENCIAS BIBLIOGRÀFICAS | 65 |
| XIII. ANEXOS | 69 |

I. RESUMEN

En los últimos años se ha demostrado el papel que juegan las citoquinas en el diagnóstico y tratamiento de diversas enfermedades. Una de las enfermedades de mayor importancia para la salud guatemalteca es el cáncer cervical ya que afecta a un gran porcentaje de mujeres en este país. Investigaciones anteriores han estudiado la relación entre los receptores de interleucina 2 soluble (sIL2-r) y diversos tipos de cáncer, entre ellos el cáncer cervical, demostrando un aumento en el valor de dicho marcador. El objetivo principal de esta investigación fue establecer el valor diagnóstico de la determinación de sIL2-r como marcador en pacientes con carcinoma in situ de cérvix y neoplasia intraepitelial cervical (NIC), como una herramienta de diagnóstico en dicha enfermedad. Se determinó los niveles séricos de sIL2-r de 161 pacientes que asistieron al Instituto de Cancerología Doctor Bernardo del Valle (INCAN), al Instituto Guatemalteco de Seguridad Social (IGSS) y a clínicas particulares, quienes fueron divididas en cuatro grupos: 39 pacientes con NIC I, 36 con NIC II, 44 con NIC III y como grupo control se incluyó 42 pacientes con resultado de Papanicolau normal. Asimismo se realizó una entrevista para conocer datos generales de las pacientes y cada una firmó una hoja de consentimiento informado, manifestando estar de acuerdo con su participación en este estudio.

Se utilizó un análisis de varianzas y test de student para la evaluación los resultados y así establecer la relación existente entre valores de sIL2-r y el grado de neoplasia que presentaban las pacientes.

Utilizando el sistema INMULITE para el análisis de las muestras, se observó que los resultados obtenidos de sIL2-r fueron similares en los cuatro grupos, encontrándose los promedios dentro de los valores de referencia. Sin embargo, un porcentaje del 15.5% resultó con valores por encima del rango de referencia siendo en su mayoría pacientes pertenecientes al grupo de NIC III.

Los resultados obtenidos en este estudio no demostraron asociación significativa entre la concentración de sIL2-r y la presencia de lesiones cancerosas (NIC I, NIC II y NIC III); demostrando que la determinación de sIL2-r no puede ser utilizada como una herramienta de detección de carcinoma cervical en las pacientes de este estudio. Además se observó que existen ciertos factores de riesgo que pueden influir en la obtención de carcinoma cervical.

II. INTRODUCCIÓN

El cáncer cervical es el segundo cáncer más común, en mujeres, con una incidencia global de al menos 471,000 casos por año, siendo el primero en Guatemala (1,2).

El primer agente etiológico identificado es el virus de Papiloma humano (HPV). Los HPV tipo 6, 18, 31, 33 y 35 causan neoplasia intraepitelial I (NIC I) la cual puede progresar hasta NIC III y causar carcinoma in situ de cérvix. Sin embargo el HPV no es una causa suficiente para el desarrollo de NIC III o cáncer, ya que el NIC I es relativamente común. La infección es usualmente transitoria, pero la persistencia de la infección, se cree está asociada a una progresión a NIC III, el cual es el precursor inmediato del cáncer (3).

También puede haber persistencia de HPV por la función del sistema inmunitario del hospedero, especialmente la ausencia de una respuesta linfoproliferativa positiva a la infección (4).

La tinción de Papanicolaou es el método de elección para la detección de NIC, dado que éste puede presentar cambios inespecíficos, se ha visto la necesidad de buscar métodos alternativos, que puedan ayudar a establecer el grado de riesgo en el que se encuentra la paciente. Estudios realizados han demostrado la importancia del sistema inmunitario, sobre todo de la interleucina 2 (IL2) y de su receptor celular (IL2-r), el cual puede expresar una forma soluble que puede ser medida en el suero (5-8).

El receptor de interleucina 2 soluble (sIL2-r) es un marcador no específico expresado por varios tipos de células incluyendo la Th1 activada como la Th2 activada. La medición de Th1 y Th2 es difícil y complicada, no así la medición de (sIL2-r) ya que puede ser medida con relativa facilidad dado que una parte de su clivaje proteolítico es encontrado en el suero (4).

En otros países se han efectuado varios estudios con el fin de medir los niveles de sIL2-r en pacientes con cáncer y se ha observado que éstos se encuentran elevados. En Guatemala, no se han realizado estudios de este tipo, por lo que es importante establecer la utilidad de nuevas pruebas, que en conjunto con las que ya están establecidas, permitan al personal médico respaldar su diagnóstico presuntivo basado en la historia clínica y al mismo tiempo tomar decisiones terapéuticas de una manera más rápida (8-12).

Además se ha demostrado que este marcador es efectivo para la evaluación del pronóstico del paciente lo cual sería de gran utilidad para el seguimiento de cada caso, y así poder tomar decisiones más acertadas para cada paciente (13-18).

III. ANTECEDENTES

A. Principios básicos de inmunología tumoral

El campo de la inmunología tumoral comprende la amplia variedad de interacciones entre el sistema inmune y los tumores, otorgando especial importancia al papel que desempeña el sistema inmune en la resistencia al desarrollo o al crecimiento progresivo del cáncer y a la forma en que puede ser manipulado para aumentar esta resistencia. La inmunología tumoral tiene también importantes aplicaciones en el inmunodiagnóstico del cáncer y en el conocimiento de las alteraciones de la inmunidad que aparecen en los pacientes con tumores malignos. Los principios básicos fundamentales de la inmunología tumoral han surgido de los numerosos estudios realizados, sobre todo, en los últimos 30 años (19,20).

Son muchas las células tumorales que expresan estructuras moleculares que difieren de las habituales en las células normales del mismo individuo y que pueden ser reconocidas por uno o más componentes del sistema inmune. Parece que la mayor parte de la discriminación inmunológica existente entre las células tumorales y las normales se debe al reconocimiento por el huésped de antígenos tumorales pero, además se ha observado que las células tumorales tienen otras diferencias no antigénicas que pueden ser reconocidas por el sistema inmune natural (19,20).

La mayoría de las células tumorales tienen configuraciones moleculares que pueden ser reconocidas específicamente por las células inmunes T o por los anticuerpos, de ahí que reciban el nombre de antígenos tumorales. Los antígenos tumorales más importantes en cuanto al inmunodiagnóstico o a la resistencia del huésped han sido llamados antígenos asociados al tumor (AAT). Se expresan en forma selectiva en las células tumorales y no se detectan en las células normales de la misma persona. Durante muchos años los

inmunólogos buscaron antígenos tumorales que pudieran encontrarse únicamente en las células cancerígenas y que fueran diferentes cualitativamente de los antígenos de las células normales, es decir, los llamados antígenos específicos del tumor. Sin embargo, mediante estudios de una amplia gama de tejidos normales y la aplicación de inmunoanálisis de alta sensibilidad, se ha demostrado que la mayor parte de los antígenos de las células tumorales que inicialmente fueron tomados por específicos del tumor pueden ser expresados, en algunas circunstancias y al menos en pequeñas cantidades por las células normales. Así pues, parece que el término operativo "AAT" podría ser más válido. Un importante subgrupo de AAT es el constituido por los antígenos de transplante asociados al tumor (ATAT), que pueden inducir una resistencia inmunológicamente específica frente al crecimiento tumoral en el huésped autólogo. Las reacciones inmunológicas que permiten que un huésped reconozca un ATAT y que eliminan las células tumorales gracias a este mecanismo parecen estrechamente emparentadas con las que intervienen en el rechazo de los aloinjertos de tejido que presentan escasas diferencias antigénicas de histocompatibilidad en relación con el huésped. Las células tumorales contienen también muchos antígenos celulares normales característicos del tejido u órganos de origen del que derivan o del estadio de diferenciación en que se encuentran (19,20).

Existe controversia sobre si todos o la mayoría de los tumores expresan ATAT. Aunque la mayoría de las neoplasias provocadas en animales de experimentación con virus oncogénicos o con carcinógenos químicos tienen ATAT, algunos estudios de tumores espontáneos en ratones o ratas viejos revelan que la mayor parte de estos tumores espontáneos no tienen ATAT detectables. Por tanto, se ha defendido que la mayoría de los tumores humanos, que no tienen una etiología conocida y que por consecuencia podrían ser considerados como espontáneos, tampoco tienen ATAT. Sin embargo, estos argumentos

tienen limitaciones considerables. Aunque las pruebas sobre la proporción de tumores humanos que expresan ATAT son insuficientes, sí existe un considerable número de comprobaciones circunstanciales que sugieren la presencia de estos antígenos en muchos tumores humanos (19).

Para que un AAT funcione como ATAT, ha de ser reconocido por el sistema inmune del huésped y ha de despertar una reactividad inmunológica que se traduzca en la destrucción, o al menos en una inhibición del crecimiento del tumor. En los últimos años se ha progresado rápidamente en el conocimiento de la forma en que los AAT y otros antígenos son reconocidos y despiertan una reactividad inmunológica específica. Se ha demostrado que pequeñas porciones peptídicas de los antígenos se asocian físicamente a las moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad (CMH) de clase II o I y que estas estructuras combinadas establecen interacciones con las células T colaboradoras o citotóxicas respectivamente (20-21).

Además de los AAT que provocan la respuesta de la inmunidad celular en el huésped, existen otras clases de AAT, algunas de las cuales tienen una considerable importancia práctica. Cualquier AAT capaz de ser reconocido por los anticuerpos presentes en el suero de un huésped que sufra un tumor o en el suero de animales inmunizados frente al antígeno puede ser, en teoría, utilizado para discriminar entre las células tumorales y las normales, lo que les confiere valor para el inmunodiagnóstico. Los AAT frecuentes en diversos tumores, al menos en los del mismo tipo orgánico o histológico, son los que pueden tener mayor utilidad en el diagnóstico. Los estudios en sistemas de modelos animales han demostrado que los tumores provocados por carcinógenos químicos y algunos tumores espontáneos tienen ATAT individualmente distintos que no existen en otros tumores inducidos por el mismo agente, ni siquiera cuando

se producen en el mismo huésped. No parece que estos antígenos puedan ser útiles para el diagnóstico ya que los anticuerpos frente a ellos no deber reaccionar con los de ningún otro tumor. Se han identificado AAT comunes a muchos tumores e incluso los que no son reconocidos por la respuesta inmune de la persona portadora del tumor pueden ser fácilmente detectados por los anticuerpos producidos por una especie distinta (19-20).

Los AAT son los blancos que los componentes del sistema inmune clásico pueden reconocer, es decir las células T, los anticuerpos, o ambos. Además, varios componentes del sistema inmune natural (por ejemplo, las células citolíticas naturales o los macrófagos) pueden reconocer y reaccionar en forma selectiva ante las células tumorales. Aunque las bases de este reconocimiento no son bien conocidas, se cree que pueden estar en relación con la expresión por las células tumorales de diversas moléculas en la superficie celular en cantidades mayores o de una forma distinta a la habitual en las células normales. Estas diferencias relacionadas con el tumor no parecen limitarse a las células tumorales, ya que las células normales infectadas por virus u otras células también pueden ser reconocidas por las células efectoras naturales (19).

1. Papel que desempeña el sistema inmune en la resistencia al cáncer:

Muchos investigadores han propuesto que el sistema inmune tiene una misión general en la prevención o limitación del crecimiento tumoral. El concepto central, conocido como hipótesis de la vigilancia inmunológica, defiende que el sistema inmune es el factor clave en la resistencia frente al desarrollo de tumores detectables. La primera sugerencia conocida en este sentido procede de Paul Ehrlich en 1909; la formulación actual de la hipótesis se debe a MacFarlane Burnet y a Lewis Thomas. Cuando se conoció la información sobre la inmunidad dependiente del timo y sobre todo, cuando se observó que

las células T desempeñaban un papel central en el rechazo a los injertos, Burnet modificó la hipótesis de la vigilancia inmunológica para subrayar su papel esencial como mecanismo efector de la resistencia antitumoral (19-20).

La hipótesis de la vigilancia inmunológica ha dado lugar, desde entonces, a muchos estudios experimentales y a una gran cantidad de argumentaciones y controversias. Uno de los motivos de la controversia es que el concepto conduce a una serie de predicciones; la mayoría de las pruebas existentes están relacionadas con la comprobación de una o más de las siguientes predicciones:

- a. Las células tumorales tienen antígenos de tipo transplante.
- b. La resistencia frente a los tumores depende de las células T y es análoga a la de la reacción frente al homoinjerto.
- c. Existe una estrecha relación evolutiva entre malignidad y desarrollo de un sistema inmune con capacidad para rechazar a los tumores.
- d. La depresión inmune se asocia con el desarrollo de tumores detectables y debe preceder a este.
- e. Un requisito para que los carcinógenos, los promotores de tumores o ambos pudieran actuar podría ser la inmunosupresión (19).

Los apoyos más importantes de la hipótesis de la vigilancia inmunológica provienen de pruebas relacionadas con la predicción con inciso d, ya que se ha comprobado que la inmunodepresión natural o provocada se asocia con una mayor incidencia de algunos tipos de tumores. En los sistemas de modelo animales, esto se ha demostrado sobre todo en los tumores provocados por virus oncogénicos. La timectomía neonatal y otras formas de supresión de la inmunidad provocan una mayor susceptibilidad a los tumores producidos por el virus del polioma en ratones y en pollos con enfermedad de Marek (19).

Existen abundantes pruebas clínicas de que las enfermedades por deficiencia inmune se asocian con una incidencia mucho mayor de linfomas y leucemias. Los receptores de aloinjertos tratados con agentes inmunosupresores tales como la prednisona o la azatioprina o, más recientemente, la ciclosporina A u otros fármacos inmunosupresores, también muestran una mayor incidencia (alrededor de 100 veces mayor) de enfermedades linfoproliferativas o de otras neoplasias. Se ha encontrado que los pacientes con cáncer, artritis y otras enfermedades que se tratan con agentes quimioterapéuticos (en especial alquilantes) desarrollan, con una frecuencia relativamente alta, neoplasias malignas primarias, en especial leucemias y linfomas. La reciente observación de una incidencia notablemente elevada de sarcoma de Kaposi o de linfoma de células B en adultos jóvenes con síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) es una nueva indicación de la asociación entre neoplasias malignas e inmunodepresión (19-20).

