

A.27. 788

Te 616.345-008.04
MAR

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

Facultad de Medicina

Departamento de Cirugía

BIBLIOTECA UCM



5304525745

**APLICACION DE LOS ANTICUERPOS
MONOCLONALES EN LA
CARACTERIZACION DE LOS
CARCINOMAS DE INTESTINO CRUESO**



Francisco Javier Marín Lucas

Madrid, 1993

Colección Tesis Doctorales. N.º 193/93

© Francisco Javier Marín Lucas

X - 53 - 125733 - 8

Edita e imprime la Editorial de la Universidad
Complutense de Madrid. Servicio de Reprografía.
Escuela de Estomatología. Ciudad Universitaria.
Madrid, 1993.

Ricoh 3700

Depósito Legal: M-30764-1993



La Tesis doctoral de D. Francisco Javier

Morin Lucas

titulada Aplicación de los anticuerpos monoclonales
de la caracterización de los carcinomas de intestino grueso.

Director Dr. D. JOSE LUIS BAKIBREA CANTERO.

fue leída en la Facultad de MEDICINA de la
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

el día 1 de Julio de 1992 ante el tribunal constituido
por los siguientes Profesores:

Presidente LUIS RESEA ESTEVEZ.

Vocal JOSE ANTONIO RODRIGUEZ MONTES

Vocal MARIANO MORENO AZCITA

Vocal ANTONIO JOSE TORRES GARCIA

Secretario JOSE IGNACIO NANOA GARCIA

habiendo recibido la calificación de Cum laude

(con unanimidad).

Madrid, a 1 de Julio de 1992.

El Secretario del Tribunal,

J. Nanao Garcia

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE MEDICINA**

TESIS DOCTORAL

**APLICACION DE LOS ANTICUERPOS MONOCLONALES EN LA
CARACTERIZACION DE LOS CARCINOMAS DE INTESTINO CRUESO**

Autor: D. Francisco Javier Marín Lucas
Director: Profesor D. José Luis Balibrea Cantero

MADRID 1.992

Universidad Complutense de Madrid
Facultad de Medicina
Ciudad Universitaria
28040 MADRID



Hospital Universitario de San Carlos
II Cátedra de Cirugía
Prof. José Luis Balibrea Cantero

D. JOSE LUIS BALIBREA CANTERO, CATEDRÁTICO DE CIRUGIA,
DE LA FACULTAD DE MEDICINA, DE LA UNIVERSIDAD COMPLUTENSE
DE MADRID,

CERTIFICA: Que la Tesis Doctoral "Aplicación de los anti-
cuerpos monoclonales en la caracterización de
los carcinomas de intestino grueso", realizada
por D. Francisco Javier Marín Lucas bajo su di-
rección, es apta para ser presentada ante el -
Tribunal Calificador.

Y para que conste y obre los efectos oportunos,
firma el presente certificado en Madrid, a dieci-
nueve de Mayo de mil novecientos noventa y dos.

EL DIRECTOR DE LA
TESIS DOCTORAL

Teley





UNIVERSIDAD COMPLUTENSE

FACULTAD DE MEDICINA

DEPARTAMENTO DE CIRUGIA

D. JOSE LUIS BALIBREA CANTERO, PROFESOR NUMERARIO DE LA FACULTAD DE MEDICINA Y DIRECTOR DEL DEPARTAMENTO DE CIRUGIA DE LA UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID,

CERTIFICA: Que la Tesis Doctoral "Aplicación de los anticuerpos monoclonales en la caracterización de los carcinomas de intestino grueso", realizada por D. Francisco Javier Marín Lucas, fué considerada por el Consejo del Departamento, apta para ser presentada ante el Tribunal Calificador.

Y para que conste y obre los efectos oportunos, - firma el presente certificado en Madrid, a diecinueve de Mayo de mil novecientos noventa y dos.

EL DIRECTOR DEL
DEPARTAMENTO DE CIRUGIA

Thalby



DEDICATORIA

*A mi mujer, mis padres
y mi hermana Mamen*

AGRADECIMIENTOS

Al Profesor José Luis Ballbrea Cantero director de esta Tesis Doctoral, que me ha ayudado y apoyado en todo momento dándome ánimos para terminar este trabajo.

Al Doctor Mariano Moreno Azcoita por la «paciencia» que ha tenido en la corrección, estimulándome continuamente para que finalizase con éxito y prontitud esta Tesis.

A todo el Servicio de Medicina Nuclear del Hospital Central de la Cruz Roja, encabezado por el Dr. Pey y sus colaboradores los Drs. Penfn y Dra. Balsa; Enfermeras Srtas. Rosa Perosanz, M^a. Jesús Cerracén, Millí Arnaiz, Rosa Huici, Esperanza Márquez, Sagrario Ortun; Técnicos Joaquín Romero-Toro, Emilio Díaz y M^a. Carmen Sandoval; Auxiliares Purificación Rodríguez y Marisol Jiménez, que sin su trabajo, comprensión y amistad no habría podido concluir este estudio, en especial en el primer semestre de 1.991.

Al Doctor Ricardo Martínez Cabruja, Jefe del Servicio de Anatomía Patológica que sin su apoyo y colaboración habría sido imposible la determinación de la Inmunohistoquímica.

A la Srta. Concepción Campos Asensio, Bibliotecaria del Hospital Central de la Cruz Roja de Madrid y actualmente en el Hospital Universitario de Getafe por la ayuda, comprensión y participación en la búsqueda de Bibliografía.

Al Dr. Teo Grau por su asistencia en los problemas informáticos y elaboración de gráficos.

A la Dra. Amalia Velasco, Oncólogo del Hospital Universitario de Getafe por la orientación y participación que ha tenido en la Bibliografía de los Marcadores Tumorales.

A los Drs. Ignacio Romero, Santiago Méndez y Pablo Quijano por su colaboración en la traducción de Artículos.

A la Srta. Carmen Bull Modroño Técnico del Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Universitario de Getafe por su colaboración en las preparaciones de la Inmunohistoquímica.

A mi amigo José Antonio Tortosa Mondéjar por enseñarme los principios básicos de la Estadística y poder aplicarlos en esta Tesis.

A mi cuñado Jesús Rubio por el «apoyo logístico» que en todo momento y desinteresadamente ha tenido.

A mi mujer, Ana, para la cual no han existido fines de semana, puentes ni vacaciones en los últimos meses, colaborando siempre conmigo, aguantándome y animándome en los momentos de decaimiento y desilusión.

INDICE

	Págs.
1.- OBJETIVOS	011
2.- FUNDAMENTOS	014
A.- CARCINOMA COLORRECTAL.....	015
Localización.....	015
Edad	016
Factores de Riesgo	016
Clínica	019
Diagnóstico	021
Anatomía Patológica	022
Tratamiento	024
B.- ANTICUERPOS MONOCLONALES	026
Concepto	026
Ventajas.....	027
Aplicaciones Clínicas	027
Inmunodetección	027
Inmunohistoquímica	028
Inmunoterapia.....	029
C.- MARCADORES TUMORALES	031
Concepto	031
Clasificación.....	032
Aplicaciones Clínicas	033
Marcadores Tumorales Específicos.....	035
Antígeno Carcinoembrionario (CEA)	035
Alfafetoproteína (AFP).....	037
Antígeno Polipéptido Tisular (TPA).....	037
Carbohidrato 50 (CA.50)	038
Carbohidrato 19.9 (CA.19.9)	040
3.- PACIENTES Y METODOS	043
A.- MARCADORES TUMORALES	043
Antígeno Carcinoembrionario (CEA)	044
Alfafetoproteína (AFP).....	044
Antígeno Polipéptido Tisular (TPA).....	045
Carbohidrato 50 (CA.50)	046
Carbohidrato 19.9 (CA.19.9)	046

B.- HISTOQUIMICA	047
C.- INMUNOHISTOQUIMICA	048
4.- RESULTADOS.....	050
Edad	051
Sexo	051
Clínica	051
Estadios	051
Localización	051
Recidivas	052
Fallecimientos.....	052
Marcadores Tumorales.....	052
Tablas	057
Gráficos	071
Anticuerpos Monoclonales	093
Figuras	096
5.- DISCUSION	111
MARCADORES TUMORALES	113
Antígeno Carcinoembrionario (CEA)	113
Antígeno Polipéptido Tisular	116
Carbohidrato 50 (CA.50)	117
Carbohidrato 19.9 (CA.19.9)	119
CORRELACION DE DOS MARCADORES TUMORALES	121
CORRELACION DE TRES MARCADORES TUMORALES	125
CORRELACION DE CUATRO MARCADORES TUMORALES	128
ANTICUERPOS MONOCLONALES.....	129
6.- CONCLUSIONES	131
7.- BIBLIOGRAFIA	134



OBJETIVOS

EL CARCINOMA COLORRECTAL es el tumor más frecuente del tubo digestivo y la segunda causa de muerte, por Neoplasia, en el mundo Occidental, después del Carcinoma de Mama, en la mujer (1 de cada 14 la padecerá a lo largo de su vida), y del Cáncer de Pulmón en el hombre (en España fallecen 25 Mujeres y 50 Hombres por 100.000 habitantes cada año).

Es una enfermedad común en los Países desarrollados, causada por factores ambientales, genéticos y hábitos dietéticos. Las consecuencias socio-económicas que conlleva (11.000 nuevos casos el año 1.989 en España), hace que intentemos profundizar más en su estudio para conseguir un Diagnóstico precoz con los medios y avances que en esta última década se están realizando, como son los efectuados en el Diagnóstico merced a la aparición de los Anticuerpos Monoclonales para la Oncología, así como los estudios sobre Genética que en la actualidad se están efectuando.

En Oncología con el descubrimiento de los Anticuerpos Monoclonales por Köhler y Milstein en 1.975, es donde más se ha avanzado en todos los Tumores, y en relación al Carcinoma Colorrectal más aun, ya que tan solo se disponía hasta ese momento, de tres Marcadores Tumorales Policlonales (CEA, TPA, AFP), para el Seguimiento y Pronóstico de esta Patología, con los problemas que ocasionaban de reacciones cruzadas y falsos negativos. Actualmente, por medio de los Anticuerpos Monoclonales, podemos realizar el Diagnóstico precoz, y a veces ayudar en el Tratamiento de los Tumores.

Refiriéndonos a la Enfermedad Colorrectal, el Diagnóstico por la Inmunorradiología e Inmunohistoquímica está muy avanzado, pero el Tratamiento, debido a las Inmunizaciones después de la primera dosis y la dificultad para encontrar el Anticuerpo Monoclonal adecuado sin producir efectos secundarios, hace que aun no pueda ser utilizable.

En relación a los Marcadores Tumorales, el Pronóstico, Seguimiento de los tumores y detección precoz de las Metástasis y Recidivas, han hecho que, en el Carcinoma Colorrectal, sean necesarias sus determinaciones en suero o plasma. Si añadimos que en la actualidad hay dos Marcadores Tumorales Monoclonales Específicos de esta Patología como son el Ca.50 y el Ca.19.9, además del perfeccionamiento, por medio de los Anticuerpos Monoclonales, de los anteriores Marcadores Tumorales Policlonales (CEA, AFP, TPA), nos daremos cuenta de la importancia que tienen en el estudio de esta Enfermedad.

El avance que se ha producido en Oncología con la aparición de los Anticuerpos Monoclonales que han perfeccionado los Marcadores Tumorales Policlonaes; El conseguir realizar un Diagnóstico precoz de la enfermedad y de las Recidivas; El poder ofrecer un mejor Pronóstico, Seguimiento y detección temprana de las Metástasis, además del problema socio-económico que plantea en nuestro País, es lo que nos ha llevado a realizar este PROYECTO DE TESIS DOCTORAL.

FUNDAMENTOS

CARCINOMA COLORRECTAL

El Carcinoma Colorrectal es la tercera neoplasia, en orden de frecuencia, de la población mundial, después del Cáncer de Pulmón y de Mama, siendo la incidencia más elevada en los Países Occidentales.(1)

En 1.960, alrededor de 35.000 personas en EE.UU y 9.000 en Inglaterra fallecían de esta Patología, correspondiendo al 15% de las muertes por Cáncer. (Maingot,1.964) (2). En EE. UU. el año 1.990 se han registrado 155.000 nuevos casos y más de 60.000 personas fallecen. (3,4).

En España, en 1.989, había 11.000 nuevos casos con zonas de mayor incidencia en Mallorca, Tarragona y Navarra (11-12%) y de menor en Zaragoza (6%). (5-7).

A partir de 1.960 se registró un aumento en la incidencia de esta Patología y es debido a tres causas:

- 1) Perfeccionamiento de los métodos de diagnóstico.
- 2) Prolongación de vida media.
- 3) Diagnóstico precoz.

En la actualidad la incidencia es mayor en Países Occidentales y de tasa económica más alta, correspondiendo estas zonas a América del Norte, Canadá, Australia, Nueva Zelanda y el Norte de Europa. Las de incidencia intermedia son las de Europa del Este, mientras que en América del Sur, Asia y África, las incidencias son muy bajas, aunque en los Países Latinoamericanos el patrón no es tan homogéneo. (5)

— LOCALIZACION.- Allen y cols. (8) en 1.939, refieren que el 54% de los casos se localizan en Sigma, el 9,6% en Ciego y Colon Ascendente y el 11% en Colon Transverso. En 1.945 Dukes (9) en una serie de 331 casos, encuentra 75 carcinomas en Colon derecho y 256 en el Colon izquierdo, incluyendo en el Colon derecho a Ciego, Colon Ascendente, ángulo Hepático y mitad derecha de Colon Transverso y en el Colon izquierdo a Sigma, Colon descendente, ángulo esplénico y mitad izquierda del Colon Transverso.

En 1.958 Postlithwait y cols.(10), afirman que el Recto es la zona de localización más frecuente (47,29%), siguiendo el Sigma (19,5%) y el Ciego (8,7%).

Haenszel y Correa (11) en 1.971, comprobaron que en zonas de baja incidencia, los cánceres se localizan en el Ciego y Colon ascendente, afectando más a las mujeres; mientras que en los Países de nivel de vida más elevado el cáncer se localiza con mayor frecuencia en Colon descendente, entre ángulo esplénico y región Rectosigmoidea, y lo padecen más los varones.

En la actualidad, la localización es en el Colon izquierdo (75%) más frecuente que en el derecho (25%) (12).

— EDAD.- Se puede dar en cualquier edad, pero es más frecuente en los hombres mayores de 60 años, y en las mujeres entre los 30-60 años debido a:

- 1) Factores hormonales
- 2) Embarazos
- 3) Toma de Anticonceptivos Hormonales (13)

— FACTORES DE RIESGO.-

1.-Raza.- Se ha comprobado que la Raza, en si, no es ningún factor de riesgo, influyendo solamente el estilo de vida.

En la década de 1.940, la incidencia de Cáncer de Colon en los blancos del Norte y el Oeste de los Estados Unidos era del doble que los negros del Sur, y el exceso del Cáncer de Recto era del 50%, pero actualmente las diferencias en el riesgo de padecer cáncer entre blancos y negros es mínima, indicando que lo que influye en el padecimiento del Cáncer de Colon son los hábitos ambientales y dietéticos más que la Raza.(11).

2.-Factores Genéticos.- Se ha descrito predisposición hereditaria de contraer Cáncer de Intestino Grueso en los miembros de familias con diferentes Síndromes (14).

En la Poliposis Colónica Familiar y en el Síndrome de Gardner (enfermedades de transmisión autosómica dominantes), así como en el Síndrome de Turcot (de transmisión autosómica recesiva), el riesgo de desarrollar Cáncer Colorrectal aumenta con la edad a partir de la

adolescencia, hasta llegar a afectar a casi el 100% de los que padecen el síndrome si no se realiza una Colectomía.

El Síndrome Canceroso Familiar no Polipoide es otra enfermedad hereditaria que puede ocasionar Adenocarcinomas Primarios Múltiples, localizados en Colon proximal antes de los 40 años.

Los parientes en primer grado de enfermos que padecen Cáncer Colorrectal, tienen un riesgo de 2-4 veces superior al de la población normal.

3.- Factores Ambientales.- Componentes de la Dieta:

- a) **Grasas.**- El consumo excesivo de Grasa total y grasa animal es un factor de alto riesgo (15), sin embargo la grasa vegetal (aceite vegetal) actúa como un «Protector de Riesgo».(16)

El mecanismo por el cual la grasa puede producir Cáncer de Colon se debe a las modificaciones en la secreción de los ácidos biliares, cambiando la microflora intestinal que metaboliza los derivados biliares y formando compuestos cancerígenos.

