

- 3 DETECCIÓN DEL VIRUS DE PAPILOMA HUMANO (HPV) EN CARCINOMA ESCAMOCELULAR DE CONJUNTIVA POR MEDIO DE LA REACCION EN CADENA DE LA POLIMERASA (PCR).
Corredor J.C., Serna A., Benavidez J., Ureta J., Drozco D.
Sección de Inmunología (+), Grupo de Oftalmología (*), Instituto Nacional de Cancerología.
Se estudió por PCR la presencia del HPV en 9 casos de carcinoma escamoceleular de conjuntiva diagnosticados en el Instituto Nacional de Cancerología, a partir de biopsias conservadas tanto congeladas como en parafina. Se emplearon iniciadores generales GP5 y GP6 que permiten amplificar un fragmento de 150pb (región L1), conservado en todos los tipos de HPV. Como control interno de la amplificación se emplearon los iniciadores PC03 y PC04 que permiten obtener un amplímero de 102pb del gen β -globina. Los productos de amplificación fueron visualizados en geles de agarosa y por hibridación no radiactiva en *dot-blot* utilizando sondas marcadas con peroxidasa y revelado luminiscente.
De los 9 casos analizados, 2 fueron positivos por hibridación, uno proveniente de una biopsia congelada y otro distinto de un bloque de parafina. La amplificación de β -globina fue efectiva en los 9 tejidos congelados y solo en 4/9 bloques de parafina, confirmando que este primero es el tejido más adecuado para PCR.
Los estudios actuales sobre tipificación de HPV, hibridación *in situ* y expresión de las moléculas de histocompatibilidad en el tejido neoplásico nos permitirán comprender mejor la asociación del HPV y de otros cofactores como la radiación ultravioleta en la génesis del carcinoma de conjuntiva.

ANALISIS DE LA RESPUESTA DE ANTICUERPOS ANTI PROTEINA E7 DEL VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO TIPO 16 EN PACIENTES CON CA. DE CERVIX. 2

Bravo M.M., Cómbita A.L., Varela A., Drozco O.
Sección de Inmunología, Instituto Nacional de Cancerología.

Para determinar las regiones de la proteína de E7/VP16 que son reconocidas por los pacientes con lesiones neoplásicas de cérvix uterino se probó por ELISA la reactividad de 249 sueros frente a 14 péptidos sintéticos que cubrían la secuencia de la proteína. Estos sueros provenían de pacientes del INC con carcinoma invasivo (80) ó con lesiones preneoplásicas (92). Los controles provenían de mujeres con citología normal de la Liga contra el Cáncer (77).

Se encontraron diferencias significativas ($p < 0.0031$) en la prevalencia de anticuerpos anti-péptido [1-20] entre el grupo Ca de Cérvix (11.3%) y el grupo control (0%); para el péptido [66-85] la prevalencia fue de 12.5% y 0%, respectivamente ($p < 0.0015$). No hubo diferencias significativas entre el grupo de preneoplasias y el control.

Los sueros positivos por ELISA y una muestra aleatoria de los sueros negativos se analizaron por inmunotransferencia empleando la proteína recombinante E7/HPV16. 88% y 64% de los sueros con reactividad hacia p[1-20] y p[66-85] respectivamente, reconocieron la proteína recombinante. La reactividad hacia la región 1-20 ha sido reportada en otros trabajos, pero para la región 66-85 sólo ha sido descrita en modelos murinos; este sería el primer reporte en pacientes con Ca de cérvix.

El uso de péptidos sintéticos y de proteínas recombinantes nos permitió definir dos regiones de E7/HPV16 reconocidas preferencialmente por los pacientes con carcinoma invasivo. Estos hallazgos permiten apreciar la interacción entre el virus y el huésped con posible valor para el diagnóstico y eventual inmunoprofilaxis de las lesiones de carácter oncogénico.

LINFOMA NO HODGKIN PRIMARIO DE MAMA: PRESENTACION DE 5 CASOS. 4

Gomez R., Karduss A., Cuéllar F., Maya L.M., Alvarez M.L., Murillo M.L., Mondragón M.C.
Sección de Hematología, Dpto Medicina Interna U. de A.-HUSV de P - Instituto de Cancerología Clínica las Americas. Medellín.

Se presentan 5 casos de Linfoma no Hodgkin (LNH) primario de mama, en mujeres entre 38 y 68 años (promedio 54.8), todos ellos de grado intermedio de malignidad, 3 difusos (2 de célula grande) y 2 nodulares(mixtos), 3 de mama derecha, 2 estadio I y 3 estadio II, ninguno con síntomas B, todos con DHL inicial normal y 2 con enfermedad local mayor de 5 cm. En 2 pacientes se hizo mamografía previa que mostró masa sin microcalcificaciones. El diagnóstico se hizo por biopsia en 4 casos, en el 5º el diagnóstico inicial fue Ca indiferenciado y se practicó mastectomía; a 2 de las 4 pacientes con Dx inicial de LNH se les hizo tumorectomía; todas recibieron poliquimioterapia (CHOP-CNOP) y radioterapia. Con seguimiento promedio de 13.8 meses (3+ a 25+), 4 pacientes se encuentran libres de enfermedad. La otra paciente falleció 12 meses después de una 2º neoplasia (Ca de recto).