Aunque estos datos respaldan la existencia de una vigilancia inmunológica, la hipótesis original presenta graves problemas o limitaciones:

- a. La mayoría de los tumores humanos asociados a inmunodepresión son leucemias y enfermedades linfoproliferativas, y no constituyen una representación completa de los tipos de neoplasias malignas más frecuentes. La enfermedad linfoproliferativa que aparece en los pacientes inmunodeprimidos después de un trasplante está íntimamente relacionada con la infección por el virus de Epstein-Bar, procedente, al menos en algunos casos, de los órganos del donante.
- b. No se ha encontrado una asociación constante entre inmunodepresión y tumores.

- c. Los ratones timectomizados al nacimiento tienen menor incidencia de tumores mamarios y la incidencia de tumores espontáneos y provocados por carcinógenos en los ratones atímicos y eutímicos es similar.
- d. La mayoría de los tumores espontáneos de los animales de experimentación no tienen antígenos de transplante asociados a tumores detectables.
- e. Parece existir una disociación evolutiva entre el desarrollo de tumores y la aparición de un sistema inmune complejo y de células T (19-20).

Todos estos hechos han llevado a sugerir que la vigilancia inmunológica podría ser operativa solo frente a los tumores provocados por virus oncogénicos, que tienen fuertes antígenos de transplante y en los que se ha demostrado la importancia de células T inmunes en la resistencia frente a estos. Las excepciones principales al papel central de las células T inmunes en la resistencia frente al crecimiento tumoral han llevado a Richmond Pret a formular la contrateoría de la inmunoestimulación, sugiriendo que el sistema inmune puede tener efectos fundamentalmente estimuladores sobre la inducción y crecimiento de los tumores (20).

Una explicación más probable de muchos de los resultados discordantes observados es la participación de diversos mecanismos efectores en la resistencia del huésped. En los últimos años se ha hecho evidente que la inmunidad natural, así como las respuestas inmunes inducidas de manera específica, pueden contribuir a las defensas del huésped. Cuando se contempla la inmunidad mediada por las células T como solo uno de una serie de posibles mecanismos de defensa del huésped, desaparece la necesidad de considerar en forma negativa las pruebas antes resumidas. En el reconocimiento por otros tipos de células efectoras podrían intervenir estructuras celulares distintas de los antígenos de transplante asociados al tumor y en las personas con deficiencias de células T, la inmunidad

natural podría seguir siendo funcional y capaz de resistir al crecimiento tumoral. Estos aspectos constituyen la base de la actualización de la hipótesis de la vigilancia inmunológica: las células transformadas expresan antígenos de superficie y otras estructuras que pueden ser reconocidas por uno o varios componentes del sistema inmune, mientras que uno o varios componentes de los mecanismos efectores inmunológicos naturales o inducidos pueden eliminar las células transformadas o impedir su progresión y propagación (19).

Esta ampliación de la hipótesis da lugar a una serie de predicciones algo distintas:

- a. Las células tumorales tienen estructuras de superficie reconocibles por uno o varios efectores.
- b. Las células tumorales pueden ser lisadas o su crecimiento puede ser inhibido por uno o varios mecanismos efectores.
- c. Una o varias de las células efectoras pertinentes deberían ser capaces de penetrar en el lugar donde crece el tumor.
- d. La potenciación de los mecanismos efectores pertinentes reducirá la incidencia de tumores y de metástasis.
- e. La depresión de los mecanismos efectores pertinentes, bien por un carcinógeno o por un tratamiento inmunosupresor, aumentará la incidencia de tumores y de metástasis.
- f. El restablecimiento de la actividad efectora disminuida reducirá la incidencia de tumores y metástasis (19).

Además del papel postulado para el sistema inmune en la vigilancia frente al desarrollo de los tumores, hay abundantes pruebas de la intervención tanto de las respuestas inmunes clásicas como de las naturales en la resistencia del huésped frente al

avance y a la diseminación metastásica de los tumores, una vez que han aparecido. De hecho, las pruebas sobre el importante papel que desempeñan algunos componentes del sistema inmune, por ejemplo, las células citolíticas naturales, son mucho más concluyentes en relación con los efectos antimetastásicos que en relación con la vigilancia inmunológica (19-21).

2. Papel de células T en la resistencia del huésped:

Hay pruebas contundentes de que las respuestas inmunodependiente del timo son importantes en la resistencia a los tumores provocados por virus oncogénicos. Sin embargo, la ausencia de timo no se asocia con un aumento de la susceptibilidad a otros tipos de tumores, lo que sugiere que el papel desempeñado por la inmunidad celular T en la vigilancia inmunológica es limitado. Además, la imposibilidad de detectar antígenos de transplante asociados a tumores en la mayor parte de las neoplasias espontáneas de los roedores es un dato en contra de que la participación de las respuestas inmunes específicas sea significativa. Sin embargo, hallazgos recientes indican la importancia de la distinción entre inmunogenicidad y antigenicidad. La inmunogenicidad se refiere a la capacidad de un AAT para inducir una respuesta inmune y parece depender del grado de expresión del antígeno en las células tumorales así como de la expresión de los antígenos del complejo mayor de histocompatibilidad (CMH) y de la capacidad de respuesta inmunológica. Se ha observado que los tumores provocados por la luz ultravioleta en los ratones expresan fuertes ATAT pero, en general, no son inmunogénicos en los animales radiados con UV debido a una forma específica de supresión inmune. Algunos otros tumores murinos parecen no inmunogénicos debido a la falta de expresión de los antígenos del CMH. El tratamiento de las células tumorales con un mutágeno químico o con radiación ultravioleta puede inducir la inmunogenicidad y la expresión de los antígenos del CMH (19-21).

La reactividad de los linfocitos citotóxicos T (LCT) específicamente inmunes frente a los AAT o a otros antígenos de la superficie celular suele estar limitada por el CMH, de manera que solo se detecta citotoxicidad frente a células dianas que comparten determinantes del CMH de clase I con los LCT. En los últimos años se ha avanzado de manera considerable en el conocimiento de las bases de la íntima asociación entre inmunogenicidad y expresión del CMH. Algunos AAT u otros antígenos exógenos han de ser presentados a las células T por los macrófagos o por otras células presentadoras de antígenos de forma que estén físicamente asociados a las moléculas de clase II del CMH. Antes de la presentación, las moléculas antigénicas son introducidas en la célula y degradadas a péptidos cortos; a continuación, los complejos físicos formados por estos péptidos y las moléculas de clase II son transportados a la superficie de la célula. Los receptores de las células T situados en las células T colaboradoras ($CD4^+$) pueden unirse y reconocer específicamente a estos complejos CMH-péptidos. Los AAT también pueden ser degradados a péptidos cortos, de 8 a 10 aminoácidos de longitud, por los proteosomas del interior de las propias células tumorales, formando complejos con moléculas de clase I del CMH. Estos complejos pépticos de clase I pueden unirse en forma específica a los receptores de las células T situados en los LCT $CD8^+$ (20).

Aunque la mayoría de los AAT solo pueden ser reconocidos por las células T cuando forman una asociación física con las moléculas del CMH, recientemente se ha descrito con detalle una notable excepción. En los ganglios linfáticos de algunos pacientes con cáncer pancreático se han detectado LCT que pueden reconocer y lisar de manera específica no solo a células tumorales autólogas, sino también a células de tumores pancreáticos y mamarios con CMH no relacionado. Esta falta de restricción del CMH se debe al reconocimiento de subunidades peptídicas repetitivas en las moléculas de mucina

que son expresadas de manera preferencial por las células tumorales. En los últimos años se han acumulado pruebas de que muchos tumores, a pesar de su crecimiento progresivo y de la aparición de metástasis, contienen células T específicamente inmunes, a las que se ha denominado linfocitos infiltrantes del tumor (LIT). En estudios de tumores humanos, los cultivos de LIT procedentes de algunos melanomas malignos o, con menor frecuencia, de otros tipos tumorales han mostrado que contienen LCT con reactividad antitumoral específica. Estos hallazgos no solo proporcionan indicaciones sobre la inmunogenicidad de algunos tumores humanos sino que, como ya se ha dicho aportan también una base sobre la que desarrolla un tratamiento específico de adopción mediante estas células inmunes (19-20).

Los LCT antitumorales procedentes de pacientes con melanomas se han utilizado también para identificar y caracterizar al gen (MAGE-1) que codifica el AAT reconocido. Se ha demostrado que algunas células tumorales, pero no las células normales, expresan este gen en forma selectiva, y parece que los LCT reconocen el antígeno por él codificado en el contexto de una determinada molécula de clase I, la HLA –A1(antígeno leucocitario humano) (20).

3. Papel de los macrófagos en la resistencia del huésped:

Se ha sugerido que los macrófagos son factores importantes dentro de las defensas antitumorales y podrían desempeñar un papel fundamental en la vigilancia inmunológica frente a los tumores. Esta posibilidad se apoya en diversos tipos de pruebas:

- a. Los macrófagos pueden acumularse en números importantes en diversos tumores trasplantables y en muchos tumores primarios.

- b. Los macrófagos tienen una capacidad natural para lisar o inhibir el crecimiento in vitro de una amplia variedad de células transformadas y también pueden activarse con gran rapidez para realizar estas misiones.
- c. Diversos tratamientos que puedan deprimir la función de los macrófagos se han asociado con un aumento de la incidencia de tumores y metástasis.
- d. Se han demostrado que la transferencia adoptiva de macrófagos activados in vitro o in vivo inhibe la diseminación metastásica de algunas líneas celulares.
- e. Algunos carcinógenos deprimen la función del sistema reticuloendotelial.
- f. La estimulación de la función macrofágica mediante diversos inmunomoduladores se ha asociado con una disminución del crecimiento tumoral o con una reducción de la incidencia de tumores (19).

Sin embargo, estas pruebas tienen también importantes limitaciones:

- a. Las pruebas de que los macrófagos posean una actividad citotóxica frente a células tumorales primarias recién recogidas, en oposición a las procedentes de líneas celulares establecidas, son notablemente escasas.
- b. El sílice, la carragenina y prácticamente la totalidad de los demás tratamientos depresores que se han utilizado, podrían no ser totalmente selectivos en cuanto a sus efectos. De hecho, podrían potenciar algunas funciones, en especial la actividad supresora, tanto en los macrófagos como en otras células. Los efectos del tratamiento sobre el crecimiento tumoral no siempre adoptan la misma dirección, incluso en el mismo tumor. Por ejemplo, Mantovani y sus colegas observaron que la administración de sílice o carragenina a ratones aumentaba la incidencia de metástasis pulmonares pero inhibía el crecimiento de los tumores primarios.

- c. Se ha demostrado que los carcinógenos que deprimen la función reticuloendotelial también pueden afectar a diversos mecanismos efectores, mientras que otros carcinógenos pueden no tener efectos detectables sobre la función de los macrófagos o las células reticuloendoteliales.
- d. En experimentos con algunos tumores trasplantables en ratones, la transferencia adoptiva de macrófagos, en lugar de conferir resistencia frente a las metástasis ha facilitado su desarrollo (19).

4. Papel de las células citolíticas naturales (NK) en la resistencia del huésped:

Las células citolíticas naturales (NK) son una subpoblación de efectores naturales que tienen el aspecto morfológico de grandes linfocitos granulosos y un fenotipo de superficie celular característico que los distingue de las células T y de los macrófagos. Un grupo de expertos en este campo de investigación coinciden en que las células NK suelen tener la morfología de grandes linfocitos granulosos pero sin las características estructuras de la superficie celular de las células T. Estas células poseen una reactividad citotóxica espontánea frente a las células cancerígenas y algunas células no malignas, actividad que no depende del CMH ni esta limitada por el. Además de su reactividad antitumoral espontánea, las células NK secretan diversas citoquinas; su exposición a estas últimas, y sobre todo a los interferones o a la interleucina 2 (IL2) o a varios modificadores de la respuesta biológica (MRB), potencia de manera importante su reactividad citotóxica. Recientemente se ha comprobado que la mayor parte de la actividad de las células citolíticas activadas por linfocinas (CAL) generada con IL2 en los cultivos de células sanguíneas o esplénicas es atribuible a las células NK activadas por la IL2. Las células CAL tienen una actividad citotóxica muy potente frente a la mayoría de las células

tumorales, aun contra las células recién extraídas de leucemias o de tumores sólidos autólogos o alogénicos (19).

Existe un considerable número de datos que respaldan la importancia de las células NK en la resistencia in vivo frente a las líneas de células tumorales establecidas. Además, algunas pruebas concuerdan con las predicciones sobre la hipótesis de la vigilancia inmunológica:

- a. Las células NK pueden acumularse en focos de inflamación y en los tumores primarios pequeños o en los trasplantados.
- b. Las células NK tienen una capacidad natural y también rápidamente activable que les permite lisar diversos tipos de tumores autóctonos primarios.
- c. Se han demostrado que las células NK tienen capacidad para eliminar células tumorales metastásicas, con lo que ayudan a resistir la propagación del tumor.
- d. En el ratón beige con actividad NK deprimida, en pacientes con síndrome de Chediak-Higashi y en receptores de trasplantes inmunodeprimidos se ha observado un aumento de la incidencia de tumores. Se ha demostrado que algunos carcinógenos producen una depresión profunda y precoz de la actividad NK (19).