- b) **Proteínas y Carnes.**- Riboli (17) ha comprobado que la excesiva ingesta de carne es uno de los factores de riesgo, y en relación con las proteínas, a pesar de que en los Países Occidentales la mayor ingesta proviene de la carne, no se puede atestiguar con exactitud la influencia que puedan tener en el Cáncer colorrectal.

El Comité sobre DIETA, NUTRICION Y CANCER (18) señala que «Hay evidencias provenientes de estudios, que sugieren que la ingesta de proteínas puede estar asociada al incremento del riesgo de padecer Cáncer en determinadas localizaciones. A causa de la falta relativa de datos sobre la ingesta de proteínas en compensación con la cantidad de grasa, y la intensa correlación entre la ingesta de grasa y la de proteínas en la dieta de tipo Occidental, el Comité es incapaz de llegar a una conclusión definitiva sobre el efecto independiente de las proteínas».

- c) **Fibra Dietética y alimentos con contenido de fibra.**- No se ha podido llegar a conclusiones definitivas sobre el efecto protector de las fibras pues existen numerosas discrepancias entre los diversos autores (19), aunque son más proclives a dar el carácter de protector a algún componente más específico que por la fibra total.

4.- Alcohol.- Antiguamente el consumo excesivo de cerveza y alcohol se consideraba como un factor de riesgo elevado, pero en la actualidad se encuentra en discusión el «efecto-riesgo» que puede tener el alcohol.

5.- Reproducción Femenina.- Han comprobado que al aumentar el número de embarazos a término disminuye el riesgo, calculándose que las nulíparas son más propensas a padecerlo en la proporción de 3-1 en relación con las mujeres que han tenido hijos. Este hecho se ha explicado por los niveles de estrógenos endógenos durante la vida reproductiva de las mujeres que influyen en la secreción de bilis (13).

6.- Obesidad.- En diferentes estudios se ha podido observar que la obesidad, especialmente en el hombre, puede ser un factor de riesgo debido a que una ingesta de «calorías no gastadas» conduce a la obesidad por exceso de ingesta calórica y falta de ejercicio para eliminar las calorías sobrantes (20). Si un obeso realiza ejercicio y gasta sus calorías, el riesgo disminuye considerablemente.

7.- Antecedentes Patológicos.-

a) Antecedentes de Pólipos.- Los Adenomas de Colon (tubulares, vellosos y tubulovellosos), especialmente los vellosos, son lesiones precancerosas (21), existiendo evidencias de su potencial premaligno porque:

- 1) La distribución de estas lesiones polipoideas y del Carcinoma a lo largo del Colon es similar, localizándose en Recto-Sigma.
- 2) Los Adenomas son Histológicamente idénticos a los de la Poliposis Familiar, enfermedad precancerosa.
- 3) La secuencia Adenoma-Carcinoma se reconoce microscópicamente con cierta frecuencia, así:
 - a) Pólipos aparentemente benignos poseen en su seno un carcinoma invasor microscópico.
 - b) En el 20% de las piezas quirúrgicas de Colon o Recto extirpadas por Adenocarcinoma, existen Pólipos benignos asociados.(12)

La extensión y severidad de la displasia del epitelio de recubrimiento, así como el tamaño del tumor y el número de pólipos, también influyen en su malignización.

- b) Otras enfermedades, como la Colitis Ulcerosa o la Enfermedad de Crohn, pueden desarrollarlo. (22).

En la Colitis Ulcerosa el riesgo de malignización es entre 7 y 11 veces más frecuente que en la población normal y, en especial, cuando el cuadro ha empezado en edad infantil, siendo muy infrecuente cuando comienza a partir de los 60 años (12).

El Adenocarcinoma de intestino delgado se ve en la enfermedad de Crohn con una frecuencia de 60-300 veces más que en la población normal (23), desarrollándose en personas más jóvenes que las que sufren el Adenocarcinoma de intestino delgado de forma habitual. En relación con el Cáncer Colorrectal la malignización es mucho menor que el de la Colitis Ulcerosa (20-35%).

También existe relación entre antecedentes de Cáncer de mama y Cáncer de endometrio (7%-20%) con Carcinoma Colorrectal.

- c) Patología Biliar previa.- En diferentes modelos de experimentación han comprobado la actividad carcinogénica de algunos componentes de la bilis (24), suponiendo que las personas colecistectomizadas podían tener un riesgo más elevado de desarrollar Cáncer de Intestino Grueso debido al flujo biliar continuo en el tubo digestivo. Una revisión detallada realizada por Friedman y cols. (25), no demostraron relación evidente entre colecistectomía y riesgo de padecer Cáncer Colorrectal.
- d) Radiación.- En mujeres radiadas por padecer problemas Ginecológicos y Espondilitis Anquilosante, los riesgos que existen para padecer Cáncer de Intestino Grueso son más elevados en la proporción de 3-1 con el resto de la población normal (26).

— CLINICA Y DIAGNOSTICO.- La localización de la tumoración es fundamental para la Clínica, Diagnóstico y el Pronóstico, siendo la más frecuente en Recto y Sigma (75%), Colon Derecho (15%) y Colon Transverso y Descendente (10%). (27)

Vamos a describir los síntomas:

- a) Sangre en Heces.- En Colon izquierdo aparece en forma de Rectorragia y en Colon derecho como hemorragias ocultas.

b) **Astenia y Disnea**- Se producen como consecuencia de la anemia crónica que comporta la pérdida de sangre, siendo los ancianos los más afectados.

c) **Cambio de ritmo intestinal**.- Suele ser en forma de estreñimiento, pero a veces pueden aparecer diarreas o falsas diarreas. El estreñimiento se produce más en las neoplasias de Colon izquierdo por oclusión cuando el tumor ocupa más de la mitad de la luz intestinal.

d) **Meteorismo**.- Es debido a que el tumor ocluye una parte importante de la luz intestinal, en especial si es de Colon izquierdo. Si es de Colon derecho es muy difícil que aparezca a no ser que la válvula ileocecal sea competente y también por ser más ancho.

e) **Dolor**.- Es de características cólicas e intermitente si es de Colon izquierdo y constante y soportable, si es de Colon derecho, acompañándose generalmente de borborismos así como de plenitud postprandial, mejorando el enfermo cuando ventosea o defeca.

f) **Pseudooclusión intestinal**.- Se produce por la mayor o menor oclusión de la luz intestinal. Es más frecuente en el Colon izquierdo que en el derecho.

g) **Tenesmo**.- Es la sensación de ocupación existente en el recto. Consiste en tener ganas de defecar y se debe a que el peristaltismo intestinal continúa, pero las heces no pueden pasar a través de la luz intestinal.

h) **Obstrucción intestinal**.- Es más frecuente en el Colon izquierdo que en el Colon derecho. Se produce por el cierre total de la luz intestinal siendo un síntoma de mal pronóstico, aunque si se consigue extirpar la tumoración este no varía en relación con el grado de Dukes correspondiente.

i) **Síntomas Generales**.- Son las consecuencias de padecer un Síndrome Paraneoplásico y son Astenia, Anorexia, Pérdida de Peso, Caquexia, etc.

j) **Complicaciones**.- Fundamentalmente son tres: Perforación, Oclusión Intestinal y Hemorragia.

La Perforación puede ser: Libre, Localizada o con Fistula. Se produce:

1) **A nivel del tumor y como consecuencia de su propagación a través de la pared del Colon. Es más frecuente en el Colon derecho y suelen producir adherencias a**

órganos vecinos, constituyendo una peritonitis circunscrita o localizada con formación de absceso pericólico a nivel del tumor. La Sintomatología es de dolor a nivel del proceso inflamatorio, fiebre elevada y afectación del estado general, apreciándose a la palpación tumoración a nivel de la perforación.

- 2) A distancia del tumor en el Colon proximal distendido. Es más frecuente en el Cáncer de Colon izquierdo y se debe a la necrosis producida en la pared motivada por la distensión, en especial cuando la válvula ileocecal es competente. La Perforación suele ser en Ciego y ángulo esplénico y la sintomatología consiste en dolor abdominal intenso, defensa generalizada y evolución rápida hacia un estado de Shock séptico por Peritonitis Fecaloides.

La Obstrucción Intestinal aguda es más frecuente en el Colon izquierdo (Sigma) que en el derecho, siendo muy rara en la ampolla rectal. La Sintomatología consiste en distensión abdominal, dolores cólicos y vómitos tardíos. A la exploración se aprecia, por auscultación, un aumento del peristaltismo, y en la historia previa se encontrarán antecedentes con cuadros de estreñimiento y pérdida de peso. Suele producirse por la impactación de un fecaloma sobre la estenosis tumoral, por una invaginación colocolica o por la obstrucción de la luz producida por el propio tumor.

La Hemorragia suele ser más frecuente en los Carcinomas de Colon izquierdo (Recto y Sigma) en forma de Rectorragia, que en los de Colon derecho, como Melenas y Hemorragias ocultas. Es debido a la ulceración de la tumoración, siendo expulsada la sangre con las heces en el momento de la defecación.

En la Perforación y la Obstrucción el Tratamiento adecuado será el Quirúrgico (Urgente), mientras que en la Hemorragia solo lo será cuando sea incoercible.

— DIAGNOSTICO.—

1.-Enema Opaco.- La sensibilidad del enema Opaco en buenas manos, puede ser del 90%.(2). Para ello la preparación del Colon debe de ser muy completa. La negatividad de esta exploración, a pesar de realizarse en condiciones óptimas, no descarta absolutamente la posibilidad de una neoplasia o lesión preneoplásica.

2.-Endoscopia.- Pueden ser: Brectoscopia, Sigmoidoscopia y Colonoscopia. Nos permite detectar cualquier tipo de lesión, determinar el tamaño y localización y tipificarla

mediante biopsias seriadas para así poder llegar al Diagnóstico Anatomopatológico y efectuar la intervención quirúrgica adecuada.(28)

3.-**Ecografía.**- El fundamento que tiene no es como diagnóstico, aunque a veces pueda observarse la tumoración, sino para localizar metástasis, especialmente las hepáticas que pueden ser detectadas por este procedimiento desde 1-1'5 cms. La Ecografía por vía intrarrectal (29-30) sirve para la observación locorregional de los tumores así como de los ganglios y posibles metástasis regionales.

4.-**TAC.**- Como en el caso anterior servirá para determinar las metástasis, en especial las retroperitoneales, así como la extensión locorregional del tumor, habiéndose mostrado de gran utilidad en el Diagnóstico de las recidivas locales en el Cáncer de Recto.

5.-**Rx.símples de Tórax y Abdomen.**- Es de utilidad para apreciar las oclusiones intestinales, invaginaciones y perforaciones, así como para observar las metástasis pulmonares.

6.-**Marcadores Tumorales.**- Los Marcadores Tumorales Monoclonales no son determinantes en el Diagnóstico del Carcinoma Colorrectal, pero acompañados de pruebas clínicas pueden hacer sospechar patologías malignas como, por ejemplo, un CEA elevado en un enfermo que tenga Rectorragias o hemorragias ocultas inducirá a pensar en un Cáncer Colorrectal.(31).

— **ANATOMIA PATOLOGICA.**- El tumor más frecuente es el Adenocarcinoma (90%), siguiéndole el Carcinoma mucinoso, mucocelular (en anillo de sello) y el de células pequeñas.

El Estudio Anatomopatológico de la pieza quirúrgica da una información importante para establecer el grado de diseminación del tumor, así como del pronóstico. La Clasificación más aceptada es la que propuso Dukes (32) en 1.932 y que luego ampliaría tres años más tarde.

Divide estos tumores en tres grupos:

ESTADIO: A.- Tumores limitados a la pared del intestino, sin que exista extensión hacia los tejidos extracolónicos y extrarrectales, sin metástasis ganglionares.

B.- Tumores extendidos por continuidad directa hacia los tejidos extrarrectales y extracolónicos, sin invadir ganglios linfáticos.

C.- Son tumores que ya han invadido los ganglios linfáticos.

Más adelante Turnbull (33) en 1.967, introdujo un nuevo Estadio (D), que incluye los tumores de Colon y Recto con metástasis a distancia (Hígado, Pulmón, Cerebro, Oseas).

Hay otras muchas clasificaciones como la del TNM para el cáncer de Colon y Recto (34) o la de Jass (35), pero en la actualidad la más usada es la de Astler y Coller (36).

CLASIFICACION:

- Estadio A.- El tumor es extramucoso, no llegando a la muscularis mucosae.
- Estadio B.- El tumor invade la muscularis mucosae, pudiendo llegar a la serosa y rebasarla, pero sin existir metástasis linfáticas. Se subdivide en:
- Estadio B₁.- El tumor afecta a la muscularis mucosae, pero no la sobrepasa.
- Estadio B₂.- El tumor afecta a toda la pared, pudiendo rebasarla.
- Estadio C.- El tumor produce metástasis linfáticas. Se subdivide en:
- Estadio C₁.- El tumor no sobrepasa la capa muscular propia.
- Estadio C₂.- El tumor ocupa todo el espesor, pudiendo rebasarla.
- Estadio D.- Se incluyen los tumores que han sufrido diseminación peritoneal y metástasis a distancia.

La Diseminación del Carcinoma de Colon y Recto se realiza:

1) Vía Linfática. A través de los linfáticos que acompañan a los vasos sanguíneos, siendo en el Cáncer de Colon los: paracólicos, intermedios (a lo largo de las arterias), principales (raíz de arterias mesentéricas) y latero-aórticos y pre-aórticos.

En el Cáncer de Recto la diseminación puede ser: Ascendente (hemorroidal superior y mesentérica inferior), Lateral y Descendente (hemorroidales media e inferior).

2) Vía sanguínea Por medio de la Porta al Hígado y los de tercio inferior de Recto, a través de las hemorroidales inferiores -cava inferior.

3) Por contigüidad.- Es frecuente y produce invasión o perforación en vísceras vecinas.

4) Siembra peritoneal.- Es poco frecuente pero muy grave ya que significa la imposibilidad de realizar tratamiento radical.

5) Propagación intraluminal por implantación en otros puntos del intestino.- En las piezas de resección cólica por Cáncer, se comprobó un contenido celular neoplásico intraluminal grande que se negativizaba en los sectores aferente y eferente si se colocaban en ellos ligaduras que aislasen la zona tumoral.(12). Estos implantes tendrían más facilidad para aparecer en el lugar donde existe una zona cruenta, de aquí la frecuencia con que concurren sobre la propia línea de anastomosis, explicando también los casos de recidiva tumoral sobre la cicatriz de la Laparotomía, de una hemorroidectomía practicada con posterioridad o sobre una fisura de ano.

TRATAMIENTO.- El de elección es el Quirúrgico y puede ser: Radical y Paliativo.

Tratamiento Radical.-

1) Colon derecho.- Si el tumor tiene esta localización se realizará una Hemicolectomía derecha que consiste en reseca Ciego, Colon Ascendente, Angulo Hepático y porción derecha del Colon Transverso, extirpando los ganglios linfáticos que acompañan a los vasos sanguíneos.

2) Colon izquierdo.- Se reseca porción izquierda de Colon Transverso, Angulo Esplénico, Colon Descendente y Sigma extirpando los ganglios linfáticos. Se denomina Hemicolectomía izquierda.

3) Colon Transverso.- Se reseca Colon Transverso y Angulos Hepático y Esplénico con extirpación ganglionar. Se denomina Colectomía Transversa.

4) Cáncer de Recto.- Hay dos tipos de Cirugía:

a) Abdominoperineal.- Se realiza en dos tiempos: Abdominal y Perineal denominándose operación de Miles (37) y consiste en reseca todo el Recto, incluido el ano, y los esfínteres.

b) Cirugía conservadora de esfínteres.- Incluye las siguientes Técnicas:

1) Resección Anterior. Consiste en realizar una Hemicolectomía Izquierda reseca la parte proximal del Recto y anastomosando el Colon Transverso al

tercio medio de la ampolla rectal. En la actualidad puede verse facilitada esta Técnica por la Sutura Mecánica.

Cuando el tumor está situado en el tercio inferior se denomina Resección Anterior Baja resecano las aletas laterales del Recto.