El LNH representa el 0.5% de las neoplasias primarias de mama y hay descritos 2 tipos: el primero, "puerperal", bilateral, en jóvenes, generalmente Burkitt-like. El segundo unilateral, en la 6ª década de la vida, con mayor frecuencia de mama derecha y de grado intermedio de malignidad, similares a los casos presentados. Para este grupo se reportan sobrevida promedio de 47 meses, y existe otro caso reportado de sincronismo con Ca de colon. En su seguimiento se debe vigilar especialmente la mama contralateral, lugar frecuente de recaídas.

5 RESPUESTA CELULAR ANTI-PROTEINA E7 DEL VIRUS DE PAPILOMA HUMANO TIPO 16 EN CARCINOMA CERVICAL INVASIVO

Mesa M., Orozco G.

Sección de Inmunología, Instituto Nacional de Cancerología.

En este estudio se analizó la respuesta inmune contra la proteína transformante E7 del virus de Papiloma Humano tipo 16 en 33 pacientes con diagnóstico histopatológico de carcinoma cervical invasivo. Como control se empleó un grupo de 30 mujeres de la misma edad con citología normal. La respuesta celular se evaluó mediante un ensayo de blastogénesis por incorporación de Timidina tritiada de linfocitos de sangre periférica estimulados con a) 16 péptidos sintéticos que representan la secuencia completa de E7, b) sonicado de *Mycobacterium tuberculosis* cepa H37Rv c) fitohemaglutinina.

No se detectó proliferación frente a ninguno de los péptidos sintéticos en los controles ni en las pacientes, aunque fue posible detectar por inmunotransferencia anticuerpos anti-proteína recombinante E7/HPV16 en 24.2% de pacientes y 3.3% de los controles. A pesar de que los niveles de proliferación a fitohemaglutinina fueron comparables en los dos grupos, la respuesta anti-H37Rv fue positiva en 52.6% del grupo control y solo en un 30.3% del grupo de carcinoma invasivo. La ausencia de respuesta celular anti-E7 aún con evidencia de exposición previa (positividad para anticuerpos), puede deberse a una o más de las siguientes causas: inmunosupresión característica de los pacientes con carcinoma infiltrante; pérdida de memoria T por inadecuada presentación del antígeno en el contexto del complejo mayor de histocompatibilidad de clase II; falta de señales coestimuladoras como IL-2; baja sensibilidad del ensayo.

6 USO DE PROTEINAS RECOMBINANTES Y PEPTIDOS SINTETICOS EN EL ESTUDIO DE LA RELACION VIRUS DEL PAPILOMA-CANCER DE CUELLO UTERINO. Lattrow H.

En el presente trabajo se hace una revisión extensa sobre la relación virus del papiloma-cáncer de cuello uterino con especial énfasis en la importancia de las Oncoproteínas E6 y E7 de los tipos HPV 16 y 18 en la génesis y progresión del carcinoma.

Se presentan dos modelos para lograr formas inmunológicas de detección de la infección viral de carácter oncogénico. De un lado la producción de anticuerpos contra péptidos sintéticos derivados de la secuencia de E6 HPV18, en el cual a través del desarrollo de una metodología inmunoquímica muy diversa, se ponen en evidencia las ventajas y limitaciones de esta aproximación. A parte de todas las conclusiones metodológicas hechas en la Discusión, es evidente que los datos generados en este modelo muestran la bondad de esta aproximación y señalan los puntos en los cuales es necesario buscar alternativas, tales como en los de mejor conservación y exposición del antígeno en su forma natural y el uso de técnicas de un mayor contraste y sensibilidad.

De otro lado se presenta el modelo alternativo de obtención de proteínas recombinantes como fuente de antígeno que podría tener una similitud mayor a la de la proteína natural desde el punto de vista inmunológico y por lo tanto servir de fuente adecuada de inmunógeno para obtener los anticuerpos deseados. Aunque solo se presenta la reactividad contra la misma proteína inmunizante y se describe la no reactividad de los anticuerpos monoclonales anti-péptido sintético contra esta proteína recombinante, es evidente que este modelo podría suplir algunas de las dificultades encontradas con los péptidos sintéticos y sería en ocasiones complementario, permitiendo tener otro elemento de verificación de la especificidad de los anticuerpos monoclonales generados contra péptidos sintéticos.