Los datos mas convincentes son los relativos a la importante función de las células NK con respecto a la resistencia del huésped frente a las metástasis. La observación de que parece que las células NK son responsables principalmente de la rápida eliminación de las células tumorales inoculadas por vía intravenosa proporcionó la primera indicación de que este mecanismo efector podría actuar como un control muy efectivo de la propagación hematógena de los tumores. Los primeros datos experimentales que apoyan esta posibilidad provinieron del hallazgo de que las células de las metástasis pulmonares de los tumores trasplantables en ratones eran mas resistentes a la actividad NK que las células

de los crecimientos tumorales locales. Otros datos proceden de la observación de que la supresión o la potenciación de la actividad NK en los ratones se asocia con alteraciones paralelas de la resistencia a las metástasis artificiales producidas por inoculación intravenosa de células cancerosas. Los patrones de resultados obtenidos en estos estudios sugieren que las células NK pueden influir sobre todo en la extensión metastásica de los tumores, actuando durante la fase de diseminación hematológica, presumiblemente gracias a su capacidad para eliminar con rapidez las células tumorales de la circulación en los lechos capilares. Confirmaciones posteriores confirmaron la asociación entre la depresión de la actividad NK y el aumento de las metástasis y demostraron que el restablecimiento selectivo de la actividad NK en ratas mediante la transferencia adoptiva de grandes linfocitos granulocitos altamente purificados iba acompañada por un aumento de la resistencia a las metástasis pulmonares. Se ha demostrado también que la transferencia adoptiva de un clon de células linfocitos cultivadas con actividad de tipo NK protege frente al desarrollo de metástasis pulmonares y hepáticas. Los estudios de inmunoterapia con sarcomas trasplantables en ratones mediante transferencia adoptiva de células CAL han indicado la existencia de apreciables efectos antimetastásicos, aun cuando el tratamiento se hubiese iniciado después de la aparición de las metástasis pulmonares (21).

Se ha observado que las células NK activadas con IL2 altamente purificada poseen una actividad terapéutica antimetastásica más potente que las células CAL inespecíficas, y este efecto ha sido asociado con la acumulación selectiva de células efectoras transferidas a los sitios del tumor (19).

Las pruebas directas sobre el papel que cumplen las células NK en la vigilancia inmunológica son limitadas y se refieren sobre todo a dos modelos de carcinogénesis. El primero proporciona algunas indicaciones sobre el papel de las células NK en la protección

frente a los tumores pulmonares provocados con uretano en ratones. El segundo sistema de carcinogénesis es la inducción del linfoma tímico mediante múltiples dosis bajas de radiación administradas a ratones (19).

4. Papel de los anticuerpos en la resistencia del huésped:

En muchos pacientes portadores de tumores e inmunizados pueden detectarse anticuerpos antitumorales específicos. Se ha demostrado que los anticuerpos específicos frente a los AAT matan a las células dianas tumorales mediante dos mecanismos y existen algunos datos que sugieren que ambos podrían desarrollarse in vivo. El primero consiste en la fijación de los anticuerpos IgG e IgM dependientes del complemento sobre las localizaciones antigénicas de las células dianas y la activación de la cascada del complemento. Los componentes terminales C8 y C9 llevan a cabo la lisis a través de la vía clásica. El segundo mecanismo citolítico es independiente del complemento y recibe el nombre de citotoxicidad celular dependiente de los anticuerpos (CCDA). Cuando los anticuerpos antitumorales IgG se fijan a la membrana de las células dianas, diversas células efectoras con receptores para la porción Fc de la IgG, sobre todo células NK y macrófagos, pueden luego unirse a las células tumorales recubiertas por los anticuerpos y provocar su lisis (19-20).

Los anticuerpos antitumorales pueden resultar nocivos para el huésped. En situaciones experimentales, la administración de anticuerpos antes del trasplante de un tumor o de una infección por virus oncogénicos ha dado lugar a una potenciación tumoral, por lo que han recibido el nombre de anticuerpos potenciadores. Otros estudios sugieren que los anticuerpos potenciadores atacan la superficie de las células tumorales, bloqueando o enmascarando los lugares de unión de los linfocitos citotóxicos y de los anticuerpos

citolíticos. En algunos estudios clínicos, la presencia de anticuerpos detectables o de complejos antígeno-anticuerpo en la circulación se ha asociado a la presencia de tumores o a un mal pronóstico. No obstante, en otros estudios clínicos se han observado títulos elevados de anticuerpos antitumorales después de la extirpación quirúrgica completa del tumor, mientras que la recidiva o la diseminación metastásica se asociaba a una reducción de estos títulos (20).

B. Citoquinas

Las citocinas actúan de forma no enzimática como señales intercelulares que modulan la función celular en la respuesta inflamatoria, regulando el crecimiento, la motilidad y la diferenciación de los leucocitos y células no leucocíticas. Sus funciones se realizan por efecto autocrino (sobre la propia célula que la produce), paracrino (sobre el microambiente de la célula) o endocrino (por acción distal) (20).

Las citoquinas se unen a receptores de superficie celular y una determinada citosina puede activar distintos tipos de células y compartir actividades biológicas con otras citoquinas. Existe gran interacción entre ellas, siendo inductoras o inhibidoras de la síntesis de sí mismas o de otras. Los factores más importantes que influyen sobre los efectos in vivo son la magnitud de su producción, la vida media, la distribución corporal y la presencia de inhibidores naturales (20).

El acoplamiento de una citoquina a su receptor, desencadena una serie de eventos bioquímicos de fosforilación en el interior de las células por distintas vías que se traducen en modificaciones del citoesqueleto o que llegan al núcleo para inducir la expresión de otras citoquinas, la expresión de receptores específicos o la muerte de la célula por necrosis o por apoptosis (20,21).

1. Interleucina 2 (IL2):

En 1976 Morgan y colegas descubrieron este factor en el sobrenadante de cultivos de linfocitos activados, el cual puede promover el crecimiento y proliferación de células T y encontraron que éste estimula la proliferación de los linfocitos T activados por un antígeno e incrementa la respuesta inmune producida por los linfocitos T ayudadores (22).

Además, estimula la generación y proliferación de células citotóxicas, induce la producción del IFN γ e incrementa la producción de anticuerpos a través de los linfocitos T ayudadores. Es uno de los pirógenos endógenos que actúa a nivel del hipotálamo. Los linfocitos T en reposo carecen de receptores para la IL-2, estos se generan por la acción de la IL-1 producida por los macrófagos. Algunas subpoblaciones de linfocitos T inmaduros a nivel del timo, poseen receptores para IL-2, lo cual hace pensar que ésta tenga una acción de maduración sobre aquellos (20).

2. Receptores de Interleucina 2 (IL2-r):

Después de que un mitógeno o un antígeno estimula las células T se observa la producción de interleucina 2 (IL2), esto fue demostrado en un estudio realizado en la Universidad de Toronto en 1990, en el cual se confirmó la existencia de un receptor de IL2 (IL2-r) de la superficie celular (20-22).

Los IL2-r están compuestos como mínimo por 3 componentes de membrana distintos, designados como alfa (α , Tac, o p55), beta (β o p70/75) y la cadena gamma (γ , IL-2r γ) (23).

Los linfocitos maduros activados continuamente expresan la cadena IL2-r β , la molécula Tac es inducida y expresada sólo después de la activación de células mononucleares (linfocitos T, B y monocitos). Esta constante específica de Tac provee a los investigadores de un marcador único de la activación del sistema inmune, antes de que aparezcan otras determinantes en las paredes celulares e incluso antes de la proliferación linfocítica. La disponibilidad de dos anticuerpos monoclonales no competitivos, anti-IL2- α , anti-Tac y anti 7G7/B6, permitieron su detección por el método de ELISA, el cual guía a la detección de una forma soluble y liberada de la molécula de Tac (sIL2-r), que se encuentra en el sobrenadante de cultivos celulares mononucleares activados por mitógenos o antígenos. La mayoría de los monocitos, linfocitos, células B y células T, en reposo no expresan un número significativo de este receptor en su superficie. En la activación, las moléculas de los receptores se expresan en la superficie de las células y se libera una forma soluble (sIL-2R) que es aproximadamente 10kD más pequeña que la proteína unida a la membrana (22).

La producción de sIL-2R es uniformemente dependiente de activación, excepto en condiciones neoplásicas específicas en las cuales el fenotipo maligno es caracterizado por la expresión constitutiva de Tac y la liberación de sIL-2R. Esta proteína glicosilada completamente soluble, de aproximadamente 45 kD es probable que sea generada por la separación proteolítica de Tac en la superficie celular, dando lugar a que haya falta de alguna evidencia alternativa que empalme para una transcripción de Tac ARNm que pueda potencialmente codificar una forma secretada de proteína de la membrana celular. En adición, no se ha encontrado la sIL-2R en la ausencia completa de expresión de Tac de la superficie celular ya sea concurrente o temporal (22).

C. Cáncer cervical

El cáncer cervical produjo alrededor de 4,600 defunciones en 1994, en Estados Unidos. Como resultado de la detección realizada mediante examen citológico cervicovaginal con el método de Papanicolau (PAP), el riesgo de desarrollar un cáncer cervical a lo largo de la vida ha disminuido en las mujeres tanto de raza blanca como de raza negra. El carcinoma cervical es más frecuente en mujeres de bajo nivel socioeconómico (anexo 1). Se consideran como factores de riesgo los antecedentes de múltiples parejas sexuales, primeras relaciones sexuales a edad temprana y embarazos múltiples. El cáncer cervical es muy raro en las mujeres sexualmente inactivas y en las nulíparas (19,24).

En Guatemala, según datos del Instituto de Cancerología Dr. Bernardo del Valle, INCAN, el cáncer de cérvix ha mantenido su prevalencia en 33.4% de 1998 al año 2002. Este cáncer también es el de mayor incidencia ya que en comparación con otros tipos reporta el mayor número de casos de cáncer. Por ejemplo en el año 2002 se reportaron 747 casos de cáncer de cérvix mientras que de cáncer de mama únicamente se reportaron 246 casos, siendo este último el segundo tipo de cáncer más frecuente (2).

D. Neoplasia Intraepitelial de cérvix:

El conocimiento de la génesis y desarrollo del carcinoma invasivo se ha incrementado en los últimos años así como también la detección y la interrelación del virus

del Papiloma Humano (VPH) como agente etiológico determinante en NIC y carcinoma invasivo, por lo que se ha considerado como una enfermedad de transmisión sexual (25).

En la literatura mundial la tasa de mayor incidencia de carcinoma de cérvix está entre 48 a 55 años con un promedio de 53.8 y una media de 51.5 años. La mayor incidencia de carcinoma in situ ocurre entre 25 a 40 años (26).

En Guatemala en el Instituto de Cancerología doctor Bernardo del Valle INCAN el carcinoma de cérvix para el 2002, es la neoplasia más frecuente, afectando los grupos de edad entre 25 y 65 años siendo la tasa de mayor incidencia de 45 a 50 años (2).

1. Virus del Papiloma Humano:

A mediados de la década de 1970 Sur Hausen sugirió que el VPH era un posible candidato considerado como agente de transmisión sexual, en aquella década Meisels publicó una serie de artículos que describían una nueva lesión condilomatosa de cérvix inducida por el virus, estas investigaciones comprobaron su presencia en neoplasia intraepitelial cervical (25-26).

Meisels y Fortuni fueron los primeros en demostrar la alta frecuencia de VPH en 1976 y la asociación del virus con cáncer de cérvix. Richart observó que el carcinoma de cérvix estaba relacionado con VPH en 90-95 por ciento en los casos con NIC. Mediante diferentes técnicas incluyendo la hibridación del virus se han determinado más de 60 serotipos diferentes de VPH, algunos de ellos participan de manera importante en el desarrollo de carcinoma de cérvix (25-26).

Los tipos 6 y 11 se han encontrado en el 90 por ciento de las lesiones benignas y 25 por ciento en lesiones precancerosas y muy raramente en lesiones cancerosas dos por ciento. En 90 por ciento de los carcinomas in situ o invasores se han encontrado los tipos 16, 18,

31, 33 y 35, de éstos el 50-80 por ciento corresponden a los tipos 16 y 18 prevaleciendo con más frecuencia el tipo 16 (25-26).

La integración del ADN viral en el genoma celular puede ser un paso importante en el desarrollo de la enfermedad. Se sabe que los VPH 6, 11, 16 y 18 se encuentran en estado episomal y en forma productiva en las lesiones benignas y precancerosas; los VPH 16 y 18 se encuentran en forma no productiva e integrados al genoma celular en las células cancerosas (26).

Esto parece indicar que la integración de los tipos 16 y 18 está relacionada con el proceso de malignización de las células normales a la progresión tumoral (26).

2. Patología de la Enfermedad:

Neoplasia intraepitelial cervical (NIC) encuadra todas las anormalidades epiteliales del cuello uterino, es decir las células epiteliales son malignas pero están confinadas al epitelio. El NIC se divide en 3 grados: NIC I, NIC II, NIC II; esto según la extensión de la observación en la estratificación celular del epitelio. El criterio histológico para el diagnóstico de NIC depende de los hallazgos de aneuploidía nuclear, figuras mitóticas anormales y una pérdida de la maduración normal del epitelio (26).

En el NIC I los dos tercios superiores del epitelio (superficial) aunque muestran algunas anormalidades nucleares han sufrido diferenciación citoplásmica, las células en el tercio inferior no presentan evidencias de diferenciación citoplásmica o de maduración normal, las figuras mitóticas son escasas y si están presentes son normales (25).

En el NIC II las modificaciones normales del NIC I abarcan los dos tercios inferiores del epitelio (26).

En el NIC III se observan cambios en todo el espesor del epitelio con células no estratificadas indiferenciadas, el pleomorfismo nuclear es común y las figuras mitóticas son anormales (26).

El tiempo de transición del NIC en años promedio es el siguiente (26):

- a. Normal a NIC leve o moderado (1.62 años promedio)
- b. Normal a NIC moderado o grave (2.20 años promedio)
- c. Normal a carcinoma in situ (4.51 años promedio)

3. Manifestaciones Clínicas:

En las neoplasias intraepiteliales de cérvix (NIC) regularmente no se encuentran signos o síntomas tempranos por lo tanto se requieren estudios de tamizaje para detectar precozmente a estas lesiones y aunque se han sugerido diferentes técnicas de detección, durante muchos años la técnica del frote de Papanicolau (PAP) es la más económica, efectiva y de fácil aplicación (26).