- 2) Resección de Arrastre Abdominal.- Han sido restablecidas por Turnbull (38), consistiendo en realizar la misma técnica anterior, pero al disecar el recto por debajo del tumor se everta la ampolla rectal. A continuación el cabo proximal se pasa a través del recto evertido dejándose fuera durante 6-10 días, amputando el colon sobrante en un segundo tiempo y suturando las mucosas rectal y cólica e introduciendo la anastomosis en la pelvis.
- 3) Resección con anastomosis posterior o perineal.- Se realiza la resección abdominal tradicional, colocando posteriormente al enfermo en decúbito lateral. Se extirpa el cóccix y se disecciona la ampolla rectal, anastomosando bajo visión directa el Colon y la Ampolla Rectal.(39)

TRATAMIENTO PALIATIVO.- Si no se puede extirpar el tumor se realizarán Bypass entre el intestino proximal al distal de la lesión para así tratar la obstrucción producida, o Colostomías de descarga. Si el tumor puede ser Extirpado se harán resecciones segmentarias tanto en Colon como en Recto.

Como actuaciones complementarias al Tratamiento Quirúrgico tenemos la Quimioterapia y la Radioterapia.(40-42).

ANTICUERPOS MONOCLONALES

La Inmunología, al influir en todas las áreas de la Medicina, con el descubrimiento de los Anticuerpos Monoclonales por Khöler y Milstein (43) en 1.975 provoca un gran avance en todo el ámbito de la Biomedicina, y de forma especial en el Diagnóstico, Pronóstico y Tratamiento del Cáncer.

— CONCEPTO.— Cuando una sustancia extraña penetra o se inyecta en el cuerpo de un vertebrado, uno de los aspectos de la consecuente respuesta es la secreción de Anticuerpos por parte de ciertas células Plasmáticas, como son los Linfocitos B (médula ósea), T (Timo) y las células Facilitadoras o presentadoras (Antigen presenting cells).

Los Anticuerpos son moléculas de Inmunoglobulina que reconocen la forma de los determinantes situados en la superficie de la sustancia extraña, Antígeno, y se unen a ellos. La combinación del Anticuerpo con el Antígeno desencadena ciertos procesos capaces de neutralizar y eliminar la sustancia extraña, aunque la respuesta del Anticuerpo a un Antígeno típico es muy heterogénea.

En el bazo de un ratón o un hombre hay hasta un millón de estirpes celulares distintos de Linfocitos B, precursoras de las células Plasmáticas, y aunque todas derivan de un tronco celular común, cada estirpe adquiere la capacidad de fabricar, independientemente, un Anticuerpo que reconoce a un determinado Antígeno distinto. Cuando se inyecta un agente inmunizante a un animal, responde elaborando Anticuerpos dirigidos contra todas las moléculas Antigénicas del material inyectado y los distintos determinantes de un solo antígeno, produciendo numerosos y diferentes anticuerpos que se acoplan, más o menos bien, a un mismo determinante, siendo muy difícil de separar totalmente los distintos anticuerpos, por cuya razón los antiseros convencionales contienen mezclas que difieren de un animal a otro.

Khöler y Milstein (43) lograron fusionar células de mieloma de ratón con linfocitos de bazo de ratones inmunizados con un determinado antígeno. Las células del mieloma híbrido resultante o «HIBRIDOMA», expresaban tanto la propiedad del linfocito de producir Anticuerpos Específicos, como el carácter inmortal de las células mielómicas.

Cada célula Híbrida puede clonarse y cada clon produce grandes cantidades de un Anticuerpo Específico para un solo determinante antigénico. A su vez los clones pueden conservarse indefinidamente, y en cualquier momento tomarse muestras de ellos para su cultivo o inyección en animales, con el fin de obtener Anticuerpos Monoclonales a gran escala.

Podemos describir el Anticuerpo Monoclonal «como un reactivo químico, bien definido, que puede reproducirse a voluntad, en contraste con un antisuero convencional que es una mezcla variable de Especies Químicas y nunca se puede reproducir cuando se agota el manantial original» Milstein, 1.980.(44)

A partir de ese momento han podido prepararse Anticuerpos Monoclonales Específicos contra componentes singulares de cualquier mezcla compleja, y pueden producirse cantidades ilimitadas de los distintos Anticuerpos para columnas inmunoabsorbentes. Este método permite descomponer una mezcla de sustancias totalmente desconocidas en sus partes integrantes. Se inmunizan los animales con la mezcla a analizar obteniéndose clones Híbridos, y los Anticuerpos derivados de cada clon sirven para separar los componentes de la mezcla en forma secuencial.

— VENTAJAS.- A) Mejoría técnica en la dosificación

B) Detectar Antígenos Tumorales.- Inyectando extractos tumorales de un tumor determinado a un ratón, en lugar de un Antígeno conocido, generan Anticuerpos frente al Antígeno o Antígenos determinados, desapareciendo las reacciones cruzadas que producían los Anticuerpos Policlonales.

— APLICACIONES CLINICAS.- Permiten:

- a) Reconocer las células cancerosas (Inmunodetección)
- b) Detectar el tejido tumoral (Inmunohistoquímica).
- c) Ejercer acción Citotóxica (Inmunoterapia).

I) INMUNODETECCION.- Consiste en la inyección de un Anticuerpo Monoclonal marcado con un Isótopo Radioactivo (I131, I125, Tc99 etc.), permitiendo con gammagrafía la localización del tumor así como las Recidivas y Metástasis.

En el Carcinoma Colorrectal, Kenneth y Cols.(45) inyectaron el Anticuerpo Monoclonal HT-29-15 marcado con I131. Lo estudiaron en 23 pacientes y

comprobaron que, donde por gammagrafía existía depósito, en un 100% de los casos se correlacionaba con biopsia positiva de la zona, así como que las metástasis se marcaban perfectamente. La imagen gammagráfica la obtuvieron a las 24-72 horas de la inyección, debido a que una gran proporción del Marcador inyectado se diluye en el tejido sano, dando imágenes falsas si se realiza antes de ese tiempo.

Otros autores (46,47) han conseguido los mismos resultados inyectando Anticuerpo purificado CEA de cabra, extraído de Adenocarcinoma de Colon humano con ^{1131}I o ^{99}Tc .

La Inmunodetección es de gran utilidad en el momento actual.

II) INMUNOHISTOQUIMICA.- Con esta técnica se trata de poner de manifiesto mediante los Anticuerpos Monoclonales Específicos, la existencia de Antígenos tumorales de la pieza a estudiar. Si a ello unimos las alteraciones morfológicas, nos permite caracterizar mejor el tumor en los casos en que con la Anatomía Patológica convencional es difícil de establecer.

Autores como Willian W. Johnston y cols.(48) así como Carrasquillo y cols.(49), comprobaron la eficacia del Anticuerpo Monoclonal B-72.3 en la Citología, Preparaciones Tumorales y PAAF, obteniendo una efectividad del 100% en Adenocarcinomas de Mama y Colon y del 90% en derrames, no marcándose en células benignas, Melanomas, Linfomas, células grandes Pulmonares, Tiroides etc., considerando que el Anticuerpo Monoclonal es muy importante para el Diagnóstico Citológico de los tumores, realizando en su laboratorio más de 1.000 muestras (según el autor) con muy buenos resultados, por lo que estiman que debe realizarse de rutina en la citología clínica.

Los Anticuerpos Monoclonales Específicos de Adenocarcinoma como el B72.3 se utilizan en:

1) **Histopatología:**

- a) Diagnóstico diferencial de neoplasias malignas indiferenciadas de células grandes. Confirman el Diagnóstico de Carcinoma y excluyen Melanomas y Linfomas.
- b) Diagnóstico diferencial de neoplasias malignas de células pequeñas indiferenciadas.

Confirman el Diagnóstico de Carcinoma y excluyen Oats-cell, Carcinoides, Linfoma y Sarcoma.

c) Diagnóstico diferencial de Mesoteliomas con Carcinoma Pulmonar de células grandes pobremente diferenciadas.

2) Citología:

a) Infusiones.- Confirman el diagnóstico de neoplasia sobre Mesoteliomas benignos, y de Carcinoma sobre Linfoma, Leucemia, Melanoma, Sarcoma o Mesotelioma.

b) Células tumorales ocultas que con métodos convencionales no podemos diagnosticar.

c) PAAF.- Tiene las mismas indicaciones que en la Histopatología (50-54).

III) INMUNOTERAPIA.- Consiste en la administración de un Anticuerpo Monoclonal vehiculado por un agente terapéutico, realizándose la acción Quimioterápica por:

a) Destrucción celular mediada por complemento tras reacción antígeno-anticuerpo monoclonal.

b) Destrucción de factores de crecimiento tumoral y de sus receptores.

c) Transporte de isótopos a dosis tumoricidas de radiación.

d) Transporte de toxinas proteicas, tipo Ricina, y citotoxinas, como alfa-amanitina.

e) Transporte de quimioterápicos.

f) Transporte de agentes biológicos como el Interferon.

En trabajos realizados por Toshio y cols.(55) emplearon el Anticuerpo Monoclonal A7, de los esplenocitos de ratón inmunizados contra el Cáncer Colorrectal humano. Lo usaron como transportador del agente terapéutico para el Cáncer de Colon. Los fármacos que se usaron fueron: la mitomicyna(MMC) y neocarzinostatín (NCS), formando los compuestos A7-MMC y A7-NCS. Los resultados, tanto en la investigación con ratones como en humanos (41 pacientes), fue realmente alentadora, pues en 39 casos no se ocasionaron efectos secundarios importantes y se redujo, parcialmente, el tumor. Donde no causaron beneficio fué en pacientes con múltiples metástasis pulmonares o peritoneales, ya que de 8 enfermos tan solo en tres se produjo reducción del tumor.

En lo que todos los autores están de acuerdo es, que los Anticuerpos Monoclonales ofrecen unas grandes posibilidades para tratar pacientes con enfermedades malignas, cambiando el punto de vista del Tratamiento del Cáncer para el futuro. (56).

Sirven para clasificar enfermedades e identificar células malignas que por métodos convencionales no se pueden lograr, empleándose fundamentalmente en Investigación, Diagnóstico (Inmunohistoquímica, Inmunorradiología, Inmunodetección) y Tratamiento del Cáncer (57-69).

Como decía Milstein (44) en su Estudio del año 1.980: «Se estaba trabajando con mucho rigor en Terapia directa cuya aplicación inmediata era la inmunización pasiva (inyección de un anticuerpo al paciente), en contraste con la inmunización activa, en que un antígeno estimula la respuesta de anticuerpos del propio paciente».

En Terapia tumoral, Milstein (44) consideraba dos funciones fundamentales:

- 1) Drogas Tóxicas (reforzando la acción de la droga).
- 2) Fabricación de Anticuerpos Antitumor que localizaran el tumor y atacaran a las células malignas.

Los problemas que se encuentran en la actualidad son:

- a) No tener suficientes Anticuerpos plenamente purificados.
- b) Gran producción de efectos secundarios con inmunización a una posterior dosis. No se pueden dar dosis repetidas como en los tratamientos convencionales porque se produce inmunización, siendo en Hematología donde se han conseguido mejores resultados pues es donde más se ha investigado.

MARCADORES TUMORALES

Se denomina Marcador Tumoral a aquellas sustancias de carácter Bioquímico producidas o inducidas por la célula neoplásica que reflejan su crecimiento y/o actividad, permitiendo conocer la presencia, evolución, pronóstico y respuesta terapéutica de un tumor maligno.

Para poder evaluar correctamente su utilidad y eficacia, hay que tener en cuenta la:

- 1) Sensibilidad
- 2) Especificidad

El Marcador Tumoral ideal sería aquel cuya presencia indicara siempre la existencia de un tumor maligno (Especificidad 100%), y que al mismo tiempo, fuese detectable cuando existiese Cáncer (Sensibilidad 100%).

Para ser considerado un buen Marcador Tumoral, exigiremos dos circunstancias:

- a) Que sea fácilmente detectable
- b) Obtener una buena rentabilidad.

En relación con lo primero es imprescindible que aparezca en el suero humano, pues de otro modo, la obtención sería muy dificultosa y no se podría realizar el Diagnóstico precoz de la neoplasia. Con respecto a lo segundo, habrá que comprobarlo en el momento que se estudie y evaluarlo sucesivas veces. Así conseguiremos de él una gran rentabilidad. (70)

La mayoría de los Marcadores Tumorales ni son ideales ni son sintetizados exclusivamente por el tumor, detectándose en el suero y otros líquidos biológicos en ausencia de cáncer, por lo que su empleo, así como su interpretación, no es fácil ni sencillo. Por tal motivo, sus determinaciones habrá que analizarlas de forma muy correcta, valorando enfermedades benignas concomitantes.

La concentración de Marcador Tumoral a nivel periférico dependerá de:

- 1) Número de células productoras.- El Marcador Tumoral es sintetizado por las células neoplásicas. Cuantas más células malignas productivas existan mayor será la síntesis y

liberación al torrente circulatorio. De ahí la relación de: aumento valor normal/ extensión tumoral (metástasis a distancia).

2) Vascularización tumoral.- Cuanto mayor sea la vascularización del tumor o la facilidad de paso del Marcador Tumoral a la circulación general, mayores serán los valores que logremos detectar.

3) Biología Tumoral.- Rápida velocidad de crecimiento.

4) Metabolismo del Marcador Tumoral.- Puede detectarse en enfermedades no malignas, como la endometriosis (se eleva el Ca.125) sin que exista un Carcinoma de Ovario, por lo que para aprovechar más su Sensibilidad y Especificidad, debemos saber cuando puede estar alterado.

5) Vida media Plasmática.- La vida media de eliminación del Marcador Tumoral de la circulación varía desde horas a varios días. Por ejemplo, en el caso del CEA en Patología Colorrectal con preoperatorios patológicos, podremos sospechar persistencia tumoral si a los 5 días después de Cirugía continúa con valores elevados.(70)

— CLASIFICACION DE LOS MARCADORES TUMORALES.- La mayoría de las clasificaciones tienen un interés didáctico-académico, pero ninguna está realmente aceptada.

Desde el punto de vista práctico y de acuerdo a su Especificidad, se clasifican en:

1) Marcadores Tumorales de alta Especificidad.- Son los que tienen claras diferencias en su concentración sérica ante la existencia de tumor maligno, detectándose en condiciones normales o en determinadas situaciones fisiológicas siendo su Sensibilidad muy elevada, apareciendo en la mayoría de los pacientes con un determinado tipo de tumor maligno.

Dentro de este grupo están la B-HGC (placenta), la B-glicoproteína asociada al embarazo y la Calcitonina.

2) Marcadores Tumorales de Especificidad intermedia.- Son los más frecuentes y entre ellos se encuentran el CEA, CA.50, CA.125, CA.19.9 etc.

Estos Marcadores no son Específicos de Cáncer siendo detectables a bajas concentraciones en sujetos normales y ligeramente elevados en algunas enfermedades benignas.

Tienen menor Sensibilidad que los anteriores, no detectándose en todos los pacientes con algún tipo de tumor maligno. Con niveles cuantitativos continuados marcan la evolución del tumor, pero si existen variaciones con cifras altas y bajas indiscriminadamente muestran patología benigna.

3) Marcadores Tumorales de baja Especificidad.- Solo conocen la evolución del tumor o la posible aparición de metástasis en un determinado tejido y pueden dar niveles muy elevados en enfermedades benignas (70).

— APLICACION CLINICA DE LOS MARCADORES TUMORALES.- La mayoría de las investigaciones sobre Marcadores Tumorales se realizan para que, de una forma cualitativa o cuantitativa, podamos seguir la evolución de una Neoplasia desde que ha sido diagnosticada y posteriormente, si es posible, extirpada para conseguir la curación. De esta manera se conseguirán mejores respuestas al tratamiento encaminadas a mejorar la supervivencia.

APLICACIONES:

1) Diagnóstico precoz en grupos de alto riesgo.- En los pacientes que por sus condiciones autosómicas pueden llegar a desarrollar una determinada enfermedad, los Marcadores Tumorales Específicos de esas Patologías ayudan a realizar un diagnóstico precoz, como por ejemplo en los tumores trofoblásticos por degeneración anaplásica del tejido de la placenta que se desarrollan después de un embarazo molar, aborto o embarazo ectópico.

La B-HGC permite conocer precozmente, las enfermas en las que esa Mola Hidatiforme ha degenerado a Coriocarcinoma, y en las que debe aplicarse un tratamiento Quimioterápico. Asimismo, la AFP nos puede orientar en el diagnóstico de Carcinoma primitivo de Hígado de elevado riesgo en los enfermos cirróticos.

2) Diagnóstico de Naturaleza.- Los Marcadores Tumorales, per se, no pueden realizar un Diagnóstico pero pueden orientar a conseguirlo. Por ejemplo, un CEA elevado en paciente con Rectorragias y Hemorragias ocultas nos puede hacer sospechar un Cáncer Colorrectal. La dosificación de Marcadores Tumorales puede tener valor en el diagnóstico de algunas neoplasias que son de origen desconocido.(70)

3) Tumor Locorregional.- Una vez conocido el tumor, la utilización de los Marcadores Tumorales se centra en aportar la máxima información posible sobre las características

de la célula tumoral, y de acuerdo a los resultados que se obtengan conseguir un pronóstico y/o instaurar una terapia adecuada, siempre acompañado de la Anatomía Patológica y las exploraciones complementarias que den opción a conocer las metástasis. La determinación del CEA, Ca.50 y Ca. 19.9, aporta una buena información pronóstica en el Carcinoma Colorrectal, como el Ca.125 y CEA en el Ca. de mama.

4) Diagnóstico precoz de recidiva tumoral.- Desde el momento de la extirpación a los enfermos se les controla periódicamente de acuerdo con protocolos, a fin de asegurar la radicalidad del tratamiento y detectar precozmente recidivas. Para ello se precisa de un Marcador Tumoral de alta Especificidad y la valoración de varios. En ningún caso debe utilizarse uno solo.

Evitando cometer errores se emplearán dos criterios:

- a) Para considerar Recidiva o extirpación incompleta las determinaciones preoperatorias tienen que ser más elevadas de lo normal. Cuando permanecen altas en el Postoperatorio a los 7 días, se repiten a los 15 por si el enfermo tuviese alguna enfermedad concomitante benigna (infección, hepatopatía, etc).
- b) No debe evaluarse un solo Marcador Tumoral sino varios.

El primer signo de Recidiva en el Carcinoma Colorrectal suele ser la elevación del CEA, Ca.50 y Ca.19.9. intentándose realizar el diagnóstico precoz porque permite prolongar la supervivencia y mejorar la respuesta al tratamiento.

5) Tumor diseminado.- Los Marcadores Tumorales sirven para observar el carácter evolutivo del proceso permitiendo evaluar la eficacia terapéutica considerándolos individualmente, pues en pacientes con la misma patología las determinaciones pueden ser completamente dispares.

Los resultados de los Marcadores Tumorales no siempre serán indicativos de la gravedad, pero la modificación de sus valores harán sospechar, individualmente, la evolución tumoral, por lo que se trata de conseguir Marcadores Tumorales Específicos que realicen el diagnóstico precoz de las neoplasias por Inmunodetección o la detección de Recidiva en suero.(70)

— MARCADORES TUMORALES MONOCLONALES MAS ESPECIFICOS EN EL CARCINOMA COLORRECTAL.—

1) ANTIGENO CARCINOEMBRIONARIO (CEA).- Fue descubierto por Gold y Freedman (71) el año 1.965 en el tejido colónico humano con transformación cancerosa.

Comprobaron que no solo existía en el tejido colónico neoplásico, sino en otros tramos del tubo digestivo así como en Hígado y Páncreas, pero no en tejidos normales ni en neoplasias no derivadas del endodermo, por lo que se le etiquetó como Antígeno Carcinoembrionario.

Más adelante los estudios de Martin y cols.(72) con métodos muy sensibles (Radioinmunoanálisis-RIA), confirmaron que la diferencia entre la mucosa normal y tumoral era cuantitativa y no cualitativa. Asimismo Thompson y cols. (73), en 1.969, introdujeron la determinación del CEA por RIA, método por el que se logró aumentar la posibilidad de detectar concentraciones plasmáticas pequeñas de este Marcador Tumoral (ng/ml).

El CEA es un Antígeno epitelial que se encuentra en el Colon normal. Su composición es una Glicoproteína con un peso molecular de 200.000 Daltons. El 40% de la molécula la constituye un polipéptido y el 60% Carbohidratos.(74). No es una sustancia homogénea, sino que constituye una familia de moléculas cuya heterogenicidad depende de su porción glucídica. El mayor inconveniente es su escasa Especificidad.

Puede aparecer en enfermedades inflamatorias (Crohn, Colitis ulcerosa), elevándose en la primera hasta un 43% y en la segunda hasta un 38% con niveles inferiores a 10 ng/ml., así como en Adenomas Velloso, Pólipos, Megacolon tóxico y Pancreatitis. Es debido a que el CEA se produce en el epitelio de la mucosa intestinal pero donde tiene mayor Especificidad es en el Colon.

Desde el descubrimiento de los Anticuerpos Monoclonales por Khöler y Milstein en 1.975 (43), las Técnicas Monoclonales son de gran ayuda para la discriminación de los valores anormales del CEA, ya que los Anticuerpos Monoclonales usados carecen de reacción cruzada, fundamentalmente con el NCA2, causante de las elevaciones de este Marcador Tumoral por causas no tumorales y evidenciadas por Técnicas Policlonales, como han comprobado los estudios realizados por Mach, (75) el año 1.972, y Von Kleist (76) en 1.973, entre otros autores, observando que varios antígenos de la familia del CEA reaccionaban cruzadamente con el CEA Específico tumoral y que dependían de tejidos gastrointestinales

benignos y células sanguíneas (NCA) (77), del epitelio normal de los canaliculos biliares (BGPI) (78), del meconio (79) o heces normales (80).

La determinación del CEA en el Preoperatorio es imprescindible para poder seguir la evolución de la enfermedad, y detectar las posibles recidivas dada la gran Sensibilidad que este Marcador tiene en el Carcinoma de Colon, demostrando algunos autores (81) una elevación del 70%-75% en el Preoperatorio cuando se realiza el Diagnóstico, siendo aún mayor (85%) si hubiese metástasis Hepáticas. La Especificidad de la prueba es de alrededor del 70% (82) y nos puede dar un índice pronóstico tan importante en el preoperatorio como los propios Estadios de Dukes.

La determinación seriada del CEA como máximo cada dos meses, nos puede indicar una Recidiva meses antes de la aparición clínica con un valor predictivo del Test negativo del 91% (83), y una Sensibilidad en la Recidiva de hasta el 90% para Staab y cols (84). Los primeros programas de «second look» guiados por los valores del CEA en Carcinoma Colorrectal lograron un índice de reseabilidad del 27-43% después de una elevación del CEA durante varios meses, siendo Martin y cols.(85) los que basándose en ello, disminuyeron el periodo de espera de 1 a 4 meses ante una elevación postquirúrgica del CEA, obteniendo un índice de reseabilidad del 78%. Más adelante, autores como Attiyeh y cols.(86), el año 1.981, consiguen una reseabilidad del 43% sobre un total de 32 «second look».

Se puede afirmar que:

- 1) La importancia del CEA es cuantitativa y no cualitativa.
- 2) No es útil como «screening» en las neoplasias intestinales.
- 3) Tampoco es útil ante la sospecha de neoplasias gastrointestinales (sin haber utilizado previamente otros procesos diagnósticos), ni para el seguimiento de enfermedades benignas (Colitis ulcerosa, Crohn etc.).
- 4) Puede usarse ante la sospecha de neoplasias (sin haberse podido confirmar por otras técnicas exploratorias) y en el seguimiento bajo tratamiento quimioterápico.

El CEA debe determinarse en las siguientes situaciones:

- a) En el Preoperatorio, una vez confirmada la Neoplasia.
- b) En el Postoperatorio
- c) En el seguimiento periódico postoperatorio después de hacerse Cirugía radical.

2) ALFAPROTEÍNA (AFP)- Es una Glicoproteína de un peso molecular de 70.000 Daltons sintetizada por las células del Hígado fetal y del saco vitelino. Presenta unas concentraciones altas en el suero fetal y desaparece rápidamente después del nacimiento durante el primer año de vida hasta alcanzar las concentraciones del adulto. Su valor en Oncología arranca de los trabajos de Tatarinov y cols.(87) en 1.964, que la descubrieron en pacientes afectos de hepatomas.

Estudios realizados por Parra y cols.(88) demuestran que es muy Específica en Hepatomas, Tumores Hepáticos, Diagnóstico prenatal de las malformaciones del tubo neural, metástasis hepáticas, cirrosis hepáticas etc..En relación con el Cáncer Colorrectal, Jalanko y cols.(89) afirman que inclusive en metástasis hepáticas se eleva más el Ca.19.9 que la AFP, pero en el diagnóstico de sospecha y seguimiento de tumores hepáticos la AFP tiene una Sensibilidad del 80%.

Hay otros autores (90,91) que no encuentran una elevación significativa de este Marcador Tumoral en la patología tumoral extrahepática aun en los estadios más avanzados, considerando al CEA y al Ca.19.9 mucho más sensibles en todos los estadios del Cáncer Colorrectal.

La AFP es actualmente una sustancia de enorme interés Oncológico, y de su conocimiento va a obtenerse información de gran utilidad en la práctica diaria.

3) ANTIGENO POLIPEPTIDO TISULAR (TPA).- Es un Marcador obtenido por Bjorklund y cols. (92) en 1.957 a partir de extractos de la mezcla de diferentes tumores, encontrándose en el sistema retículo endoplasmático y en la membrana de las células con elevada actividad mitótica. Se puede medir en sangre y en otros líquidos del organismo reflejando el grado de crecimiento del tumor, teniendo aplicaciones similares al CEA.

Su composición es una Glicoproteína de 45 KD de biología desconocida, que aumenta en el suero de pacientes con diversos tipos de tumores y en patologías no tumorales como hepatopatía, diabetes y enfermedades autoinmunes, midiéndose con el RIA de doble Anticuerpo (Anticuerpos de caballo Anti-TPA y Anticuerpos de conejo Anti-Ig de caballo.(93).

Es una sustancia derivada de carcinomas humanos. La homologación ha sido mostrada entre el TPA y ciertas queratinas del sistema filamentososo intermediario de las células, siendo estas citoqueratinas características del epitelio de los tejidos internos, y la TPA sérica de una proliferación carcinomatosa, estando ligados los aumentos de sus valores a la invasión

tumoral. Es un Marcador Tumoral general que confirma las metástasis tumorales en numerosos órganos elevándose en todo tipo de Neoplasias, principalmente en el Carcinoma Colorrectal (87%), el de Estómago (77%) y el de Páncreas (100%).

El límite de la normalidad oscila entre 50-90 U/L. y no se sabe su mecanismo de elevación, pero en los tumores de mama y hematológicos se ha demostrado una evidente relación entre los niveles sanguíneos del Marcador y la actividad proliferativa de las neoplasias. En las digestivas tiene una elevada positividad, inclusive más que el CEA.

En el Cáncer Colorrectal se le relaciona con los Estadios de Dukes, teniendo una Especificidad entre el 38%-50% en los Estadios A, B y C y del 9% en el D. Cuando hay metástasis los niveles aumentan debido a la relación que existe entre la extensión del tumor y su actividad proliferativa.

Tiene una escasa Sensibilidad en las neoplasias digestivas por lo que no sirve como «screening». La relación entre los valores y niveles preoperatorios y postoperatorios solo tiene importancia orientadora, suponiendo su normalización en el Postoperatorio que la extirpación ha sido completa.

4) ANTIGENO CARBOHIDRATO 50 (CA.50).- Con la introducción de la tecnología del Hibridoma por Köhler y Milstein (43), se han identificado distintos antígenos asociados a tumores. Uno de ellos es el Antígeno Carbohidrato 50 (Ca. 50), que es un gangliósido que aparece en la línea del Adenocarcinoma Colorrectal COLO 205.

Fuercn Lindholm y cols. (94) en 1.983 los que observaron que el C-50 era altamente reactivo contra las células colónicas y no reaccionaba contra los antígenos linfocitarios ni contra las células mielónicas, reconociendo dos cadenas diferentes de Hidratos de Carbono, el Lewis sializado y la Lactotetraosa sializada, desconocida aparentemente, obteniendo el Anticuerpo Monoclonal L'ACM C-50 después de la inmunización con una línea celular COLO 205 de un Adenocarcinoma Colorrectal.

El Antígeno CA.50 está definido como: "el Anticuerpo Monoclonal C-50, isotipo IgM, que se une a un isótopo presente en dos estructuras hidrocarbonadas distintas: el sialosil Lewis (que puede presentarse tanto en gangliósidos como en glicoproteínas) y la sialosil-lactotetraosa (identificado como un gangliósido)".

Nilsson (95) en 1.983, estudió la distribución del material reactivo, encontrando que el determinante antigénico se asociaba a Glicolípidos y a Glicoproteínas de alto peso molecular y que la forma gangliósida del determinante se encontraba en más del 90% de los Carcinomas, así como en tejidos normales pancreáticos, gástrico y de vesícula biliar, pero no así en la mucosa colónica normal.

Más adelante en 1.984 Nilsson y cols.(96), descubrieron que el Ca.19.9 y el Ca.50 reconocían isotipos comunes, pero muestran diferencias que afectan a su Especificidad tumoral, comprobando que el Ca.50 reacciona contra antígenos provenientes de pacientes Lewis negativos y es una IgM, mientras que el Ca.19.9 es una IgI.

Holmgren y cols.(97) comprobaron la elevación del Ca.50 en muchos pacientes con diferentes tumores malignos, el 75% en cáncer de útero, 26%-67% en Cáncer de próstata etc. Con la poca experiencia que se tiene en la actualidad, hace que los diferentes autores estén realizando estudios comparativos con distintos tipos de patología para intentar sacar conclusiones, aunque en los referidos a Carcinoma de Colon, conjuntamente con el Ca.19.9 y CEA.

Así, Bruhn y cols.(98), cuando asocian al CEA el test del Ca.19.9 o del Ca.50, la Sensibilidad subía al 81% para el Cáncer Colorrectal, comprobando que si se había resecaado el tumor el Ca.50 bajaba, pero si se había realizado intervención paliativa se estabilizaba para luego aumentar.

Otros autores como Genollá y cols.(99), realizaron un estudio del Ca.50 en el Carcinoma Colorrectal comparándolo con los niveles de:

- a) Enfermos sanos
- b) Enfermedades benignas no hepáticas
- c) Enfermedades benignas hepáticas
- d) Neoplasias colorrectales.

Observaron que el Ca.50 no parece ser muy útil para el diagnóstico del Carcinoma Colorrectal, sin embargo los niveles del antígeno se correlacionan con el Estadio correspondiente. En el seguimiento de las neoplasias de colon así como en las recidivas, es muy útil.

Otros autores como Jalanko y cols.(100), afirman que el Ca.50 y Ca.19.9 son más Específicos que el CEA en enfermedades colorrectales, a pesar de que los valores que él

encontraba de Especificidad en los Estadios A y B era del 25%, y en el Estadio C del 49%, Paganuzzi y cols.(101), encueniran una Especificidad del 64%.

En general, todos los autores están de acuerdo en que el Ca.50 tiene buena Especificidad para el Carcinoma Colorrectal, y unido a otros Marcadores Tumorales para el Pronóstico, Seguimiento, determinación de Recidivas y Monitorización del Tratamiento.

5.- ANTIGENO CARBOHIDRATO 19.9 (CA.19.9).- Es un Anticuerpo Monoclonal, el 1116NS-19.9, descubierto por Koprowski y cols. (102) por hibridación de una célula mielomatosa de ratón y linfocitos B del mismo animal estimulados por un Antígeno, la SW1116, de una estirpe celular proveniente del Carcinoma Colorrectal humano y que reacciona contra un oligosacárido, un gangliósido con capacidad antigénica, el Ca.19.9, encontrado en el glicocáliz de células tumorales gastrointestinales, caracterizado por su elevación en los Carcinomas Colorrectales y gástricos donde es más sensible que el CEA, siendo muy útil en el seguimiento del tratamiento y despistaje de Recidivas, así como en la determinación de metástasis hepáticas y en la evolución de las pancreatitis agudas o crónicas.

En el año 1.982 fué considerado como un nuevo Marcador Tumoral que puede ayudar en el Diagnóstico, Pronóstico y determinación de Recidivas, después de los trabajos realizados por Sears y cols.(103), siendo descubierta por Magnani y cols. en 1.982 (104) la relación con el grupo sanguíneo de Lewis, realizando la diferencia con el Ca.50, ya que los pacientes Lewis positivos reaccionan con el Antígeno Ca.19.9, no así el Ca.50., así como que se producía en tejidos gastrointestinales benignos y malignos.