El PAP debe ser efectuado al mismo tiempo que se realiza un examen rutinario ginecológico. El propósito del mismo es prevenir el desarrollo de cáncer cervical invasor: el examen con PAP ha demostrado una disminución en la mortalidad por cáncer de cérvix. Es de hacer notar que cualquier síntoma que la paciente tenga como flujo vaginal sugiere problema coexistente a investigar (25).

El carcinoma invasivo temprano puede producir un flujo vaginal o sangrado vaginal sobre todo post-coital. Cuando el tumor es más extenso la descarga vaginal serosanguinolenta o purulenta es más profusa y el sangrado puede ocurrir intermitentemente y se da en gran volumen (26).

El dolor es uno de los últimos síntomas en cáncer de cévix y son raros los casos relacionados a tracto urinario recto. El dolor bajo de la pelvis puede ser asociado a inflamación crónica, necrosis tumoral o ambos, el dolor de la cadera o miembros inferiores pueden resultar de compresión de nervios lumbosacros por la masa tumoral grande u obstrucción uretral. En la enfermedad avanzada la frecuencia o urgencia urinaria, hematuria, tenesmo rectal y sangrado rectal puede ser debido a invasión directa de la vejiga o recto (25-26).

4. Diagnóstico:

La facilidad del acceso al cuello de cérvix para el estudio de las células y los tejidos, y para el examen físico directo ha permitido una investigación exhaustiva de la naturaleza de las lesiones malignas que allí se asientan (25-26).

Los precursores preinvasivos pueden existir en una fase reversible o estable de la enfermedad superficial o in situ durante varios años a pesar que esto puede ser cambiante en algunos pacientes (25-26).

En base al estudio efectuado en Canadá por Walton (1970), se confirmó que el carcinoma cervical es un problema que podía ser resuelto y que se prestaba para los programas de detección. Actualmente existen datos convincentes de que los programas de detección son eficaces para reducir la mortalidad por carcimoma de cérvix y probablemente disminuyan su incidencia, de allí que el examen ginecológico y PAP de las pacientes es importante en la mujer sexualmente activa (26).

En 1976 Walton en su estudio identificó dos grupos de riesgo para el cáncer de cérvix. Un grupo de bajo riesgo que incluía mujeres que nunca habían tenido actividad sexual

durante su vida, con histerectomía por enfermedad no maligna y quienes tenían arriba de 60 años (26).

El grupo de alto riesgo eran mujeres sexualmente activas, con múltiples parejas sexuales, con relaciones sexuales a temprana edad y multíparas. De allí surgieron diversos estudios y no es sino hasta 1988 que la Sociedad Americana de Cáncer, el Colegio Americano de Obstetras y Ginecólogos concluyeron recomendando lo siguiente: “Todas las mujeres que tienen actividad sexual deben tener un PAP y examen pélvico anual, después de tres o más PAP consecutivos anualmente normales el examen debe efectuarse menos frecuentemente o según lo indique su médico” (26).

Es así como se considera al frote de Papanicolau un método confiable, rápido y fácil de efectuar para la detección temprana de cáncer de cérvix. Para su interpretación en 1973 la Organización Mundial de la Salud estableció los lineamientos y terminología para su reporte. Así también en 1988 el Instituto Nacional de la Salud describió una nueva terminología denominada sistema BETHESDA en donde se incluyen 3 principales características: estimación de un frote adecuado, caracterización del frote como normal o anormal y un diagnóstico descriptivo (ver anexo 2) (26).

Se ha reportado que el test de PAP tiene un 8-50 por ciento de falsos negativos lo cual puede ser debido a una inadecuada técnica en la obtención y fijación del frote así como personal no capacitado para teñir e interpretar los mismos (26).

Hay que tener en consideración que el frote citológico cervical de Papón es un recurso diagnóstico sino una forma de detección, el diagnóstico final se basa en la biopsia del tejido. Por consiguiente el PAP es válido como método de tamizaje en la detección de neoplasia intraepitelial cervical (26).

La toma de muestra para el frote de Papanicolau debe efectuarse en la unión escamocolumnar del cérvix, donde se originan la mayoría de lesiones y en la muestra se debe evaluar el epitelio ectocervical como el endocervical (26).

Los resultados de los estudios recientes sobre el origen y el comportamiento del NIC preinvasor, hacen que sea necesario un nuevo enfoque de los métodos para evaluar a la paciente con PAP anormal (25).

La colposcopia fue introducida por Hans Hinselman en 1925 (Hamburgo-Alemania) como resultado de sus esfuerzos por encontrar un método práctico para el examen minucioso y amplio del cuello uterino (25).

Al comienzo de la década de 1930 se introdujo en Estados Unidos sin obtener auge y aceptación, abandonándose como método diagnóstico. El interés por la colposcopia se reanudó en la década de 1950 y a inicio de 1960 fue aceptándose con lentitud. En las últimas décadas el procedimiento ha ganado una amplia difusión y es considerado como auxiliar de las pruebas citológicas anormales (26).

La colposcopia se basa en el estudio de la zona de transformación del epitelio cervical. Esta zona es el área del cuello uterino que inicialmente estaba cubierta por epitelio cilíndrico, el cual a través de un proceso denominado metaplasia es reemplazado por epitelio escamoso (26).

Este proceso de transición del epitelio cilíndrico a escamoso probablemente ocurre durante toda la vida de la mujer siendo más activo durante el desarrollo fetal, adolescencia y primer embarazo (26).

Se ha mejorado y simplificado la clasificación de los hallazgos colposcópicos cuyos términos son: epitelio blanco, el mosaico, puntilleo o base, lo cuales anuncian el epitelio atípico (NIC), y los vasos atípicos más comúnmente asociado a carcinoma invasor. El

mayor valor de la colposcopia reside en que guía la biopsia para obtener un diagnóstico más preciso (26).

Si la colposcopia es inadecuada y la paciente tiene un PAP con células malignas o displasia, o si la lesión se extiende hacia arriba en el conducto, más allá de la visualización del colposcopista, deberá efectuarse una conización diagnóstica, esta consiste en la remoción de una porción de tejido de cuello uterino en forma de cono, en donde se incluye toda la zona de transformación y así poder obtener el diagnóstico final mediante el estudio anatomopatológico y decidir el tipo de tratamiento para la paciente (26).

E. Receptores de IL2 en cáncer:

En los últimos años, se ha estudiado el receptor de interleucina 2 soluble (sIL2-r) en pacientes con cáncer, con el propósito de encontrar nuevos marcadores que sean de utilidad en el diagnóstico de diversos tipos de cáncer.

En 1989 y 1990 Lissoni y colaboradores realizaron dos estudios en el Hospital San Gerardo, Milan, Italia. En el primero se pretendía evaluar la relación que tenía sIL2-r con las células Tac positivas en pacientes con tumores sólidos metastásicos y no metastásicos, de diversos tipos de cáncer. Se observó que sIL2-r estaba aumentado en comparación con pacientes sanos, pero que no existía correlación con las células Tac positivas, por lo que se cree que los mecanismos son diferentes para la expresión celular y para la liberación de sIL2-r en el suero (27).

En el segundo estudio se evaluó a 160 pacientes con diferentes tipos de cáncer (pulmonar, mama, colon, estómago, cervix), y se utilizó un grupo control de 58 pacientes

sanos. Se efectuó la medición de sIL2-r con una prueba de ELISA y se observó que los pacientes que presentaban cáncer tenían niveles altos de sIL2-r en comparación con los pacientes normales; además, se observó que si los pacientes presentaban metástasis los niveles de sIL2-r aumentaban aún más (28).

En 1995 en un estudio realizado en China, en la Universidad de Xi'an, Liu y colaboradores efectuaron la medición de sIL2-r en 57 pacientes que presentaban cáncer esofágico, antes y después de tratamiento con radioterapia, en el cual se utilizaron 20 pacientes sanos como control. Por el método de ELISA se determinó que el valor de sIL2-r era significativamente más alto que en los pacientes normales ($P < 0.001$) y que al finalizar la radioterapia, los niveles habían disminuido ($P > 0.05$), por lo que sIL2-r se podría utilizar para monitoreo de tratamiento (17).

En 1994, Wang y colaboradores realizaron un estudio piloto para encontrar el valor diagnóstico de sIL2-r en el Laboratorio Central de Investigaciones, en Shanghai China. Se utilizaron 45 pacientes con cáncer gástrico (32 sin metástasis, 5 con metástasis, 8 con cáncer recurrente), 27 con úlcera gástrica, 27 con gastritis superficial y 44 pacientes sanos, utilizando el método de ELISA. Los niveles de sIL2-r fueron significativamente elevados en pacientes con cáncer; los pacientes con metástasis tuvieron incluso niveles más elevados que los que no tenían metástasis. Esto sugiere que sIL2-r puede ser utilizado como un marcador diagnóstico en el cáncer gástrico (5).

En abril de 1999, en el departamento de Cirugía de la Facultad de Medicina, de Tottori en Yonago, Japón, Saito y colaboradores realizaron un estudio por el método de

ELISA, para determinar la utilidad de sIL2-r en el pronóstico de 121 pacientes post-operados de cáncer gástrico. Estos pacientes presentaban niveles de sIL2-r significativamente más elevados que los pacientes normales. Esta elevación también tuvo relación con presentaciones clinicopatológicas que incluían profundidad de la invasión, metástasis a nodos linfáticos, invasión a vasos sanguíneos y el grado de la enfermedad. El tiempo de supervivencia post-operatoria en pacientes con niveles de sIL2-r elevado, fue significativamente más corto que los pacientes con niveles normales, lo que indica que los niveles sanguíneos de sIL2-r puede ser utilizado como marcador pronóstico en pacientes con cáncer gástrico (14).

En el hospital de Jiaojiang de Medicina Tradicional de Zhejiang, China, Yang y colaboradores realizaron un estudio para analizar la significancia de sIL2-r y factor de necrosis tumoral (TNF), en pacientes con tumores malignos de la glándula salival. En dicho estudio se midieron los niveles sanguíneos de sIL2-r y TNF, a 30 pacientes con tumores malignos de la glándula salival, utilizando el método de ELISA y RIA. Los resultados mostraron que los niveles de sIL2-r en estos pacientes, eran mucho mayores que en los controles ($P < 0.01$), y que 4 semanas después de la operación, los niveles de sIL2-r se elevaban de nuevo en pacientes con recurrencia o metástasis del cáncer. Los niveles de TNF fueron normales, por lo que se determinó que la observación consecutiva de los niveles de sIL2-r, es de ayuda para determinar el pronóstico de los pacientes post-operados, así como marcador de evaluación de recurrencia o metástasis de tumores malignos de la glándula salival (15).

En 1989, en el Hospital Zhogshan, de la Universidad de Medicina en Shangai, China, Xu y colaboradores evaluaron los cambios en los niveles sanguíneos de sIL2-r en malignidades linfocíticas, y sus implicaciones clínicas. Para lograr esto se midió los niveles de sIL2-r a 60 pacientes con varios desordenes linfoproliferativos malignos utilizando el método de ELISA y se determinó que los niveles de sIL2-r en pacientes con mieloma múltiple (MM), linfoma no Hodgkin (NHL) y leucemia linfocítica aguda (LLA), fue significativamente mayor que en pacientes normales. Los valores más altos de los niveles de sIL2-r se observaron en los casos más severos o en etapas tardías de la enfermedad y fueron independientes de la enfermedad. Se llegó a la conclusión que los niveles de sIL2-r se elevan en progreso de la enfermedad por lo que puede usarse como marcador clínico efectivo (7).

En 1989, en el Instituto de Anatomía Patológica de la Universidad de Verona, Italia, Chilosi y colaboradores realizaron un estudio en el que se evaluó sIL-2R en pacientes con Linfoma no Hodking (LNH). La información fue evaluada en relación a la morfología y heterogeneidad fenotípica de los LNH en el diagnóstico y en la enfermedad avanzada. Se encontró un incremento en los niveles de sIL2-r en comparación con los pacientes sanos. No hubo una correlación estadística de los valores de sIL2-r en los diferentes subtipos de NHL. Por otro lado hubo una mayor significancia cuando se correlacionó con la extensión de la enfermedad por lo que se determinó que la detección de sIL2-r en LNH puede representar un buen marcador en la evaluación de riesgo en casos únicos y/o para monitorear la remisión y exacerbación durante el tratamiento de los casos de pacientes que presentaron niveles muy altos en el diagnóstico (10)

En el departamento de Hematología/Oncología pediátrica , de la Universidad de Creta, Grecia, Kalmanti y colaboradores efectuaron la medición de sIL2-r y TNF en 69 niños entre 6 meses y 14 años de edad. En el estudio participaron 39 niños con leucemia linfocítica aguda (LLA), 15 con linfoma de Hodgkin, 15 con linfoma no Hodgkin y 54 pacientes normales, los cuales se encontraban dentro del rango de edad. Se efectuó la medición antes del tratamiento y al presentar una remisión de la enfermedad, encontrándose valores significativamente elevados antes de iniciar la terapia ($P < 0.001$), los niveles que disminuyeron al haber una remisión de la enfermedad. Del mismo modo, se encontraron niveles más elevados de sIL2-r y TNF en pacientes con estadios más avanzados que en etapas tempranas de la enfermedad. Esto indica que sIL2-r y TNF son marcadores de utilidad en el diagnóstico y pronóstico de LLA y linfomas (13).

En 1995, en el departamento de Hematología de la Escuela de Medicina de la Universidad de Showa, Japón, Akimoto y colaboradores realizaron una investigación sobre la medición de sIL2-r en 16 pacientes con mieloma múltiple (MM) y 27 pacientes sanos, utilizando el método de ELISA. Se observó un incremento en sIL2-r en pacientes con mieloma ($963 \pm 523 \text{U/mL}$), en comparación con los pacientes normales ($213 \pm 80 \text{U/mL}$) y se observó que los niveles de sIL2-r correspondieron con el estadio de la enfermedad, por lo que se determinó que sIL2-r puede ser utilizado como marcador en el monitoreo de MM (8).