Con técnicas de Inmunohistoquímica fue encontrado en Carcinomas de Vesícula Biliar, Estómago, Colon y Páncreas, no encontrándose en Hígado (Hepatomas), apareciendo en tejidos normales gastrointestinales como antígeno celular, lo que explica la elevación moderada en algunos pacientes con enfermedades benignas (105). Otros autores lo encontraron en el cáncer pancreático con un valor predictivo del 99,4%. (106).

En cuanto al Postoperatorio, varios autores (107-109) afirman que el Ca.19.9 por si solo, no tiene valor propio en cuanto a detectar posibles Recidivas, pero unido al CEA el valor que puede alcanzar es hasta del 90% en los Carcinomas Colorrectales.

El Ca.19.9 en el Cáncer Colorrectal es muy buen Marcador Tumoral para Pronóstico,

Seguimiento y determinación de Recidivas, y unido a otros Marcadores los niveles de Sensibilidad y Especificidad aumentan considerablemente.

Con todos estos antecedentes podemos afirmar que los Marcadores Tumorales tienen que realizarse con Técnicas Monoclonales, para así evitar las reacciones cruzadas (NCA2 en el CEA) causantes de la elevación de las determinaciones por enfermedades no tumorales, siendo imprescindibles en el Seguimiento, Pronóstico y detección de Metástasis y Recidivas en el Carcinoma Colorrectal.

PACIENTES
Y
METODOS

Hemos efectuado un estudio prospectivo de 100 enfermos consecutivos con *Carcinoma Colorrectal* ingresados en el Hospital Central de la Cruz Roja de Madrid en los Servicios de Cirugía General y Torácica y Cirugía de Aparato Digestivo. Han sido excluidos catorce pacientes. *Nueve por padecer proceso Oncológico avanzado con metástasis hepáticas y cinco por realizar solamente cirugía paliativa no resectiva.*

Las intervenciones quirúrgicas han sido de Hemicolecotomía Derecha (22), Sigmoidectomía (11), Resección tipo Hartman (6) Resección Anterior (37), Resección Anterior Baja (12) y Amputación Abdominoperineal (12) con extirpación de las cadenas ganglionares paracólicas, Intermedias (íleo-cólica, cólica derecha, media e izquierda), principales (raíz de arterias mesentéricas) y aórticas (lateroaórtica y preaórtica) dependiendo de la localización del tumor, y realizando el estudio Anatomopatológico por separado de cada una de ellas así como de los rodetes proximal y distal cuando se ha utilizado sutura mecánica.

El estudio Anatomopatológico ha sido efectuado por el método convencional de Hematoxilina y Eosina y por estudio Inmunohistoquímico de Inmunoperoxidasa con el Anticuerpo Monoclonal B72,3, comparando dichos procedimientos y utilizando la Clasificación de Dukes (32) modificada posteriormente por Turnbull (33) y complementada por Astler-Coller (36).

Los Marcadores Tumorales Monoclonales ANTIGENO CARCINOEMBRIONARIO (CEA), ALFAFETOPROTEINA (AFP), ANTIGENO POLIPEPTIDO TISULAR (TPA), CARBOHIDRATO 50 (CA.50) y CARBOHIDRATO 19.9 (CA.19.9) han sido correlacionados y estudiados en:

- 1) Preoperatorio (un día antes de la intervención)
- 2) Postoperatorio a los siete días
- 3) Postoperatorio a los dos meses
- 4) Postoperatorio a los seis meses

A).- MARCADORES TUMORALES MONOCLONALES.-

En todos los casos la sangre se extrae por punción venosa dejándola coagular y separando el suero mediante centrifugación. En el tubo de extracción no se pondrá heparina. Las muestras pueden guardarse durante 5 días a una temperatura de 2°-8° y durante más tiempo si la congelación es de -20°, evitándose las descongelaciones repetidas.

- 1) **ANTIGENO CARCINOEMBRIONARIO (CEA).**- El utilizado es el PHARMACIA CEA RIA 100 (Laboratorio PHARMACIA) que es un análisis Inmunorradiométrico de dos sitios que emplea dos Anticuerpos diferentes.

METODO DE PRUEBA (manual).- Cada determinación debe hacerse por duplicado, tanto para los patrones como para las muestras, preparándose una curva standard para cada determinación y evitando que las soluciones se derramen sobre las paredes de los tubos.

- 1) Numerar los tubos (Standard, muestras y actividad total).
- 2) Añadir 100 µl. de Standard y muestras de pacientes en cada tubo correspondiente.
- 3) 100 µl. de Anti-CEA 1125 (color de codificación azul) en todos los tubos. Cerrar el tubo de actividad total hasta determinar la Radioactividad.
- 4) Mezclar agitando la gradilla. Incubar por 3 horas a temperatura ambiente.
- 5) 100 µl. de Anticuerpos (color de codificación amarillo) en standard y muestras de pacientes.

Realizamos control, que consiste en comprobar que el contenido de los tubos Standard y muestras son de color verde, no así el de actividad total.

- 6) Mezclar agitando la gradilla. Incubar por 30 minutos a temperatura ambiente.
- 7) Añadir 2 ml. de suspensión de decantación en los tubos Standard y muestra. Agitar el frasco antes de usarlo para homogeneizar la suspensión.
- 8) Incubar por 30' a temperatura ambiente.
- 9) Centrifugar por 10' a 1.500xg. Decantar los tubos de inmediato con un solo movimiento y dejarlos invertidos 30'' sobre papel absorbente.
- 10) Determinar la Radioactividad

Los valores normales por este método son de 4'5 ng/l. en los no fumadores y 7'7 ng/l. en los fumadores.

- 2) **ALFAFETOPROTEINA (AFP).**- PHARMACIA AFP RIACT (Laboratorio PHARMACIA) es un ensayo Inmunorradiométrico (IRMA) basado en Anticuerpos Monoclonales.

Método empleado.-

- 1) Numerar todos los tubos
- 2) Pre lavar los tubos de Anti-AFP con 2 ml. de solución de lavado.
- 3) Añadir 50 µl. de Standard, controles y muestras de pacientes en cada tubo correspondiente.
- 4) Agitar durante 15' a temperatura ambiente.
- 5) Añadir 2 ml. de solución de lavado y decantar. Repetir dos veces.
- 6) Añadir 50 µl. de Anti-AFP marcado con I125 en todos los tubos.
- 7) Agitar durante 30' a temperatura ambiente.
- 8) Añadir 2 ml. de solución de lavado y decantar. Repetir dos veces.
- 9) Medir Radioactividad.

La radioactividad es directamente proporcional a la concentración de AFP en la muestra dentro del rango de trabajo del ensayo, siendo los valores normales según este método de hasta 9 KU/L. (110-112).

- 3.- **ANTIGENO POLIPEPTIDO TISULAR (TPA).**- El producto empleado es el Prolifigen TPA IRMA (Laboratorio PROLIFIGEN) que es un test radiométrico de tipo Sanwich con doble determinación.

Método utilizado.-

- 1) Numerar todos los tubos.
- 2) Añadir a cada tubo 100 µl. de Standard (del suero del paciente o del suero de referencia TPA IRMA).
- 3) Añadir 100 µl. de diluyente TPA IRMA a cada tubo.
- 4) Añadir Anti-TPA marcado con I125 a cada tubo.
- 5) Incubar durante 2 horas con agitación
- 6) Lavar 3 veces con 2 ml. de suero salino.
- 7) Añadir 200 µl. de trazador a cada tubo (la solución es de color rojo).
- 8) Incubar durante 17-20 horas a temperatura ambiente.
- 9) Se lava 3 veces con 2 ml. de solución salina.
- 10) Medir Radioactividad

Los valores normales son de hasta 95 U/L. por este método radiométrico (113-1163).

- 4) CARBOHIDRATO 50 (CA.50).- El material empleado es el RIA - GNOST - CA.50 fabricado por BEHRINGWERKE, Marbury (RFA) y comercializado en Francia por HOESCHT-BEHRING. Método utilizado.-

- 1) Numerar todos los tubos.
- 2) Añadir 50 µl. de Standard y muestras en sus tubos correspondientes.
- 3) Añadir 200 µl. de Buffer en cada tubo
- 4) Agitación durante 2 horas a temperatura ambiente.
- 5) Añadir 1 ml. de solución de lavado en cada tubo, aspirar y lavar con 1 ml.
- 6) Añadir 200 µl. de Anti-CA.50 marcado con I125 en cada tubo.
- 7) Agitación durante dos horas a temperatura ambiente.
- 8) Añadir 1 ml. de solución de lavado en cada tubo, aspirar y lavar con 1 ml.
- 9) Medir radioactividad

Los valores normales con este método son de 19 U/ml. para el 90% percentile, y de 25 U/ml. para el 95% de percentile.

- 5.- CARBOHIDRATO 19.9 (CA.19.9).- Hemos utilizado el ELSA - CA.19.9., del Laboratorio CIS BIOINDUSTRIES (Compagnie INDUSTRIE S.A., FRANCE).

Método utilizado.-

- 1) Numerar todos los tubos
- 2) Añadir 200 µl. de Buffer en todos los grupos de tubos ELSA.
- 3) Añadir 100 µl. de Standard, sueros control o muestras en los tubos correspondientes.
- 4) Mezclar las muestras con un agitador tipo Vortex.
- 5) Incubar 3 horas a 37°.
- 6) Lavar todos los tubos como sigue:
 - a) Aspirar todo el contenido.
 - b) Añadir 3 ml. de agua destilada en cada tubo.
 - c) Repetir dos veces (aspirar y lavar).

- 7) Añadir 300 µl. de trazador Monoclonal
- 8) Mezclar con Vortex.
- 9) Incubar 3 horas a temperatura ambiente.
- 10) Lavar todos los tubos como sigue:
 - a) Aspirar todo el contenido
 - b) Añadir 3 ml. de agua destilada en cada tubo.
 - c) Repetir dos veces (aspirar y lavar).
- 11) Medir Radioactividad.

La Radioactividad ligada a L'ELSA es proporcional a la cuantía de Ca.19.9 inicialmente presente en el ensayo, siendo los valores normales por este método muy variables, aconsejando el propio Laboratorio que se hagan determinaciones y considerando como normal hasta 19 U./ml. (117-122).

B) HISTOQUIMICA.-

Hemos utilizado la Clasificación de ASTSLER-COLLER (36) que consiste en:

- Estadio A.-** El tumor es extramucoso, no llegando a la muscularis mucosae.
- Estadio B.-** El tumor invade la muscularis mucosae, puede llegar a la serosa y rebasarla, pero sin existir metástasis linfáticas. Se subdivide en:
- Estadio B₁-** El tumor afecta a la muscularis mucosae, pero no la sobrepasa.
- Estadio B₂-** El tumor afecta a toda la pared y la puede rebasar.
- Estadio C.-** El tumor produce metástasis linfáticas. Se subdivide en:
- Estadio C₁-** El tumor no sobrepasa la capa muscular propia.
- Estadio C₂-** El tumor ocupa todo el espesor y la puede rebasar.
- Estadio D.-** Se incluyen los tumores que han sufrido diseminación peritoneal y metástasis a distancia.

El método de tinción que se ha empleado para el diagnóstico Anatomopatológico convencional es el de Hematoxilina y Eosina:

METODO DE HEMATOXILINA Y EOSINA

- 1.- Fijación de la pieza en formol al 10%.
- 2.- Inclusión en Parafina.
- 3.- Cortes de 5 μ .
- 4.- Desparafinado en estufa y Xilol.
- 5.- Hidratación en alcoholes de gradación decreciente.
- 6.- Lavar en agua corriente.
- 7.- Hematoxilina de Carazzi semioxidada. Dejar 10'
- 8.- Lavar en agua corriente.
- 9.- Eosina - Y- amarillenta. Dejar 5'.
- 10.- Deshidratar en alcoholes de gradación creciente.
- 11.- Xilol durante 1'.
- 12.- Montar en Eukitt.

El Anticuerpo Monoclonal utilizado (B72.3) (Laboratorio BTI) es una glicoproteína asociada a Antitumor humano 72. La preparación está hecha usando técnicas Monoclonales Standard en ratones. El método de Tinción empleado es de la INMUNOPEROXIDASA que consiste en:

TECNICA INDIRECTA (mouse) - MONOCLONAL INMUNOPEROXIDASA

- 1) Cortes de parafina finos de 4-5 μ en portas con Cromagel.
- 2) Estufa hasta que los cortes se desparafinen.
- 3) Hidratar las preparaciones con: Xilol - Alcohol 100%-PBS.
- 4) Peroxidasa endógena (98 cc. de metanol + A.Oxigenada (40 volúmenes). Se deja durante 10'.
- 5) Lavar en PBS dos / tres veces.
- 6) Digestión enzimática. Se realiza con 5 mg. de pepsina + 1,25 ml. de CLH 0,001 N.
- 7) Lavar en PBS dos / tres veces.
- 8) Suero no inmune de cerdo en Ovoalbúmina. Se ponen: 285 μ l. de Ovoalbúmina + 15 μ l. de suero no inmune.

La Ovoalbúmina consiste en: 0,1% de Azida sódica en 100 de PBS + 1 gr. de Albúmina. Se deja 25' y no se lava.

- 9) Anticuerpo primero 1/40 µl. en Ovoalbúmina. Dejar 30
- 10) Lavar PBS dos / tres veces.
- 11) Anticuerpo segundo-mouse inmunoglobulins (1/40 µl. en PBS). Dejar 45'.
- 12) Lavar en PBS
- 13) Revelado de DAB (Diamino Bencidina). Poner: 10cc. PB + 5 mg. DAB + 30 µl de A. Oxigenada (10 volúmenes). Dejar de 5' - 8'.
- 14) Lavar con agua destilada.
- 15) Contrastar con HE (Hematoxilina-Eosina). Deshidratar y montar.

Preparación de la mezcla:

CROMAGEL.-

Solución A= Gelatina en polvo 4,5 grs + agua destilada un litro. Calentar a 75 grados y enfriar a 50 grados.

Solución B= Alumbre de Cromo al 4% (38,5cc) + Ftalato de Dibutilo (1 cc.) + Merthiolato (0,1 gr.).

Mezclar las dos soluciones (A+B), conservar a 4° con Timol (para evitar la contaminación). Introducir los portas en esta solución y dejar secar en estufa. Hacer el papel de pegamento para que los cortes no se despeguen.

PBS (Ph 7,4)= 50 ml. de fosfato Buffer concentrado + 1L. de agua destilada.

Se han elaborado dos fichas para recogida de Edad, Clínica, Estadíos, Recidivas, Fallecimientos, Marcadores Tumorales, Intervención Quirúrgica y Anatomía Patológica.

Los datos han sido procesados en un Ordenador PC Compatible Marca α- Net de 20 megas, utilizando la Estadística del Programa Sigma, el Tratamiento de Texto del Word Perfect 5.0. y los gráficos del Harvard Graphics 2.3.

RESULTADOS

1) EDAD.- El enfermo de menor edad es de 32 años y el de mayor 89 años, siendo la edad media de 67 años $\pm 11'82$.

2) SEXO.- La proporción de hombres a mujeres es de 2/1.

3) CLINICA.- Los más frecuentes son:

- 1) Rectorragias y Melenas (67%).
- 2) Dolor (50%).
- 3) Alteración de ritmo Intestinal (25%).
- 4) Obstrucción Intestinal (25%).

Los menos frecuentes son:

- a) Tenesmo (9%)
- b) Perforación (4%).

Estadios C y D: Astenia y Anorexia (43%).

- 4) ESTADIOS.-
- 1) Estadio A (10%)
 - 2) Estadio B (37%)
 - 3) Estadio C (46%)
 - 4) Estadio D (7%)

5) LOCALIZACION.-

Colon Derecho 22% ——— Hemicolectomía Derecha

Colon izquierdo 54% Resección anterior (37%)
 Sigmoidectomía (11%)
 Hartmann (6%)

Recto 24% Resección anterior Baja (12%)
 Abdominoperineal (12%)

6) **RECIDIVAS.**- Hemos tenido un 7% correspondiendo el 71% al Estadio C y 29% al Estadio B. Del total el 29% se detectaron en el tercer mes del Postoperatorio y el 71% restante en el quinto mes.