En 1996 el Departamento de Bioquímica Clínica de Barcelona España, Filella y colaboradores evaluaron la utilización de citoquinas (IL-6 y F-alfa) y sIL2-r como marcador tumoral en MM. Para ello se midieron los niveles de las citoquinas antes

mencionadas y de sIL2-r a 22 pacientes con gamopatía monoclonal de significancia indeterminada (MGUS), 51 pacientes con mieloma múltiple y 30 pacientes sanos. Se encontró una elevación en los niveles de IL6, TNF alfa, y sIL2-r en pacientes con MM activado en comparación con los pacientes sanos y se observó que los niveles fueron también elevados en los pacientes con MM en una fase más avanzada, por lo que se concluyó que estos marcadores pueden ser utilizados en el manejo clínico del paciente con MM (11).

En agosto de 1990 se realizó un estudio en la Unidad de Cuidado Intensivo y Pulmonar del Hospital General de Massachussets, para determinar si hay cambios en la concentración de sIL2-r en el suero de pacientes fumadores y pacientes con cáncer pulmonar. Para esto Ginns y colaboradores evaluaron: 49 pacientes con cáncer pulmonar (26 con adenocarcinoma (AC), 23 con cáncer de células escamosas (SCC)) y un grupo de 45 pacientes fumadores clasificados como leves (menos de 20 paquetes al año), moderados (de 21 a 49 paquetes por año) y altos (de más de 50 paquetes al año) y 15 sujetos sanos que nunca fumaron. Los resultados demostraron que los niveles de sIL2-r se elevaron al aumentar el grado de dependencia al cigarrillo, y que los niveles de sIL2-r de los no fumadores fueron significativamente mucho menores. Los resultados revelan un aumento significativo de los niveles de sIL2-r en pacientes con AC y SCC en comparación con los pacientes normales. Estos estudios apoyan el concepto que sIL2-r puede ser importante en la patogénesis de alteraciones inmunes asociadas a fumar y cáncer pulmonar (12).

En febrero del año 2004 Sieminska realizó un estudio en Gdansk, en el cual se midió sIL2-r en pacientes con cáncer pulmonar. Se observó un incremento de sIL2-r en

pacientes con cáncer pulmonar y aún un incremento mayor en pacientes que estaban en un estadio más avanzado de la enfermedad, por lo que se confirmó que este sIL2-r puede ser utilizado como marcador de pronóstico en pacientes con diferentes estadios de la enfermedad (29).

En 1992 en el laboratorio de Química Clínica del Instituto de Oncología de Bari, Italia, Abate y colaboradores evaluaron el uso de sIL2-r en 119 pacientes con neoplasias femeninas (47 con cáncer de ovario y 72 con cáncer de mama). Este estudio demostró que este marcador, en comparación con población normal, está elevado particularmente en el cáncer de ovario (68%), indicando que puede ser de utilidad como marcador inmunológico en el monitoreo de neoplasias femeninas (9).

En 1998 se hizo un estudio en El Chang Gang Memorial Hospital, en Taiwán, en donde Sheen-Chen y colaboradores midieron sIL2-r a 66 pacientes con cáncer de mama, teniendo en cuenta los siguientes criterios: el tamaño del tumor, edad, nodos linfáticos afectados, metástasis y grado histológico. Se efectuó la medición por medio del método de ELISA y se encontró un aumento significativo en el valor de dicho marcador ($621 \pm 145 \text{U/mL}$), en comparación con los pacientes normales ($308 \pm 59 \text{U/mL}$) por lo que se confirmó que la concentración de sIL2-r, está relacionada con nodos linfáticos afectados, metástasis y diámetro del tumor en carcinoma de mama, y puede ser un factor predictivo para el diagnóstico de dicho cáncer (16).

En marzo de 1994 Hurteau y colaboradores realizaron un estudio en el Hospital de Toronto, Ontario, Canadá, con el objetivo de determinar sIL2-r en mujeres con cáncer de

ovario en comparación con el marcador tumoral CA 125. Se detectaron niveles elevados de sIL2-r en el 100% de muestras de líquido ascítico y 79% en muestras de suero en pacientes que presentaban cáncer de ovario. Por el contrario sólo 48% de los líquidos ascíticos benignos y 1% de muestras de suero control resultaron elevadas, por lo que se concluyó que la medición de sIL2-r puede ser utilizado como marcador complementario de CA 125 para la detección temprana del cáncer ovárico (30).

En mayo de 1993 el Instituto de Medicina Nuclear de la Universidad de Pisa, Italia, Ferdeghini y colaboradores realizaron un estudio para medir la concentración sérica de sIL2-r en pacientes con cáncer de cérvix y endometrio. Antes del tratamiento, los niveles de sIL2-r, CA 125 y SCC fueron medidas en 183 pacientes con enfermedad benigna o maligna del útero. Los niveles de suero de sIL2-r fueron mayores en 46 pacientes con CA de cérvix y en 35 pacientes con cáncer de endometrio comparadas con 102 pacientes con enfermedad benigna del útero. Incluso niveles de sIL2-r mayores fueron encontrados así como CA 125 y SCC en el 50% pacientes con carcinoma de células escamosas de cérvix. En Adenocarcinoma cervical se observó un incremento en el 83.3% de los pacientes. Este estudio concluyó que sIL2-r puede representar un nuevo marcador tumoral para pacientes con estas malignidades (31).

En marzo de 1999 en Costa Rica, Ung y colaboradores evaluaron los niveles de sIL2-r en neoplasia cervical. Se estudió a 478 mujeres: 191 con NIC I, 130 con NIC III y 37 con cáncer. 120 mujeres citológicamente normales y negativas para HPV, se utilizaron como control. Se midieron los niveles de sIL2-r por el método de ELISA y se observó que las concentraciones de sIL2-r aumentan con la edad; dentro de los controles se observó que

44.3% de las mujeres de 50 o más años tenían valores aumentados de sIL2-r; los niveles de sIL2-r en NIC I son más elevados que los controles normales; los niveles de sIL2-r en NIC III eran similares a los NIC I; los niveles de sIL2-r están más elevados en cáncer en comparación con NIC III. Estos datos sugieren que los niveles de sIL2-r responden a los eventos de invasión cancerosa, y los niveles de sIL2-r no serían tan predictivos para la progresión de la enfermedad dentro del grupo de mujeres con NIC I (4).

En un estudio en India en 1993, Gupta y colaboradores analizaron 85 pacientes: 33 con NIC , 22 con cáncer cervical y 30 pacientes sanos. Las mediciones celulares fueron los números absolutos de CD2, CD3, CD22, CD25, CD4, CD8, relación celular T de CD4/CD8 y niveles del suero de de productos celulares como Interleucina-2 y sIL2-r. Se observó un descenso en CD2, CD3, CD22, CD4 , CD8 CD25 mostrando un incremento relativo en pacientes con altos grados de lesiones cervicales en comparación con los controles. Los niveles de IL-2 y sIL2-r fueron significativamente altos en comparación con los controles (32).

IV. JUSTIFICACIÓN

En Guatemala se ha demostrado una alta prevalencia (33.4%) de casos de cáncer de cérvix , siendo éste el tipo más frecuente en la población femenina. Esto ha hecho necesaria la búsqueda de métodos de detección temprana que faciliten su diagnóstico e impidan su diseminación a otros órganos (2). Por otro lado, se ha encontrado que en cáncer, la interleucina 2 (IL2) se encuentra alterada aumentando la citotoxicidad, así como los receptores de interleucina 2 soluble (sIL2-r) se encuentran elevados (9,10,18).

En otros países, se han llevado a cabo estudios en los que evalúan las concentraciones séricas de los receptores de interleucina 2 soluble (sIL2-r) en pacientes con cáncer, sugiriendo que la determinación de dicho factor puede brindar un apoyo importante en el diagnóstico precoz de esta enfermedad (16,26,27).

En Guatemala, no se han realizado estudios de este tipo, por lo que es importante establecer la utilidad de nuevas pruebas, que en conjunto con las que ya están establecidas, permitan al personal médico respaldar su diagnóstico presuntivo basado en la historia clínica y al mismo tiempo tomar decisiones terapéuticas de una manera más rápida.

En este estudio se determinó el comportamiento de este marcador en diferentes estadios de neoplasia intraepitelial cervical (NIC) y carcinoma in situ, para poder establecer su utilidad como marcador de detección y pronóstico de los pacientes con cáncer de cérvix. Se ha seleccionado este tipo de cáncer ya que es el más frecuente en el país y afecta a un gran porcentaje de la población. Posteriormente esta información podrá ser utilizada para la aplicación del tratamiento y evaluación de su eficacia.

V. OBJETIVOS

A. OBJETIVO GENERAL

Establecer la utilidad de la medición de receptores de interleucina 2 soluble (sIL2-r) en pacientes con carcinoma in situ de cérvix y neoplasia intraepitelial cervical (NIC), como una herramienta de detección en dicha enfermedad.

B. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Establecer los valores de receptores de interleucina 2 soluble (sIL2-r) en pacientes con carcinoma in situ de cérvix y neoplasia intraepitelial cervical (NIC).
2. Establecer los valores de receptores de interleucina 2 soluble (sIL2-r) en pacientes que no presenten carcinoma in situ de cérvix ni neoplasia intraepitelial cervical (NIC).
3. Establecer los factores de riesgo asociados a cáncer cervical y neoplasia intraepitelial cervical (NIC), en pacientes que acuden al Instituto de Cancerología Doctor Bernardo del Valle (INCAN).

VI. HIPÓTESIS

Los valores promedio de los receptores de interleucina 2 soluble (IL2-r) son iguales en pacientes con Papanicolau normal, pacientes con neoplasia intraepitelial cervical y pacientes con carcinoma in situ de cérvix.

VII. MATERIAL Y MÉTODOS

A. Universo:

1. Universo de trabajo:

Pacientes de sexo femenino que asistieron al Instituto de Cancerología doctor Bernardo del Valle S. (INCAN), al Instituto Guatemalteco de Seguridad Social (IGSS) o con médicos particulares para realización de Papanicolau y colposcopia.

B. Muestra:

La muestra la constituyeron 161 pacientes voluntarias distribuidas de la siguiente manera: 39 con neoplasia intraepitelial cervical tipo 1 (NIC I), 36 con NIC II, 44 con carcinoma in situ de cérvix (NIC III) y 42 pacientes sanas. Definidas de la siguiente forma:

Sanas: pacientes que al realizarles el Papanicolau resultó como frote citológico normal o con cambios inflamatorios leves.

NIC I: pacientes a las cuales después de realizarles el Papanicolau, se les efectuó una colposcopia y se les diagnóstico NIC I.

NIC II: pacientes a las cuales después de realizarles el Papanicolau, se les efectuó una colposcopia y se les diagnóstico NIC II.

NIC III: pacientes a las cuales después de realizarles el Papanicolau, se les efectuó una colposcopia y se les diagnóstico NIC III.

Recursos:**1. Recursos Humanos:**

Bachiller: Griselda Carolina Astorga Domínguez

Asesor: MSc. Vivian Matta

Personal de laboratorio clínico del Instituto de cancerología doctor Bernardo del Valle S. (INCAN).

Personal del laboratorio de Patología de el Instituto de cancerología doctor Bernardo del Valle S. (INCAN).

Personal de laboratorio clínico del Instituto Guatemalteco de Seguridad Social. (IGSS).

Personal del laboratorio de Patología del Instituto Guatemalteco de Seguridad Social. (IGSS).

2. Institucionales

Instituto de Cancerología doctor Bernardo del Valle S. (INCAN).

Instituto Guatemalteco de Seguridad Social. (IGSS).

Centro de Referencia de Inmunoanálisis (CERIA).

Diagnostic Products Corporation (DPC).

D. Materiales**1. Equipos**

Equipo IMMULITE (Diagnostic Products Corporation –DPC)

Centrífuga

Refrigeradora

Vortex

Boletas para recolección de datos

Algodón

Alcohol

Ligadura

Agujas 21G1 ^{1/2}

Curitas

Pipetas automaticas de volumen variable

Guantes

Marcadores

Puntas de pipetas (tips) descartables

Tubos vacutainer sin anticoagulante

2. Reactivos

Juego de reactivos para determinación sérica de receptor de interleucina 2

(IL2-r) marca IMMULITE (DPC).

Sueros control

E. Metodología:

1. Recolección de muestras: Para la selección de las pacientes se tomaron en cuenta los siguientes criterios:

Criterios de inclusión para casos:

- Papanicolau, colposcopía y biopsia positiva para Neoplasia intraepitelial cervical o carcinoma in situ según sea el caso.
- Mujeres no mayores de 50 años.
- Mujeres no fumadoras.
- Mujeres que no presenten ningún otro antecedente oncológico personal.
- Mujeres que no presenten ninguna enfermedad subyacente.

Criterios de exclusión para casos:

- Papanicolau normal.
- Mujeres mayores de 50 años.
- Mujeres que fumen.
- Mujeres que presenten algún antecedente oncológico personal.
- Mujeres que presenten una enfermedad subyacente.

Criterios de inclusión para controles:

- Pacientes con Papanicolau normal.
- Mujeres no mayores de 50 años.
- Mujeres que no fumen.
- Mujeres que no presenten ningún antecedente oncológico personal.
- Mujeres que no presenten ninguna enfermedad subyacente.

Criterios de exclusión para controles:

- Pacientes con Papanicolau anormal.
- Mujeres mayores de 40 años.
- Mujeres que fumen.
- Mujeres que presenten algún antecedente oncológico personal.