7) **FALLECIMIENTOS.**- El número total es del 7%, correspondiendo el 58% a los Estadios B y C y el 42% al Estadio D. En tres casos fue por embolismo pulmonar entre 7-10 días postoperatorio. Dos casos entre 45-60 días por diseminación tumoral y los otros dos por carcinomatosis a los 5 meses.

8) **MARCADORES TUMORALES.**- Los Marcadores Tumorales Monoclonales tomados como referencia son: CEA, AFP, TPA, CA.50 y CA.19.9.

Realizamos el estudio individualmente, con valores comparativos de SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD en el PREOPERATORIO (un día antes de intervención) y POSTOPERATORIO (una semana, dos meses y seis meses), así como de las RECIDIVAS.

Los Resultados fueron los siguientes:

- 1.- Los valores medios de Sensibilidad en el Preoperatorio por Estadios aprecian la normalidad de las determinaciones en el Estadio A a excepción del Ca.19.9, pero con una desviación típica de $\pm 18'03$. En los Estadios B, C y D todas las cifras están elevadas, incluyendo las desviaciones típicas, destacando la Sensibilidad del TPA en los Estadios con metástasis (C y D) así como las del Ca.50 y Ca.19.9 en todos los casos. Proporcionalmente el CEA está menos elevado que el TPA. La AFP no es demostrativa en el Carcinoma Colorrectal en ninguno de los Estadios. (Tabla I, Fig.1).
- Las alteraciones en la Desviación Típica en nuestro estudio se deben a la dispersión de los datos, indicando la diferencia de las variables analizadas con relación a la media en el sentido de que cuanto más elevada sea la desviación típica la disparidad entre las variables analizadas y la media estará aumentada; paralelamente cuanto menor sea la desviación típica más cercanos estarán los valores estudiados de la variable a la media.
- 2.- Destacan los valores de Especificidad en el Preoperatorio del CA.50 y el CA.19.9 en todos los Estadios y el TPA en el D que es de un 86%, siendo mayor en su media

comparativa con el CEA especialmente en los Estadios metastásicos (C y D). La AFP no es demostrativa. (Tabla II, Fig.2).

- 3.- En los valores medios de Sensibilidad Postoperatoria a los siete días apreciamos la disminución de las determinaciones de los Marcadores Tumorales Monoclonales en todos los Estadios, destacando el Ca.19.9 y el Ca.50 en el Estadio D que descienden 824 U/ml. y 90'03 U/ML. respectivamente, así como el TPA en el Estadio C que disminuye 67'36 U/L.. La desviación típica baja proporcionalmente al de los valores medios. (Tabla III, Fig.3).
- 4.- En los valores de Especificidad Postoperatoria a los siete días comprobamos la disminución de todas las determinaciones, con excepción del Ca.50 y Ca.19.9 en el Estadio A que se elevan al 40% el primero y manteniéndose el segundo. (Tabla IV, Fig.4).
- 5.- En los valores medios de Sensibilidad a los dos meses observamos que las determinaciones siguen disminuyendo a excepción del TPA en el Estadio C, que asciende ligeramente (15'01 U/L.), el Ca.50 en el Estadio D que se eleva 171'80 U/ML. con una desviación típica de $\pm 360'26$ y el CEA en el Estadio D que marca unos valores de 138 ng./l. con un ascenso de 125'98 ng./l. y una desviación típica de $\pm 83'89$. En el Estadio A todos los Marcadores Tumorales Monoclonales se encuentran dentro de la normalidad. (Tabla V, Fig.5).
- 6.- La Especificidad a los dos meses, como la Sensibilidad, sigue disminuyendo con excepción del CEA que aumenta en los Estadios B (3%), C (10%) y D (15%) y el TPA que se mantiene en el Estadio D (57%). (Tabla VI, Fig.6).
- 7.- En los valores medios de Sensibilidad a los seis meses comprobamos la elevación en el Estadio C de los Marcadores CEA (45'08 ng./ml.), TPA (96'91 U/L.), CA.50 (19'06 U/ML.) y CA.19.9 (41'62 U/ML.) con desviaciones típicas muy elevadas, y del CEA en el D (16'40 ng./ml.). (Tabla VII, Fig.7).
- 8.- La Especificidad a los seis meses nos muestra disminución en todos los Estadios menos en el C elevándose CEA (5%) y TPA (7%). En todos los casos la AFP no es demostrativa. (Tabla VIII, Fig.8).
- 9.- En las RECIDIVAS comprobamos que los valores medios de Sensibilidad en el Preoperatorio están elevados así como las desviaciones típicas, disminuyendo a los

- siete días pero con valores altos y aumentando considerablemente en el momento de la Recidiva con unas desviaciones típicas aun más elevadas, bajando de nuevo en el Postoperatorio de la Recidiva de manera más demostrativa. (Tabla IX, Fig.9).
- 10.- En la RECIDIVA los valores de Especificidad en el Preoperatorio son muy elevados (57%-86%) a excepción de la AFP (0%), destacando el 100% del Ca.50 y la elevación del CEA, TPA y Ca.19.9 en el momento de la Recidiva, así como la disminución en el Postoperatorio a los siete días de TPA y Ca.50, manteniéndose CEA y Ca.19.9. (Tabla X, Fig.10).
 - 11.- En la Correlación de dos Marcadores Tumorales Monoclonales en el Estadio A comprobamos que la Especificidad aumenta en relación con cada uno de ellos individualizados, destacando el 60% de CEA - CA.19.9, CA.50 - CA.19.9 y TPA - CA.19.9, así como la disminución en el Postoperatorio a los siete días, dos meses y seis meses. (Tabla XI, Fig.11).
 - 12.- En el Preoperatorio del Estadio B observamos que la Especificidad aumenta globalmente con respecto al Estadio A destacando el 68% de TPA - CA.50 y TPA - CA.19.9, disminuyendo a los siete días y elevándose a los dos meses el CEA - CA.19.9 (11%) y CA.50 - CA.19.9 (10%), bajando a los seis meses todas las determinaciones. (Tabla XII, Fig.12)
 - 13.- En el Estadio C observamos que en el Preoperatorio la Especificidad aumenta globalmente en relación con los Estadios A y B destacando el 83% de la correlación TPA-CA.19.9 así como el 78% de CEA - CA.19.9 y el 76% de TPA - CA.50. Todas las cifras disminuyen en el Postoperatorio aunque a los seis meses se mantienen entre el 41% (CEA-TPA) y el 54% (CEA - CA.19.9). (Tabla XIII, Fig.13).
 - 14.- En el Estadio D comprobamos que en el Preoperatorio las cifras han aumentando globalmente en relación con los Estadios A, B y C, destacando el 100% de CEA-TPA, TPA-CA.50 y TPA-CA.19.9. Todos los valores disminuyen en el Postoperatorio, elevándose a los seis meses TPA-CA.50 y TPA-CA.19.9 al 80% manteniéndose en el 60% CEA - CA.50. (Tabla XIV, Fig.14).
 - 15.- Las RECIDIVAS en la Correlación de dos Marcadores Tumorales Monoclonales muestran en el Preoperatorio unas cifras muy elevadas, destacando el 100% de CEA-CA.19.9 con el 86% del resto, a excepción de CEA-TPA que es del 71%. A

los siete días las determinaciones se mantienen a excepción de CFA - TPA que disminuye (57%), aumentando al 100% en el momento de la Recidiva con excepción de TPA-CA.19.9 que es del 86%. A los siete días continúan los mismos valores a excepción del TPA-CA.50 que es del 86%. (Tabla XV, Fig.15).

- 16.- En la Correlación de Tres Marcadores Tumorales Monoclonales en el Estadio A comprobamos la elevación global de los valores en relación con el de dos Marcadores (Tabla XI). En el Preoperatorio destacan el 60% de CEA - TPA - CA.19.9, CEA - CA.50 -CA.19.9 y TPA - CA.50 - CA.19.9. con el 40% de CEA - TPA - CA.50. En el Postoperatorio a los dos meses disminuyen todas las determinaciones, siendo normales a los seis meses. (Tabla XVI, Fig.16)
- 17.- En el Estadio B demostramos la elevación global en el Preoperatorio (70%-78%) en relación con el de dos Marcadores (Tabla XII), disminuyendo en el Postoperatorio a los siete días y manteniéndose a los seis meses entre el 38%-46%. (Tabla XVII, Fig.17)
- 18.- En la Correlación de tres Marcadores Tumorales Monoclonales en el Estadio C observamos la elevación global en el Preoperatorio (76%-91%) en relación con el de dos Marcadores (Tabla XIII), disminuyendo en el Postoperatorio a los siete días y manteniéndose a los seis meses con unos valores de 50%-57%. (Tabla XVIII, Fig.18).
- 19.- En el Estadio D demostramos una elevación global en el Preoperatorio (86%-100%) en relación con la Tabla XIV, apreciando que el 100% lo encontramos en los casos que el TPA está presente, disminuyendo en el Postoperatorio a los siete días pero manteniéndose en cotas elevadas a los seis meses (50%-80%). (Tabla XIX, Fig.19).
- 20.- En las RECIDIVAS comprobamos que en el Preoperatorio los valores van del 86%-100%, manteniéndose en el Postoperatorio a los siete días y elevándose al 100% en el momento de la Recidiva, permanciendo igual en el Postoperatorio a los siete días de la intervención de Recidiva.(Tabla XX, Fig.20)
- 21.- En la Correlación de cuatro Marcadores Tumorales Monoclonales observamos la elevación global en el Preoperatorio que va del 60% en el Estadio A al 100% en el

Estadio D, disminuyendo en el Postoperatorio a los siete días y elevándose a los seis meses en el Estadio D al 80%. (Tabla XXI, Fig.21).

22.- En las RECIDIVAS la Correlación de cuatro Marcadores Tumorales Monoclonales es muy significativa ya que CEA, TPA, CA.50 Y CA.19.9 marcan un 100% en todos los casos.

(Tabla XXII, Fig.22).

PREOPERATORIO

VALORES DE SENSIBILIDAD

-TABLA I-

ESTADIO	A	B	C	D
CEA (ng./L.)	4'49±2'89	22'91±46'99	31'44±72'92	20'05±37'81
AFP (KU/L.)	2'87±1'43	4 ±5'60	2'41±2'38	1'57±0'66
TPA (U/L.)	73'3 ±25'84	141'30±208'05	235'44±427'65	320 ± 221'88
CA.50 (U/ML.)	16'46±11'50	55'41±141'86	65'94±117'87	171'67± 289'27
CA.19.9 (U/ML.)	30'56±18'03	88'86±205,43	102'50±209,71	1091,36±1845,90

VALORES DE ESPECIFICIDAD

-TABLA II-

ESTADIO	A	B	C	D
CEA	33%	49%	48%	29%
AFP	0%	5%	4%	0%
TPA	20%	38%	46%	86%
CA.50	20%	51%	50%	57%
CA.19.9	50%	57%	67%	71%

POSTOPERATORIO UNA SEMANA
VALORES DE SENSIBILIDAD
-TABLA III-

ESTADIO	A	B	C	D
CEA (NG/L.)	3'31±1'27	9'74±16'38	19'36±58'25	12'02 ± 20'89
AFP (KU/L.)	2'52±0'94	2'67±3'41	2'09±1'54	1'36 ± 0'49
TPA (U/L.)	78'05±21'36	122'84±210'91	168'08±337'61	262,22± 150'98
CA.50 (U/ML.)	17'08±12'14	26'61±31'04	42'10± 69'90	81'58± 72'09
CA.19.9 U/ML.)	22'15±12'26	45'52±90'23	41'32± 51'27	267'12± 353'22

VALORES DE ESPECIFICIDAD
-TABLA IV-

ESTADIO	A	B	C	D
CEA	10%	27%	33%	14%
AFP	3%	0%	0%	0%
TPA	50%	32%	35%	57%
CA.50	40%	38%	43%	43%
CA.19.9	50%	52%	50%	57%

POSTOPERATORIO DOS MESES
VALORES DE SENSIBILIDAD
-TABLA V-

ESTADIO	A	B	C	D
CEA (NG/L.)	3'31±1'26	8'62±14'36	16'31±21'22	138±83'89
AFP (KU/L.)	1,93±1'55	4'91±9'80	1'80±1'09	1'2 ± 0'35
TPA (U/L.)	62'5 ±28'04	80'36±67'57	193'09±421'91	250'5 ± 250'04
CA.50 (U/ML.)	9'4 ± 5'46	20'96± 20'64	65'94±183'84	253'4 ± 360'26
CA.19.9 (U/ML.)	12'38±10'72	26'54± 23'70	89'40±252'85	59'34± 60'06

VALORES DE ESPECIFICIDAD
-TABLA VI-

ESTADIO	A	B	C	D
CEA	0%	30%	43%	29%
AFP	0%	11%	0%	0%
TPA	20%	22%	28%	57%
CA.50	10%	30%	41%	29%
CA.19.9	10%	46%	46%	43%

POSTOPERATORIO SEIS MESES
VALORES DE SENSIBILIDAD
-TABLA VII-

ESTADIO	A	B	C	D
CEA (NG./L.)	4'7 ± 3'77	13'54± 30'30	61'39±161'79	36,45± 51'60
AFP (KU/L.)	1'53± 0'78	2'58± 3'70	1'75± 1'70	1'47± 0'57
TPA (U./L.)	45'9 ±20'58	86'75±114'76	289'30±762'74	177+ 131'64
CA.50 (U/ML.)	7'18± 4'75	20'89± 29'81	84 ±210'03	6'6 ± 1'41
CA.19.9 (U/ML.)	8'4 ± 1'53	30'36± 41'12	131'06±343'54	11'23± 5'16

VALORES DE ESPECIFICIDAD
-TABLA VIII-

ESTADIO	A	B	C	D
CEA	10%	27%	48%	14%
AFP	0%	5%	2%	0%
TPA	0%	22%	35%	29%
CEA.50	0%	24%	35%	0%
CA.19-9	0%	35%	39%	0%

**RESULTADOS DE RECIDIVAS
VALORES DE SENSIBILIDAD
-TABLA IX-**

	Preop.	Postop.	Recidiva	Postop.
CEA (NG/L.)	32'73±33'07	26'04±21'75	73'54±131'33	80'96±163'80
AFP (KU/L.)	1'76±0'89	1'51±0'57	2'1±2'94	1'26±0'57
TPA (U/L.)	220'14±232'21	139'42±160'86	434'43±327'83	292'3±294'26
CA.50 (U/ML.)	139±164'76	97'40±123'36	318'43±406'46	153'71±135'95
CA.19.9 (U/ML.)	168'29±206'24	56'10±42'72	535'57±710'93	361'29±568'19

**VALORES DE ESPECIFICIDAD
-TABLA X-**

	Preop.	Postop.	Recidiva	Postop.
CEA	71%	57%	71%	71%
AFP	0%	0%	0%	0%
TPA	57%	57%	71%	57%
CA.50	71%	71%	100%	86%
CA.19.9	86%	86%	86%	86%

**CORRELACION DE DOS MARCADORES TUMORALES
MONOCLONALES**

ESTADIO A

-TABLA XI

	PREOP.	POSTOP. semana	POSTOP. 2 meses	POSTOP 6 meses
CEA - CA.19-9	60%	50%	10%	0%
CEA - CA.50	20%	40%	10%	10%
CA.50-CA.19.9	60%	50%	10%	10%
CEA - TPA	30%	40%	20%	0%
TPA - CA.50	30%	60%	20%	10%
TPA - CA.19.9	60%	60%	20%	10%

**CORRELACION DE DOS MARCADORES TUMORALES
MONOCLONALES**

ESTADIO B

-TABLA XII-

	PREOP.	POSTOP. semana	POSTOP. 2 meses	POSTOP. 6 meses
CEA - CA.19.9	58%	43%	54%	43%
CEA - CA.50	62%	38%	46%	32%
CA.50-CA.19.9	57%	41%	51%	38%
CEA - TPA	54%	35%	41%	35%
TPA - CA.50	68%	41%	43%	32%
TPA - CA.19.9	68%	46%	54%	41%