- Mujeres que presenten alguna enfermedad subyacente.
2. Se solicitó autorización al paciente por medio de una hoja de consentimiento escrito (anexo 3), y se realizó una entrevista (anexo 4) para conocer el estado general de salud del paciente, así como sus hábitos y costumbres.
 3. Asépticamente se extrajo por punción venosa 5cc de sangre a cada paciente, con tubos vacutainer sin anticoagulante.
 4. En el laboratorio clínico del INCAN y del IGSS se separaron las muestras por centrifugación a 3,000 revoluciones por minuto durante 10 minutos, para la obtención del suero.
 5. Se transportaron las muestras en cadena de frío hacia el Centro de Referencia de Inmunoanálisis (CERIA).
 6. Se congelaron los sueros a -20 grados Celsius hasta el momento de su procedimiento.
 7. Se determinaron los valores séricos de sIL2-r utilizando para ello el sistema automatizado IMMULITE –DPC-.
 8. Se analizaron los resultados en comparación con el grado de Neoplasia Intraepitelial Cervical (NIC) , Carcinoma *in situ* de cérvix y valores reportados internacionalmente. Los valores de referencia de los receptores de interleucina 2 soluble (sIL2-r) en pacientes normales son 223-710U/mL.

F. Diseño de investigación:

1. Tipo de estudio: Prospectivo, transversal, descriptivo.
2. Muestra: Muestra por conveniencia no probabilística. Se considera este estudio con un muestreo por conveniencia a causa de la limitante en el costo de los reactivos utilizados. Se tomaron 161 muestras de suero de mujeres que asistieron a el Instituto de cancerología doctor Bernardo del Valle S. (INCAN), al Instituto Guatemalteco de Seguridad Social (IGSS) y a clínicas particulares para la realización de la prueba de Papanicolau.
3. Análisis de resultados: Los datos fueron analizados por un programa EPI info 2000, todas las concentraciones de IL2-r en las muestras de suero de todos los grupos fueron convertidas a una escala de \log_{10} y analizados utilizando un test de student y análisis de varianza. Todos los valores $p < 0.05$ fueron considerados significativos. Los resultados en U/mL fueron expresados como la media del valor y su desviación estándar.

VIII. RESULTADOS

Para este estudio se evaluaron 161 muestras séricas de pacientes del Instituto de Cancerología Doctor Bernardo del Valle (INCAN), del Instituto Guatemalteco de Seguridad Social (IGSS) y pacientes referidas por médicos particulares. Dependiendo del estadio de la neoplasia intraepitelial cervical (NIC) que presentaban, las pacientes fueron distribuidas en tres grupos: 39 pacientes con NIC I, 36 con NIC II y 44 con NIC III; se incluyeron 42 pacientes con resultado de Papanicolau normal como grupo control. En cuanto al centro asistencial la mayoría de pacientes con NIC I provinieron del INCAN (61.5%), mientras que las pacientes con NIC II y NIC III provinieron mayoritariamente del IGSS (58.3% y 52.3 % respectivamente). El grupo control en su totalidad fue seleccionado del INCAN. Todas las pacientes del estudio se encontraban en un rango de edad de 15 a 50 años. La mayor parte de ellas eran originarias de la ciudad capital de Guatemala (tabla 1). Al evaluar los motivos de consulta que llevaron a las pacientes a realizarse el exámen de Papanicolau, se observó que principalmente referían: colposcopia, control de Papanicolau, molestias, flujo etc.

Tabla 1. Pacientes evaluadas para la determinación de receptores de interleucina 2 soluble (sIL2-r)

| Grupo estudiado | Edad | Centro Asistencial | | | Origen | | Total n(%) |
|-----------------------|--------------|--------------------|-----------|-------------------|--------------|---------------|------------|
| | Rango (años) | INCAN n(%) | IGSS n(%) | Particulares n(%) | Capital n(%) | Interior n(%) | |
| Pacientes con NIC I | 19-50 | 24 (61.5) | 12 (30.8) | 3 (7.7) | 23(59.0) | 16(41.0) | 39 (100.0) |
| Pacientes con NIC II | 19-50 | 13 (36.1) | 21 (58.3) | 2 (5.6) | 27(75.0) | 9(25) | 36 (100.0) |
| Pacientes con NIC III | 18-49 | 21(47.7) | 23 (52.3) | 0 (0.0) | 19(43.2) | 25(56.8) | 44 (100.0) |
| Pacientes control | 15-40 | 42(100) | 0(0.0) | 0(0.0) | 34(81.0) | 8(19.0) | 42(100.0) |

Fuente: Datos Experimentales

Asimismo, se realizó una entrevista con la cual se pudieron evaluar características sociodemográficas de las pacientes incluidas en el estudio. En la tabla 2 se observa que dichas características son similares entre los grupos.

Tabla 2. Características sociodemográficas de las pacientes evaluadas (N=161)

| Característica | Grupo | NIC I (39) n (%) | NIC II (36) n (%) | NIC III (44) n (%) | CONTROL (42) n (%) |
|-----------------------------|--------------|---------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
| Edad | | | | | |
| < 30 años | | 16(41) | 10(27.8) | 8(18.2) | 10(23.8) |
| 30-40 años | | 15(38.5) | 16(44.4) | 20(45.4) | 31(73.8) |
| > 40 años | | 8(20.5) | 10(27.8) | 16(36.4) | 1(2.4) |
| Ocupación | | | | | |
| Ama de casa | | 18(46.1) | 12(33.3) | 26(59.1) | 25(59.5) |
| Profesional Universitaria | | 0(0) | 2(5.6) | 0(0) | 1(2.4) |
| Profesional a nivel medio | | 11(28.2) | 7(19.4) | 3(6.8) | 5(11.9) |
| Otros ¹ | | 10(25.6) | 15(41.7) | 15(34.1) | 11(26.2) |
| Ingresos (Quetzales) | | | | | |
| < 1000 | | 13(33.3) | 8(22.2) | 15(34.1) | 10(23.8) |
| 1000-2000 | | 18(46.2) | 21(58.3) | 21(47.7) | 19(45.2) |
| > 2000 | | 8(20.5) | 7(19.4) | 8(18.2) | 13(31) |

¹ Operarias, comerciantes, domésticas, costureras, cocineras, conserjes, pastoras, agricultoras, cultoras de belleza, panaderas, torlilleras, mercaderistas.

Fuente: Entrevista (anexo 4).

Se observa que el 73.8% de pacientes control habían tenido una sola pareja sexual, mientras que en las pacientes con NIC el porcentaje fue menor. En el caso de pacientes con dos o más parejas sexuales, el fenómeno se presenta a la inversa, ya que el menor porcentaje se observa en las pacientes control, contrastando con las pacientes con NIC. La edad de la primera relación sexual es también una característica interesante ya que un 35.7% de pacientes control empezaron su vida sexual en una edad temprana, a diferencia de las pacientes con NIC quienes presentaron porcentajes por encima del 43%. Otro factor importante es el número de abortos, ya que si bien los datos son similares, el mayor porcentaje de pacientes con 2 abortos se presenta en las pacientes con NIC (tabla 3).

Tabla 3. Características oncológicas y ginecológicas de las pacientes evaluadas (N = 161)

| Característica | Grupo | NIC I (39) n (%) | NIC II (36) n (%) | NIC III (44) n (%) | CONTROL (42) n (%) |
|--|--------------|---------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
| No. parejas sexuales | | | | | |
| 1 | | 25 (64.1) | 17(47.2) | 22(50) | 31(73.8) |
| 2 | | 11 (28.2) | 11(30.6) | 16(36.4) | 9(21.4) |
| 3 o más | | 3 (7.7) | 8(22.2) | 6(13.6) | 2(4.8) |
| Edad primera relacion sexual | | | | | |
| 12-17 | | 17(43.6) | 16(44.4) | 25(56.8) | 15(35.7) |
| 18 o más | | 22(56.4) | 20(55.6) | 19(43.2) | 27(64.3) |
| Antecedentes familiares oncologicos | | | | | |
| Si | | 16(41) | 11(30.6) | 13(29.5) | 14(33.3) |
| No | | 23(59) | 21(58.3) | 30(68.2) | 27(64.3) |
| No refiere | | 0(0) | 4(11.1) | 1(2.3) | 1(2.4) |
| Número de embarazos | | | | | |
| 0-2 | | 20(51.3) | 15(41.7) | 7(15.9) | 20(47.6) |
| 3-4 | | 12(30.8) | 9(25) | 18(40.9) | 13(31) |
| 5 o más | | 7(17.9) | 12(33.3) | 19(43.2) | 9(21.4) |
| Número de abortos | | | | | |
| 0 | | 29(74.4) | 26(72.2) | 30(68.2) | 31(73.8) |
| 1 | | 7(17.9) | 7(19.4) | 9(20.4) | 8(19.1) |
| 2 | | 3(7.7) | 3(8.3) | 5(11.4) | 3(7.1) |

Fuente: Entrevista (anexo 4).

A todas las pacientes se les determinó los valores de receptores de interleucina 2 soluble (sIL2-r) por el método de quimioluminiscencia. Los valores de sIL2-r obtenidos en los diferentes grupos de estudio fueron comparables. El grupo correspondiente a las pacientes con NIC III presentó valores ligeramente más elevados (583 U/ml) que los observados en los otros tres grupos (tabla 4). Los valores se observaron similares para todos los grupos, presentando los pacientes con NIC III los niveles más elevados (583 U/ml). Los valores promedio de todos los grupos estudiados se encontraron dentro de los límites de referencia (223-710 U/ml).

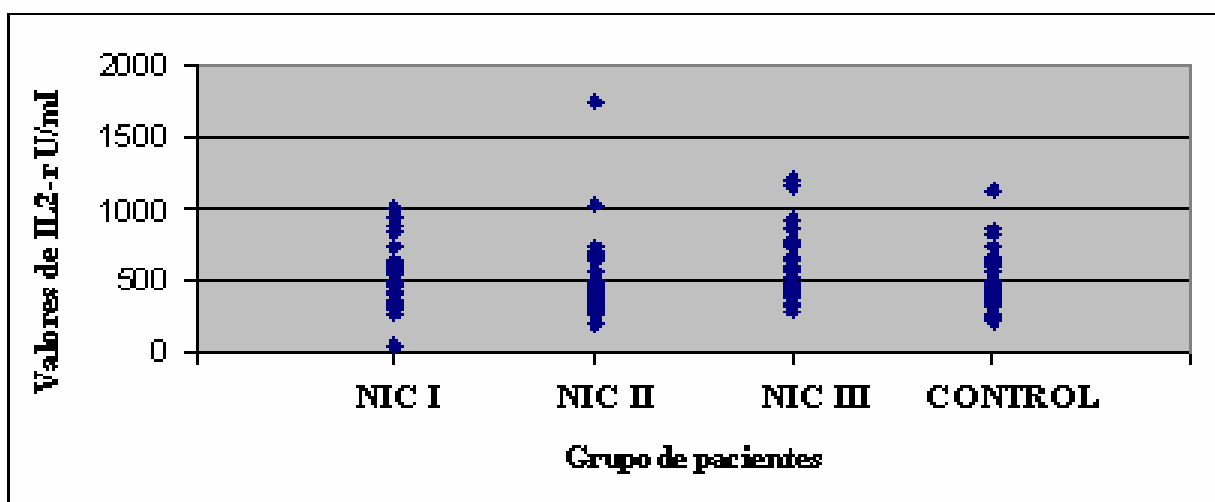
Tabla 4. Valores de sIL2-r promedio por grupo estudiado (N = 161)

| Grupo Estudiado | n (%) | Valor promedio de sIL2-r (U/mL) ¹ |
|-----------------|------------------------|--|
| NIC I | 39 ² (24.2) | 497 ± 195.5 |
| NIC II | 36 ² (22.4) | 507 ± 268.0 |
| NIC III | 44(27.3) | 583 ± 215.8 |
| Grupo control | 42 (26.1) | 498 ± 180.9 |

¹Valor de referencia 223-710 U/mL.

²Fueron excluidas 4 pacientes del grupo de NIC I y 6 pacientes del grupo de NIC II por problemas técnicos en la determinación de sIL2-r.
Fuente: Datos experimentales

Al realizar un análisis gráfico de los datos obtenidos a partir de las muestras por grupo se observa que la distribución es homogénea, presentándose determinaciones puntuales que se observan fuera del rango. Estos datos se presentan en la figura 1.

**Figura 1. Análisis gráfico de los grupos estudiados**

A pesar de que los resultados promedio permanecen dentro del rango de valores normales, 25 de las 161 pacientes evaluadas (15.5%) presentaron niveles por encima del valor de referencia (tabla 5); siendo la mayoría de ellas, pacientes con NIC III (48%). El

valor promedio de sIL2-r es similar en los cuatro grupos, aunque hay un leve aumento en las pacientes con NIC II. Sin embargo, este grupo de pacientes presentó la menor cantidad de muestras elevadas. La diferencia de valores de sIL2-r entre los cuatro grupos no fue significativa, y el porcentaje de pacientes con valores elevados fue bajo (15.5%).

Tabla 5. Pacientes con valores anormales por grupo (n=25)

| Grupo Estudiado | No. Total | n (%) | Valor promedio de sIL2-r (U/mL)¹ |
|------------------------|------------------|--------------|--|
| Pacientes con NIC I | 39 | 5 (20) | 883.4 ± 102.8 |
| Pacientes con NIC II | 36 | 3 (12) | 1170 ± 513.8 |
| Pacientes con NIC III | 44 | 12 (48) | 866.7 ± 158.6 |
| Pacientes control | 42 | 5 (20) | 859 ± 159.4 |

¹ Valor de Referencia 223-710 U/mL

Fuente: Datos experimentales.

Así mismo se evaluaron las características oncológicas y ginecológicas de cada paciente que obtuvo un resultado de sIL2-r anormal. Los datos son similares entre los cuatro grupos, observando un leve aumento en el porcentaje de pacientes control que sólo tuvieron una pareja sexual. Otro aspecto que se observa es el número de abortos, ya que las pacientes control no tuvieron ningún aborto a diferencia de las pacientes con NIC quienes por lo menos tuvieron un aborto en su vida (tabla 6).