**CORRELACION DE DOS MARCADORES TUMORALES
MONOCLONALES**

ESTADIO C

-TABLA XIII-

	PREOP.	POSTOP. semana	POSTOP. 2 meses	POSTOP. 6 meses
CEA - CA.19.9	78%	52%	57%	54%
CEA - CA.50	63%	60%	54%	50%
CA.50-CA.19.9	67%	54%	48%	48%
CEA - TPA	61%	41%	39%	41%
TPA - CA.50	76%	50%	57%	46%
TPA - CA.19.9	83%	61%	50%	52%

**CORRELACION DE DOS MARCADORES TUMORALES
MONOCLONALES**

ESTADIO D

-TABLA XIV-

	PREOP.	POSTOP. semana	POSTOP. 2 meses	POSTOP. 6 meses
CEA - CA.19.9	70%	43%	29%	40%
CEA - CA.50	60%	29%	29%	60%
CA.50-CA.19.9	70%	43%	71%	40%
CEA - TPA	100%	57%	57%	40%
TPA - CA.50	100%	57%	57%	80%
TPA - CA.19.9	100%	57%	57%	80%

**CORRELACION DE DOS MARCADORES TUMORALES
MONOCLONALES**

RECIDIVAS

-TABLA XV-

	PREOP.	POSTOP. semana	RECIDIVA	POSTOP. semana
CEA - CA.19.9	100%	100%	100%	100%
CEA - CA.50	86%	86%	100%	100%
CA.50-CA.19.	86%	86%	100%	100%
CEA - TPA	71%	57%	100%	100%
TPA - CA.50	86%	86%	100%	86%
TPA-CA.19.9	86%	86%	86%	86%

**ACION DE TRES MARCADORES TUMORALES MONOCLONALES
SIN METASTASIS (ESTADIOS A y B)**

**ESTADIO A
-TABLA XVI-**

	PREOP.	POSTOP. semana	POSTOP. 2 meses	POSTOP. 6 meses
-CA.50	40%	50%	30%	0%
-Ca.19.9	60%	60%	30%	0%
0-Ca.19.9	60%	60%	10%	10%
1-Ca.19.9	60%	60%	30%	10%

**ESTADIO B
-TABLA XVII-**

	PREOP.	POSTOP. semana	POSTOP. 2 meses	POSTOP. 6 meses
-Ca.50	78%	43%	48%	38%
-Ca.19.9	78%	48%	57%	46%
0-Ca.19.9	70%	43%	51%	43%
0-Ca.19.9	70%	45%	51%	41%

**CORRELACION DE TRES MARCADORES TUMORALES MONOCLONALES
CON METASTASIS (ESTADIOS C y D)**

**ESTADIO C
-TABLA XVIII-**

	PREOP.	POSTOP. semana	POSTOP. 2 meses	POSTOP. 6 meses
CEA-TPA-CA.50	80%	35%	41%	54%
CEA-TPA-CA.19.9	91%	63%	58%	57%
CEA-CA.50-CA.19.9	76%	58%	58%	57%
TPA-CA.50-CA.19.9	78%	60%	50%	50%

**ESTADIO D
-TABLA XIX-**

	PREOP.	POSTOP. semana	POSTOP. 2 meses	POSTOP. 6 meses
CEA-TPA-CA.50	100%	57%	57%	80%
CEA-TPA-CA.19.9	100%	57%	57%	80%
CEA-CA.50-CA.19.9	86%	43%	43%	50%
TPA-CA.50-CA.19.9	100%	57%	57%	80%

**CORRELACION DE TRES MARCADORES TUMORALES
MONOCLONALES**

RECIDIVAS

-TABLA XX-

	PREOP.	POSTOP. Semana	RECIDIVA	POSTOP. Semana
CEA-TPA-CA.50	86%	86%	100%	86%
CEA-TPA-CA.19.9	100%	100%	100%	100%
CEA-CA.50-CA.19.9	100%	100%	100%	100%
TPA-CA.50-CA.19.9	100%	100%	100%	100%

**CORRELACION DE CUATRO MARCADORES TUMORALES
MONOCLONALES**

CEA - TPA - CA.50 - CA.19.9

-TABLA XXI-

	PREOP.	POSTOP. semana	POSTOP. 2 meses	POSTOP. 6 meses
ESTADIO A	60%	60%	30%	10%
ESTADIO B	81%	45%	54%	46%
ESTADIO C	93%	58%	56%	57%
ESTADIO D	100%	40%	30%	80%

RECIDIVAS

-TABLA XXII-

	PREOP.	POSTOP. semana	RECIDIVA	POSTOP. semana
CEA-TPA-CA.50-CA.19.9	100%	100%	100%	100%

MARC.TUMORALES PREOPER.(SENS.)

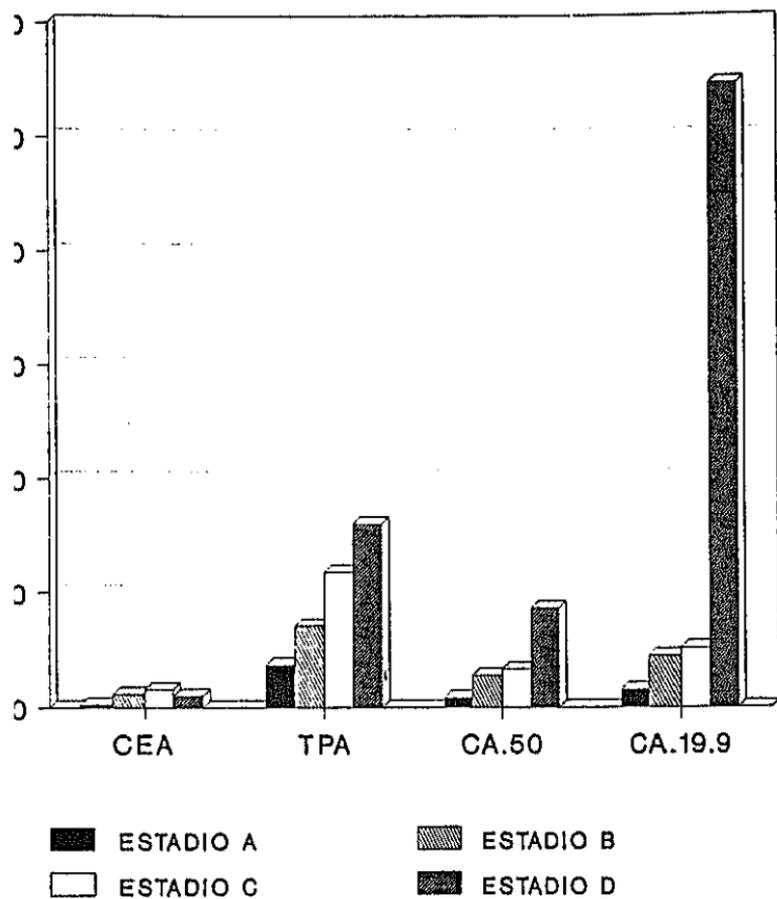


FIG.1

MARC.TUMORALES PREOP.(ESPECIF.)

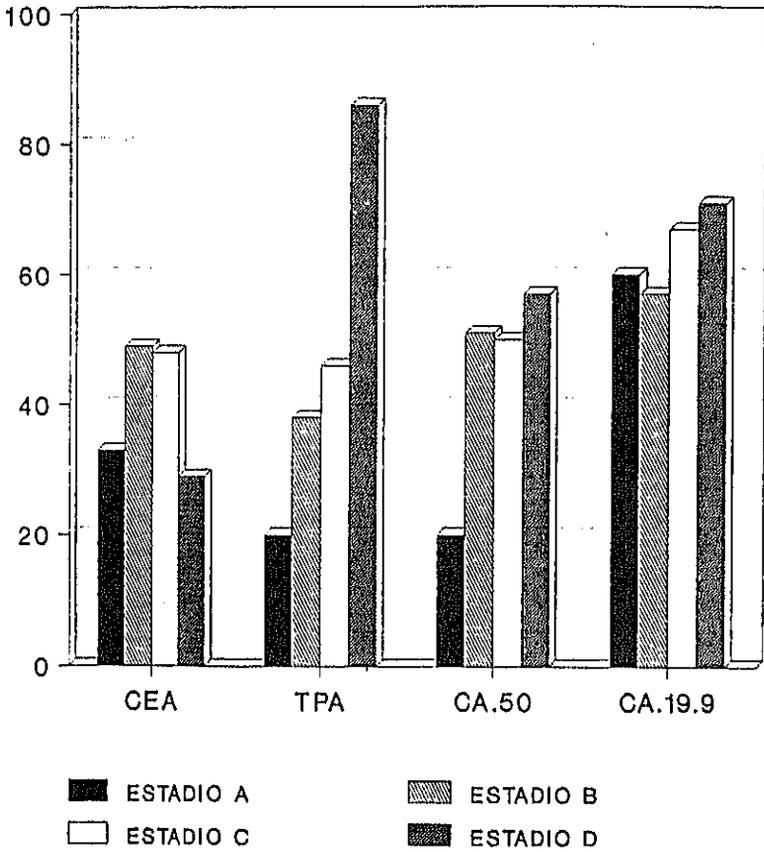


FIG.2

MARC. TUMORALES POSTOPER.(SENS. 1 Sem.)

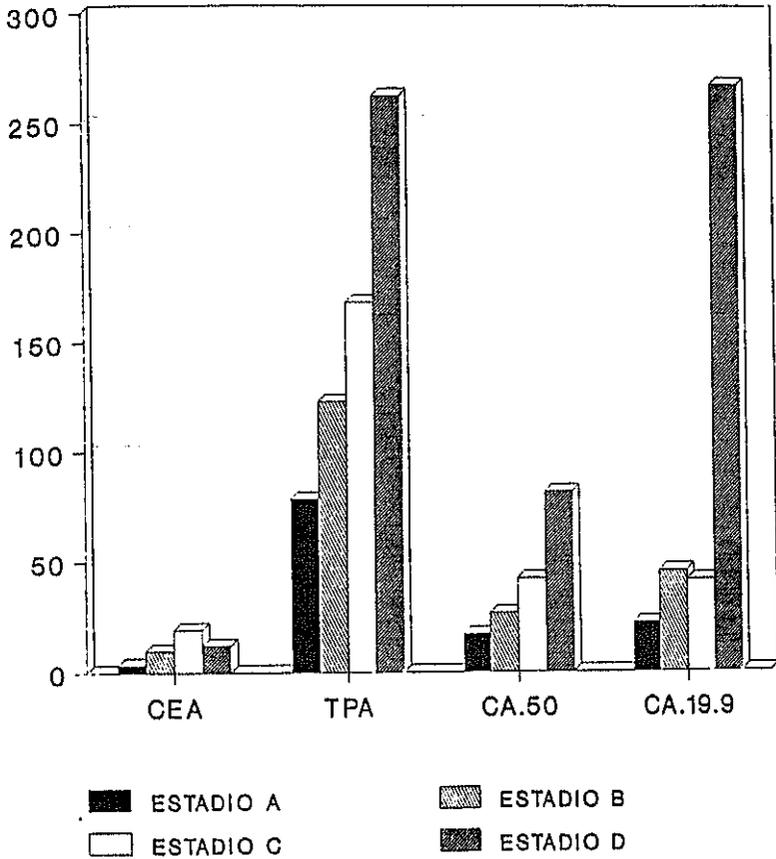


FIG.3

MARC.TUMORALES

POSTOP.(ESPECIF.1 Sem.)

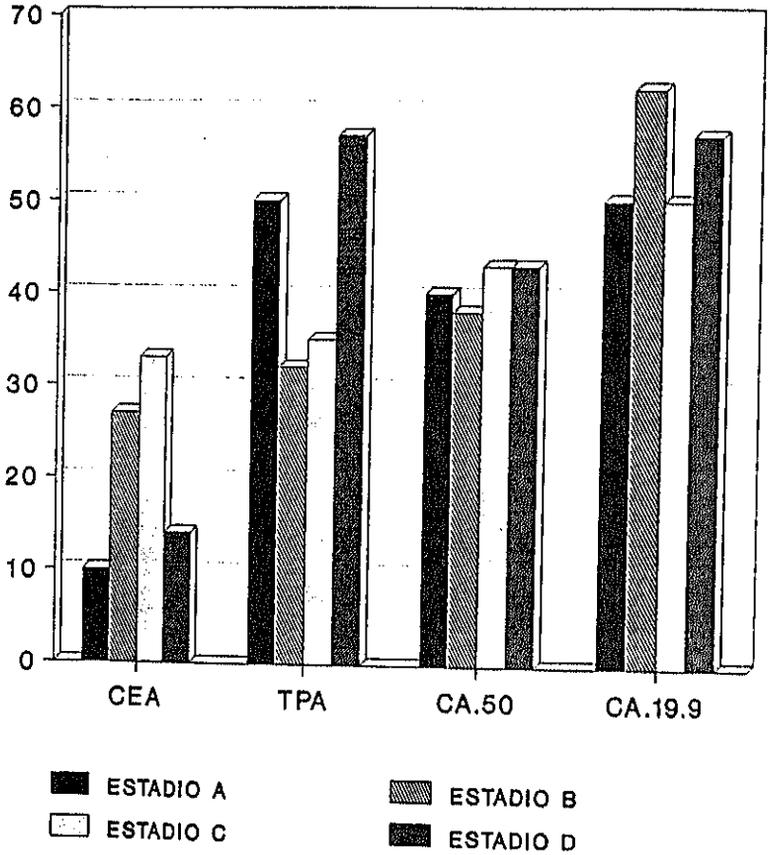


FIG.4

MARC.TUMORALES POSTOP.(SENSIB. 2 meses)

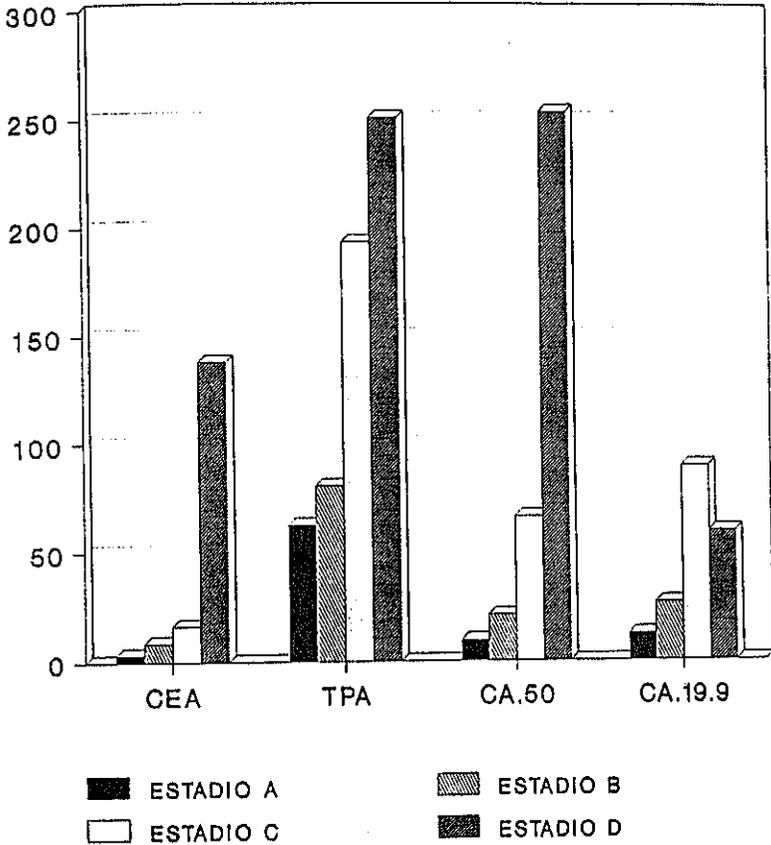


FIG.5

MARC. TUMORALES POSTOP.(ESPECIF. 2 meses)