Tabla 6. Características oncológicas y ginecológicas de pacientes con valores de sIL2-r anormales (n=25)

| Característica | Grupo | NIC I (5) n (%) | NIC II (3) n (%) | NIC III (12) n (%)d | CONTROL (5) n (%) |
|--|--------------|--------------------------------|---------------------------------|------------------------------------|----------------------------------|
| No. parejas sexuales | | | | | |
| 1 | | 3(60) | 0(0) | 4(33.3) | 4(80) |
| 2 | | 2(40) | 2(66.7) | 7(58.3) | 1(20) |
| 3 o mas | | 0(0) | 1(33.3) | 1(8.33) | 0(0) |
| Edad primera relación sexual | | | | | |
| 12-17 | | 2(40) | 3(100) | 9(75) | 3(60) |
| 18 o mas | | 3(60) | 0(0) | 3(25) | 2(40) |
| Antecedentes familiares oncológicos | | | | | |
| Si | | 2(40) | 0(0) | 3(25) | 2(40) |
| No | | 3(60) | 3(100) | 8(66.7) | 3(60) |
| No refiere | | 0(0) | 0(0) | 1(8.3) | 0(0) |
| Número de embarazos | | | | | |
| 1-2 | | 2(40) | 0(0) | 2(16.6) | 2(40) |
| 3-4 | | 2(40) | 0(0) | 5(41.7) | 0(0) |
| 5 o más | | 1(20) | 3(100) | 5(41.7) | 3(60) |
| Número de abortos | | | | | |
| 0 | | 3(60) | 1(33.3) | 7(58.3) | 5(100) |
| 1 | | 2(40) | 2(66.7) | 4(33.3) | 0(0) |
| 2 | | 0(0) | 0(0) | 1(8.3) | 0(0) |

Fuente: Entrevista (anexo 4).

En la tabla 7 se observa que existe una correlación entre la técnica de Papanicolau y la biopsia cervical del 28.2%, 13.9% y 2.3% en NIC I, II y III respectivamente. Además por lo menos 4.5% de las pacientes presentan falsos negativos ya que según la técnica de Papanicolau presentaron un frote citológico normal. Sin embargo la técnica de Papanicolau en la mayoría de casos, guió hacia un diagnóstico real y por lo tanto se logró dar un tratamiento adecuado.

Tabla 7. Correlación entre la técnica de Papanicolau y la Biopsia cervical de las pacientes evaluadas (n=161)

| Diagnóstico por Biopsia | NIC I (39) n (%) | NIC II (36) n (%) | NIC III (44) n (%) | CONTROL¹ (42) n (%) |
|---------------------------------|---------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|---|
| Frote citológico Normal | 2(5.1) | 2(5.5) | 0(0) | 13(30.9) |
| Cambios Inflamatorios leves | 3(7.7) | 0(0) | 0(0) | 29(69.1) |
| Cambios Inflamatorios moderados | 2(5.1) | 7(19.4) | 1(2.3) | |
| Cambios inflamatorios severos | 6(15.4) | 5(13.9) | 7(15.9) | |
| NIC I | 11(28.2) | 7(19.4) | 5(11.4) | |
| NIC II | 2(5.1) | 5(13.9) | 13(29.5) | |
| NIC III | 2(5.1) | 1(2.77) | 7(15.9) | |
| No refiere | 11(28.2) | 9(25) | 11(25) | |

¹ Se utilizó como criterio de inclusión pacientes con Papanicolau normal o con cambios inflamatorios leves
Fuente: Entrevista (anexo 4).

Del mismo modo se evaluó la correlación de la técnica de Papanicolau y biopsia cervical con pacientes con sIL2-r anormales, los cuales presentan también discordancia. Sin embargo, ninguno de los pacientes presentan un frote citológico normal lo cual demuestra la utilidad del Papanicolau como prueba de tamizaje (tabla 8).

Tabla 8. Correlación entre la técnica de Papanicolau y la Biopsia cervical de pacientes con valores de sIL2-r anormales (n=25)

| Diagnóstico por Biopsia Papanicolau | NIC I (5) n (%) | NIC II (3) n (%) | NIC III (12) n (%) | CONTROL¹ (5) n (%) |
|--|--|---|---|--|
| Frote citológico Normal | 0 (0) | 0(0) | 0(0) | 1(20) |
| Cambios Inflamatorios leves | 0(0) | 0(0) | 0(0) | 4(80) |
| Cambios Inflamatorios moderados | 0(0) | 1(33.3) | 1(8.3) | |
| Cambios inflamatorios severos | 2(40) | 1(33.3) | 2(16.7) | |
| NIC I | 0(0) | 1(33.3) | 5(41.7) | |
| NIC II | 1(20) | 0(0) | 2(16.7) | |
| NIC III | 0(0) | 0(0) | 1(8.3) | |
| No refiere | 2(40) | 0(0) | 1(8.3) | |

¹ Se utilizó como criterio de inclusión pacientes con Papanicolau normal o con cambios inflamatorios leves
Fuente: Entrevista (anexo 4).

Para establecer la asociación entre los resultados de sIL2-r y la biopsia, se realizó un análisis de varianza de clasificación simple, el cual permitió detectar que no existe diferencia significativa ($p\text{-value} = 0.197$), entre el valor de sIL2-r y el grado de neoplasia, habiéndose establecido un error inicial de 0.05 (anexo5). Posteriormente se efectuó un análisis de varianzas con un modelo más completo, utilizando la información proporcionada en la entrevista (anexo 4). En dicho análisis se pretendía establecer la posible asociación de alguna otra variable (condiloma, resultado de Papanicolau, raza, edad, etc.) con los valores de IL2-r considerando que dicha asociación estuviese “escondiendo” la verdadera asociación entre IL2-r y los grupos estudiados (anexo 6).

IX. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Para el año 2002 en Guatemala, en el Instituto de Cancerología Doctor Bernardo del Valle (INCAN), el carcinoma de cérvix fue la neoplasia más frecuente y afectó los grupos de edad entre 25 y 65 años con una tasa de mayor incidencia de 45 a 50 años (2). Investigaciones anteriores reportan una asociación entre sIL-2r y diferentes neoplasias, en las que se encuentran: carcinoma de mama, de estómago, de pulmón, de cérvix, leucemia, etc. En dichos estudios los valores de sIL2-r han sido proporcionales a el grado de neoplasia que presentaban los pacientes (27,28). Por estas razones se consideró pertinente determinar los valores de sIL2-r, en pacientes con lesiones cervicales pre-cancerosas y comparar su relación con la neoplasia intraepitelial cervical.

Las características sociodemográficas son similares entre los grupos. El mayor porcentaje de pacientes control (73.8%) se encuentran dentro del rango de 30 a 40 años, a diferencia de las pacientes con NIC quienes presentaron porcentajes menores (<45%) en este rango de edad. Las ocupaciones de las pacientes son diversas, siendo la mayoría de ellas amas de casa.

Las características ginecológicas y oncológicas son importantes ya que se pueden apreciar los factores de riesgo que posee cada paciente. Aunque en este estudio no se puede decir de forma concluyente que el número elevado de parejas sexuales (≥ 3) sea un factor de riesgo para tener NIC, se observan porcentajes mayores (7-22%) en comparación con las pacientes control (4.8%). Se observa un fenómeno similar con el inicio de la vida sexual, en comparación con las que comenzaron su actividad sexual por encima de los 18 años. El número de embarazos fue similar en todos los grupos, por lo que para las pacientes de este

estudio, no se considera como un factor de riesgo. Los factores mencionados anteriormente están relacionados con el Virus del Papiloma Humano (VPH) el cual es el principal agente etiológico en el cáncer cervical (25), por lo cual se explica la estrecha relación de dichos factores con la neoplasia cervical.

Se observó que los valores promedio de sIL2-r obtenidos, fueron similares entre los cuatro grupos (NIC I: 497 ± 195.5 , NIC II: 507 ± 268.0 , NIC III: 583 ± 215.8 , control: 498 ± 180.9). Esto puede deberse a que las lesiones evaluadas son pre-cancerosas y según estudios anteriores los sIL2-r presentan una elevación en pacientes con cáncer (29). Sin embargo se observa un aumento progresivo y proporcional a cada estadio de NIC, aunque todos los promedios se encuentran entre el rango de valores de referencia.

En marzo de 1999 en Costa Rica, Ung y colaboradores evaluaron los niveles de sIL2-r en neoplasia cervical. Para ésto analizaron muestras séricas de 478 mujeres: 191 con NIC I, 130 con NIC III y 37 con cáncer. De las pacientes incluídas en este estudio, 120 mujeres citológicamente normales y negativas para HPV, se utilizaron como control. Ellos encontraron que los valores de NIC I eran similares a los valores de NIC III. Sin embargo se observó diferencia entre los pacientes control y los pacientes con NIC I (4). En el presente estudio se observó un fenómeno similar, ya que todos los grupos presentaron valores parecidos, pero no hubo diferencia entre los pacientes con NIC y pacientes control, además que los niveles de sIL2-r promedio de todos los grupos se presentaron dentro de los valores de referencia (tabla 1).

De las 161 pacientes evaluadas en el estudio, 25 (15.5%), presentaron niveles de IL2-r por encima de el valor de referencia. Estudios anteriores han demostrado que IL2-r están compuestos como mínimo por 3 componentes de membrana distintos, designados como alfa (α , Tac, o p55), beta (β o p70/75) y la cadena gamma (γ , IL-2r γ) (23). Los sIL2-r se elevan en procesos neoplásicos y su producción es dependiente de activación celular. En el presente estudio se midió el componente de membrana Tac para observar si había un incremento en su concentración comparandolo con el grado de neoplasia (22). Es posible que los valores de sIL2-r esten aumentados porque haya un grado de invasión leve, que no sea significativo colposcópicamente, pero si inmunológicamente. Aunque los valores promedio de sIL2-r son similares en los grupos, se observa que el mayor porcentaje de pacientes con sIL2-r elevados (48%), se encuentran en el grupo de NIC III (carcinoma in situ de cérvix). De los procesos neoplásicos analizados en el estudio, el NIC III era el más avanzado, por lo cual puede tener un grado de invasión celular leve que haya traspasado la membrana basal y por lo tanto tener sIL2-r levemente aumentados. Sin embargo el promedio total del grupo de NIC III se encuentra dentro de los valores de referencia.

Para confirmar el diagnóstico de NIC III se puede efectuar una conización que puede ser diagnóstica o terapéutica, ya sea para predecir un avance de la enfermedad, o para remover la lesión. Dicha conización consiste en la remoción de una porción de tejido de cuello uterino en forma de cono, en donde se incluye toda la zona de transformación y así se puede obtener el diagnóstico final mediante el estudio anatomopatológico y decidir el tipo de tratamiento para la paciente (26). A las pacientes con NIC III se les efectuó un cono o una histerectomía a los cuales posteriormente se les realizó un análisis patológico. No se pudo dar seguimiento a dichas pacientes ya que algunas veces las citas para estos

procedimientos son muy espaciadas, o las pacientes regresan a su lugar de origen a efectuarse su tratamiento, por lo que el análisis patológico ya sea por la conización o por la histerectomía no pudo ser evaluado.

La tinción de Papanicolau (Pap) es la técnica de tamizaje más utilizada para la detección de carcinoma cervical. Sin embargo según los datos recolectados en este estudio, se puede observar que el Papanicolau no es completamente exacto, ya que se encontraron pacientes que presentaron diagnóstico de NIC y un Papanicolau normal o únicamente cambios inflamatorios. Esto concuerda con estudios previos en donde se reporta un porcentaje de 8 al 50% de falsos negativos (26).

Para el análisis estadístico se realizó un análisis de varianzas. Al inicio se efectuó un análisis simple obteniendo una probabilidad mayor de 0.05 (0.197). Se efectuó un segundo análisis más complejo en donde se logró corregir esta probabilidad (0.124), sin embargo esta disminución no fue significativa. Esto puede deberse a que el número de muestra para este estudio era reducido (N=161), lo que sugiere que una muestra mayor podría revelar mayor significancia.

A través de todos los análisis realizados se concluyó que no se pudo evidenciar que existiera una asociación entre sIL2-r y lesiones pre-cancerosas (NIC I, NIC II y NIC III), por lo que la hipótesis planteada al inicio de la investigación se confirma y los sIL2-r no pueden ser utilizados como una herramienta de detección de carcinoma cervical en las pacientes de este estudio. Además se observó que existen ciertos factores de riesgo que pueden influir en la obtención de carcinoma cervical.

X. CONCLUSIONES

1. No se observaron diferencias significativas en la media de los valores de receptores de interleucina 2 soluble (sIL2-r) en las pacientes incluídas en este estudio.
2. El valor de sIL2-r no puede utilizarse como predictor del grado de neoplasia intraepitelial cervical (NIC) entre las pacientes incluidas en el estudio.
3. Los promedios de valores de receptores de interleucina 2 soluble (sIL2-r) en las pacientes con NIC y las pacientes control evaluadas en este estudio se encuentran dentro de los valores de referencia.
4. Para las pacientes de este estudio, los principales factores de riesgo evaluados, asociados a neoplasia intraepitelial cervical (NIC), fueron el número elevado de parejas sexuales y el inicio de vida sexual tempranamente.
5. Para las pacientes de este estudio, el número de embarazos no se considera como factor de riesgo asociado a neoplasia intraepitelial cervical (NIC).

XI. RECOMENDACIONES

1. Se recomienda realizar estudios similares con una mayor cantidad de pacientes no solo con presencia de NIC sino con carcinoma invasivo.
2. Evaluar los niveles de receptores de interleucina 2 soluble (sIL2-r), en pacientes con carcinoma invasivo cervical para establecer valores en este tipo de neoplasia en Guatemala.
3. Realizar un estudio en el cual se de seguimiento al tratamiento de las pacientes para correlacionar de forma adecuada los resultados de los niveles de receptores de interleucina 2 soluble (sIL2-r) .
4. Incluir como pacientes control a mujeres que posean una colposcopia negativa, además de un Papanicolau normal o con cambios inflamatorios leves.

XII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Pisan P., Parkin, D M N.,and Ferlay, J. Cancer and infection: estimates of the attributable fraction . *Cancer Epidemiol Biomark Prev.* 1990; 6:387-400.
2. Instituto de cancerología doctor Bernardo Del Valle S. (INCAN) Registros estadísticos 1998-2002. INCAN. Doc. Tec. 2004.
3. Nasiell K., Roger, V., and Nasiell, M. Behavior of mild cervical dysplasia during long-term follow up. *Obstet. Gynecol.*, 1986; 67:665-669.
4. Ung A., et al. Soluble interleukin 2 receptor levels and cervical Neoplasia: Results from a Population-based Case-Control study in Costa Rica. *Cancer Epidemiol Biomark Prev.* 1999;8:249-253.
5. Wang YF. et al. Clinical significance of elevated serum soluble interleukin-2 receptor in gastric cancer. *Chin Med J (Engl)* 1994; 107(4):254-256.
6. Thomas TT, Kohane DS, Wang A, Langer R. Microparticulate formulations for the controlled release of interleukin-2. *J Pharm Sci.* 2004;93(5):1100-1109.
7. Xu J, Wang B. The serum levels of soluble interleukin-2 receptor in patients with malignant lymphocytic proliferative disorders. *Zhon Xue Ye Xue Za Zhi.* 1998; 19(2):82-84.
8. Akimoto Y, et al. Clinical significance of soluble interleukin-2 receptor in multiple myeloma. *Rin Kets.* 1995;36(11):1247-1251.

9. Abate I, et al. Tumor necrosis factor and soluble interleukin-2 receptor: two immunological biomarkers in female neoplasms. *Eur J Gynaecol Oncol.* 1992;13(1suppl):92-96.
10. Chilosi M, et al. Increased levels of soluble interleukin-2 receptor in non-Hodgkin's lymphomas. Relationship with clinical, histologic, and phenotypic features. *Am J Clin Pathol.* 1989; 92(2):186-191.
11. Filella X, et al. Cytokines (IL-6, TNF-alpha, IL-1 alpha) and soluble interleukin-2 receptor as serum tumor markers in multiple myeloma. *Cancer Detect Prev.* 1996; 20(1):52-56.
12. Ginns LC., De Hoyos A., Brown NC., Gaumont BR. Elevated concentration of soluble interleukin-2 receptors in serum smokers and patients with lung cancer. Correlation with clinical activity. *Am Rev Respir Dis.* 1990;142(2):398-402.
13. Kalmanti M, et al. Serum levels of tumor necrosis factor and soluble interleukin 2 receptor as markers of disease activity and prognosis in childhood leukemia and lymphoma. *Dep of Ped Hem/Onc Un of Cret Med Sch* 1996.
14. Saito H, et al. Serum level of a soluble receptor for interleukin-2 as a prognostic factor in patients with gastric cancer. *Onc* 1999;56(3):253-258.
15. Yang YH, Fu QH. Observation of soluble interleukin-2 receptor (sIL-2R) and tumor necrosis factor (TNF) in patients with malignant tumors of salivary gland. *Jiaoji Hosp of tra chi med Hosp* 2004.
16. Sheen-Chen SM, et al. Serum soluble interleukin-2 receptor concentrations in patients with breast cancer: a preliminary report. *Changgeng Yi Xue Za Zhi.* 1998;21(2): 133-38.

17. Liu X., H An., Jiang Y., The level of soluble interleukin 2 receptor in esophageal carcinoma patients before and after radiotherapy. *Zhonghua Zhong Liu Za Zhi.* 1995;17(2):97-9.
18. Mazur G., Frydecka I. Interleukin 2 (IL-2) and its receptor (IL2-r) in healthy individuals and with various disease states. *Acta Haematol Pol.* 1993;24(4):307-13.
19. Murphy G. Lawrence W. Lenhard R. OPS. *Oncología clínica, Manual de la American Cancer Society, Publicación científica No. 559, 2da. Ed. p. 45,154-165, 618-622.*
20. Stites D., Terr A., *Inmunología Básica y Clínica. Editorial El Manual Moderno, S.A. México., DF. 7ª. Ed. P.2,21,9,46,71,94-98,148,194,210,663,681-695,856.*
21. Delves P., and. Roitt I, . *The Immune System. N Engl J Med.* 2002;343:37-49.
22. Laurence A. et al. The soluble Interleukin-2 receptor: Biology, Function, and clinical application. *Annals of Intern Med.* 1990;113:619-627.
23. IMMULITE. IL2R. EURO/DPC Ltd., Doc. Tec. 2004. 13p. (p. 10-13).
24. Analysis of cervical cancer in Latin American and the Caribbean. Pan American Health Organization. pp. 1-28
25. Disaia PJ, Creasman WT. *Ginecología Oncológica. 4ª.ed.Ed. Mosby/Doyma libros. Madrid, España. 1995. pp2-33.*
26. Chew R. Investigación de aminas biogénicas y vaginosis bacteriana en pacientes con neoplasia intraepitelial de cérvix. 1999. pp 6-16.
27. Lissoni P., et al. Interleukin-2 receptor positive cells and circulating soluble interleukin-2 receptors in patients with solid tumors are not correlated. *Int J Biol Markers.* 1989;4(3):170-3.

28. Lissoni P., et al. The biological significance of soluble interleukin-2 receptors in solid tumors. *Eur J Cancer*. 1990;26(1):33-6.
29. Sieminska A. The value of measuring the serum level of soluble interleukin-2 receptors in lung cancer patients. *Pol Merkuriusz Lek*. 2004;16(92):188-90.
30. Hurteau JA, et al. Levels of soluble interleukin-2 receptor-alpha are elevated in serum and ascitic fluid from epithelial ovarian cancer patients. *An J Obstet Gynecol*. 1994;170(3):918-28.
31. Ferdeghini M., et al. Serum soluble interleukin-2 receptor (sIL2-r) assay in cervical and endometrial cancer. Preliminary data. *Anticancer Res*. 1993;13(3):709-13.
32. Gupta MM., et al. Circulating immune profile in patients with pre-cancer and cancer of the cervix: a cross sectional study among Indian women. *Bull cancer*. 1993;80(10):852-6.

ANEXO 1
NEOPLASIAS MALIGNAS CERVICALES EN AMERICA
ESTIMADO DE INCIDENCIA DE CASOS Y MUERTES POR PAIS EN DATOS DE
EDAD ESTANDARIZADAS POR 10000 HABITANTES

| PAIS | INCIDENCIA DE CASOS | MUERTES | TASA DE INCIDENCIA | TASA DE MORTALIDAD |
|----------------------|---------------------|---------|--------------------|--------------------|
| ARGENTINA | 2953 | 1585 | 14.2 | 7.6 |
| BAHAMAS | 31 | 13 | 22.1 | 9.3 |
| BARBADOS | 54 | 27 | 30.4 | 13.6 |
| BELICE | 30 | 11 | 39.6 | 16.8 |
| BOLIVIA | 1807 | 661 | 58.1 | 22.2 |
| BRAZIL | 24445 | 8815 | 31.3 | 11.6 |
| CANADA | 1608 | 650 | 8.2 | 2.8 |
| CHILE | 2321 | 860 | 29.2 | 10.6 |
| COLOMBIA | 5901 | 2339 | 32.9 | 13.7 |
| COSTA RICA | 424 | 197 | 25.0 | 12.1 |
| CUBA | 1586 | 730 | 23.8 | 10.6 |
| REPUBLICA DOMINICANA | 1290 | 495 | 38.4 | 15.8 |
| ECUADOR | 2231 | 892 | 44.2 | 18.6 |
| EL SALVADOR | 1041 | 387 | 40.6 | 15.8 |
| GUATEMALA | 1432 | 566 | 39.6 | 16.8 |
| GUYANA | 184 | 69 | 51.1 | 20.6 |
| HAITÍ | 2428 | 1326 | 93.9 | 53.5 |
| HONDURAS | 833 | 329 | 39.6 | 16.8 |
| JAMAICA | 489 | 209 | 43.4 | 18.4 |
| MÉXICO | 16448 | 6650 | 40.5 | 17.1 |
| NICARAGUA | 997 | 392 | 61.1 | 26.1 |
| PANAMA | 389 | 158 | 31.2 | 13.1 |
| PARAGUAY | 768 | 281 | 41.1 | 15.8 |
| PERU | 4101 | 1575 | 39.9 | 15.8 |
| PUERTO RICO | 252 | 114 | 10.3 | 4.3 |
| SURINAM | 77 | 31 | 43.8 | 18.2 |
| TRINIDAD Y TOBAGO | 215 | 97 | 33.3 | 15.0 |
| ESTADOS UNIDOS | 13230 | 6471 | 7.8 | 3.3 |
| URUGUAY | 307 | 163 | 13.8 | 7.6 |
| VENEZUELA | 3904 | 1454 | 38.3 | 15.2 |

Fuente: Ferlay *et al*: Globocan 2000,IARC

ANEXO 2

NOMENCLATURA DE LA CITOLOGÍA CERVICAL

| PAPANICOLAU | OMS | NIC | BETHESDA |
|--------------------|-----------------------------------|------------|---|
| Clase I | Normal | | Reativo a cambios reparativos |
| Clase II | Atípico | | Reativo a cambios reparativos |
| Clase III | Displasia | | Lesión intraepitelial escamosa |
| | Displasia leve | NIC I | Bajo grado |
| | Displasia moderada | NIC II | Alto grado |
| | Displasia severa | NIC III | Alto grado |
| Clase IV | Carcinoma <i>in situ</i> | NIC III | Alto grado |
| Clase V | Carcinoma invasivo/adenocarcinoma | | Carcinoma de células escamosas. Anormalidades de células glandulares |

Fuente: De vita V. Hellman S, Rosemberg S. Cancer Principles and Practice of oncology. 4ed. Philadelphia: J.B. Lippincott Company. 1993; 1171p.

ANEXO 3

DETERMINACIÓN POR QUIMIOLUMINICENCIA DE RECEPTORES DE INTERLEUCINA 2 EN PACIENTES CON NEOPLASIA INTRAEPITELIAL CERVICAL (NIC) Y CARCINOMA *in situ* DE CERVIX

HOJA DE CONSENTIMIENTO ESCRITO No. _____

YO _____ ESTOY DE ACUERDO EN PARTICIPAR EN EL ESTUDIO DETERMINACIÓN POR QUIMIOLUMINICENCIA DE RECEPTORES DE INTERLEUCINA 2 EN PACIENTES CON NEOPLASIA INTRAEPITELIAL CERVICAL (NIC) Y CARCINOMA *in situ* DE CÉRVIX, Y DECLARO QUE MI PARTICIPACIÓN ES COMPLETAMENTE VOLUNTARIA Y CONFIDENCIAL. EN ESTE ESTUDIO SE ANALIZARA UNA MUESTRA DE MI SANGRE Y SE PODRÁN UTILIZAR LOS DATOS PARA ENCONTRAR VALORES EN LA POBLACIÓN GUATEMALTECA SOBRE LOS RECEPTORES DE INTERLEUCINA 2. ESTOS RESULTADOS SERAN PROPORCIONADOS A MI MÉDICO PARA QUE SEAN DE UTILIDAD EN MI HISTORIA CLÍNICA Y ASI SABER MI PRONÓSTICO.

FIRMA _____

RESULTADO _____ VALOR NORMAL: 223-710U/MI

COMENTARIO DEL CASO:

ANEXO 4

DETERMINACIÓN POR QUIMIOLUMINICENCIA DE RECEPTORES DE INTERLEUCINA 2 EN PACIENTES CON NEOPLASIA INTRAEPITELIAL CERVICAL (NIC) Y CARCINOMA *in situ* DE CERVIX**ENTREVISTA**

Nombre: _____ No. _____

Edad: _____ Teléfono _____

Dirección _____

Estado civil _____ Es usted indígena _____ ladina _____

Cuántos embarazos ha tenido _____ Cuántos partos ha tenido _____

Ha tenido abortos, si _____ no _____ cuantos _____

Número de hijos vivos _____ Cuántos partos normales ha tenido _____

Cuántos partos por cesárea ha tenido _____

Número de parejas sexuales a lo largo de su vida _____

A qué edad tuvo su primera relación sexual _____

Edad de su primera menstruación: _____

Ingreso mensual: <Q1000 _____ Q1000-2000 _____ >Q2000 _____

Profesión u oficio: _____

Antecedentes oncológicos familiares: _____

Motivo de consulta en el INCAN _____

Diagnóstico de Papanicolau _____

No. De Patología _____ Diagnóstico de Biopsia _____

Colposcopia _____

Valor de sIL2-r _____

Otros: _____

ANEXO 5

Análisis de varianza de clasificación simple

| Origen de las variaciones | Suma de cuadrados | Grados de libertad | Promedio de los cuadrados | F | Probabilidad |
|---------------------------|-------------------|--------------------|---------------------------|---------|-------------------|
| Entre grupos | 220353.756 | 3 | 73451.252 | 1.57742 | 0.19702491 |
| Dentro de los grupos | 7310557.93 | 157 | 46564.0633 | | |

Fuente: Datos experimentales.

ANEXO 6

Análisis de varianza completo

| Origen de las variaciones | Suma de cuadrados | Grados de libertad | Promedio de los cuadrados | F | Probabilidad |
|------------------------------------|-------------------|--------------------|---------------------------|------|---------------|
| Grupo | 266666.6 | 3 | 88888.88 | 1.95 | 0.1244 |
| Condiloma | 64480.63 | 1 | 64480.629 | 1.42 | 0.2363 |
| Papanicolau | 575604.94 | 10 | 57560.49 | 1.26 | 0.2574 |
| Raza | 40051.91 | 1 | 40051.91 | 0.88 | 0.3501 |
| Antecedentes oncológicos | 85995.06 | 2 | 42997.53 | 0.94 | 0.3917 |
| Ingreso | 133955.08 | 2 | 66977.54 | 1.47 | 0.2336 |
| Edad | 5564.77 | 1 | 5564.77 | 0.12 | 0.7273 |
| Embarazos | 81202.07 | 1 | 81202.067 | 1.78 | 0.1841 |
| Estado civil | 10555.797 | 5 | 21110.159 | 0.46 | 0.8029 |
| Cesáreas | 179.86 | 1 | 179.86 | 0.00 | 0.9500 |
| Edad de la primera relación sexual | 48671.64 | 1 | 48671.64 | 1.07 | 0.3032 |

Fuente: Datos experimentales.