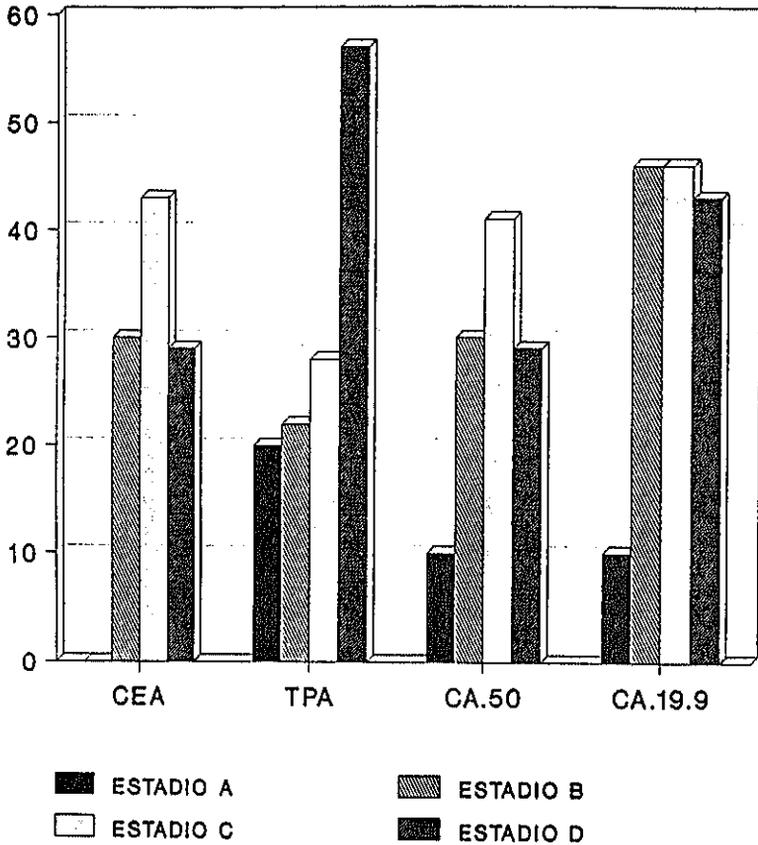


FIG.6

MARC.TUMORALES

POSTOP.(SENS.6 meses)

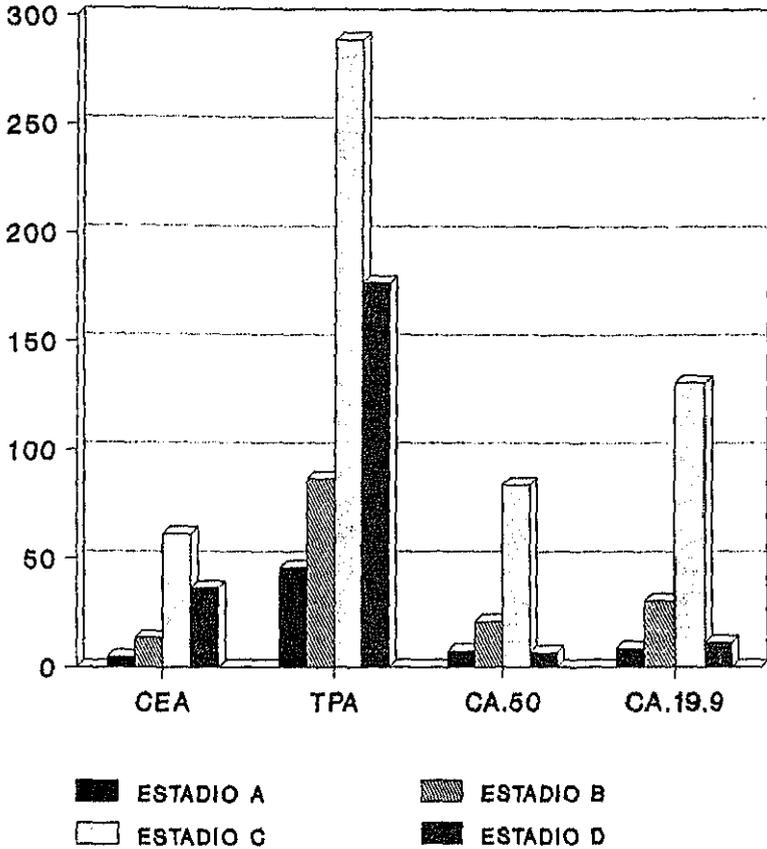


FIG.7

MARC. TUMORALES POSTOP. (ESPECIF. 6 Meses)

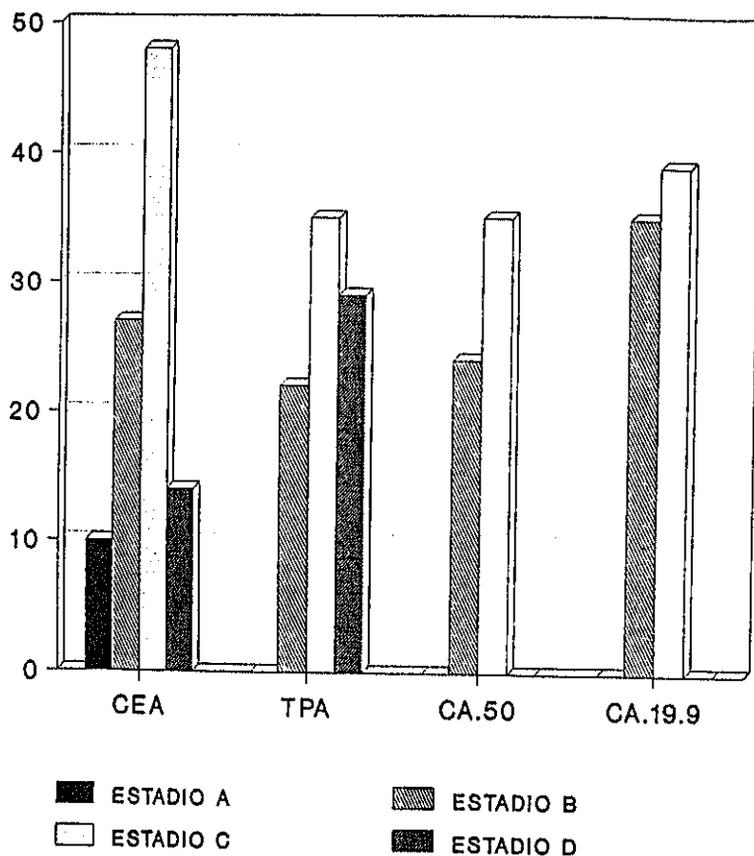


FIG.8

MARC.TUMORALES RECIDIVAS (SENSIBILIDAD)

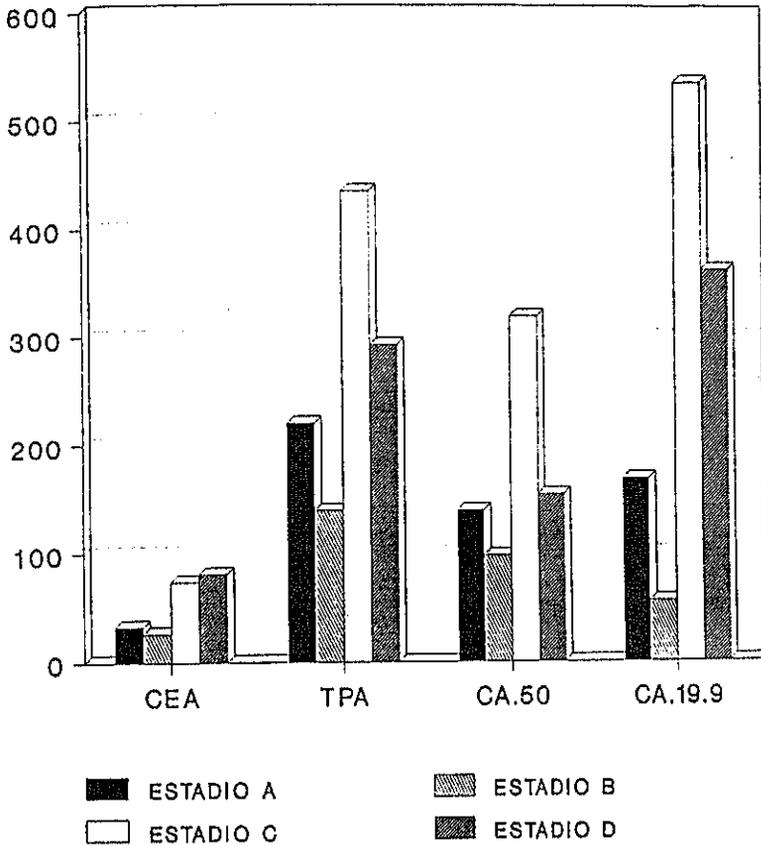


FIG.9

MAR.TUMORALES RECIDIVAS (ESPECIFICIDAD)

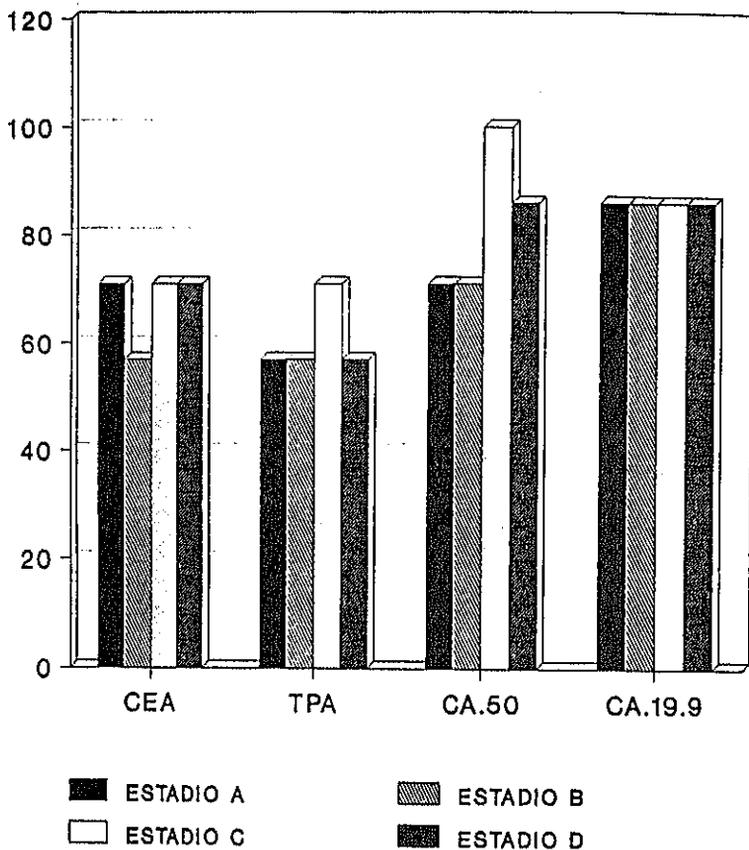


FIG.10

MARC.TUMORALES

ESTADIO A(dos Marcad.)

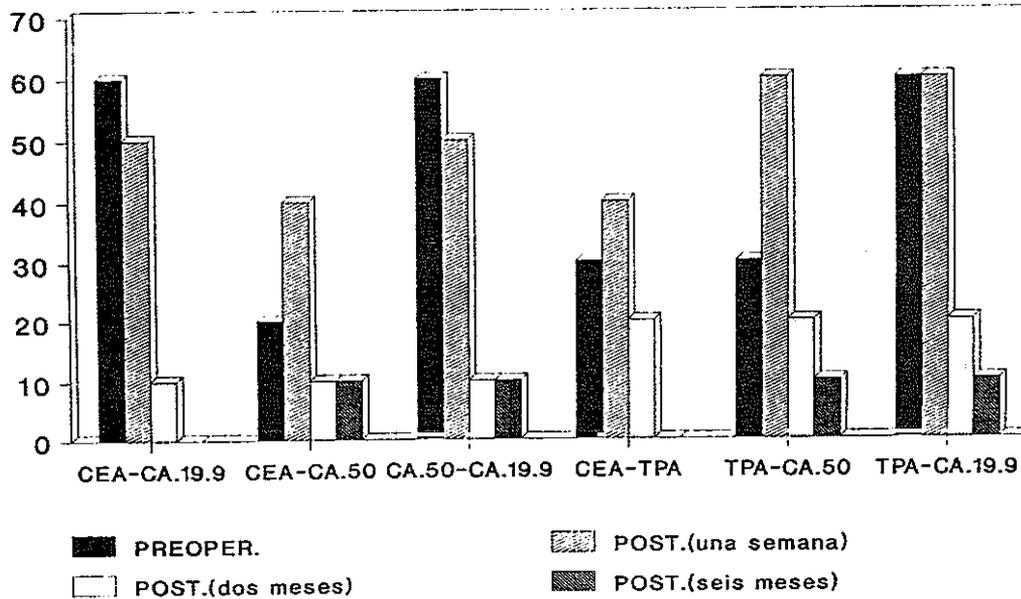


FIG.11

MARC.TUMORALES

ESTADIO B(dos Marc.)

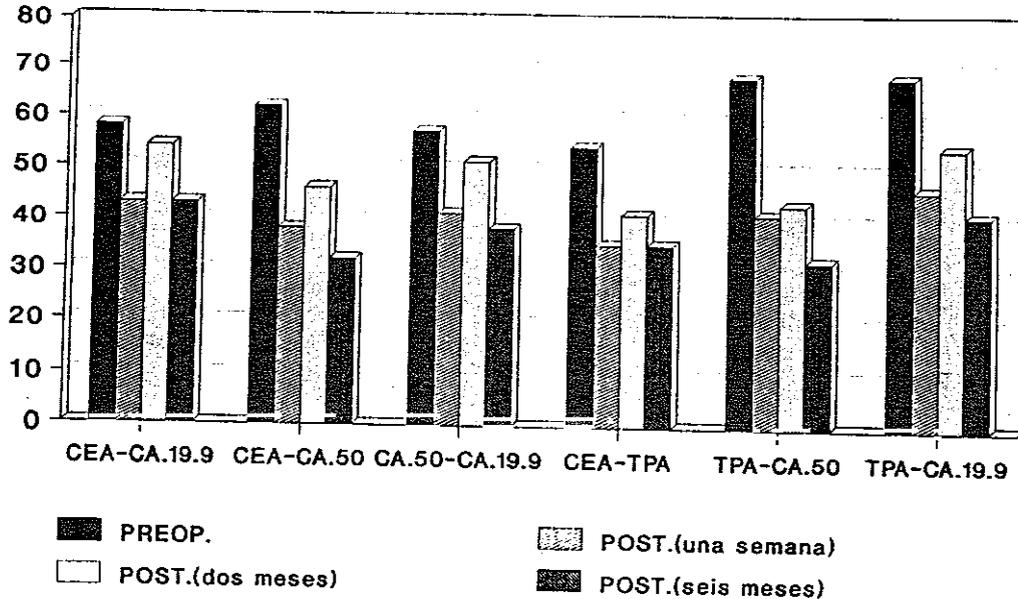


FIG.12

MARC.TUMORALES

ESTADIO C(dos Marc.)

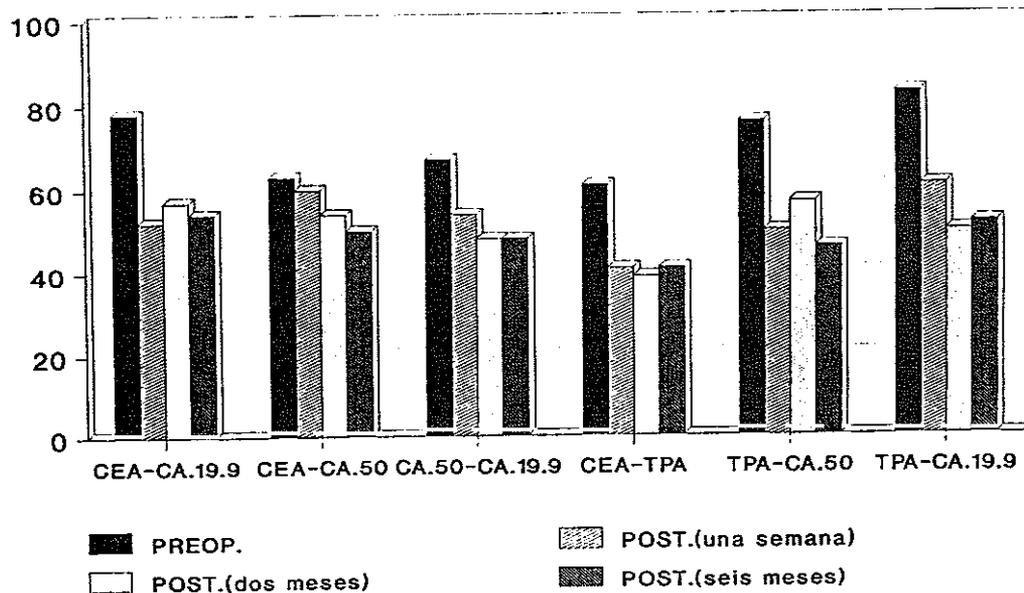


FIG.13

MARC.TUMORALES

ESTADIO D(dos Marc.)

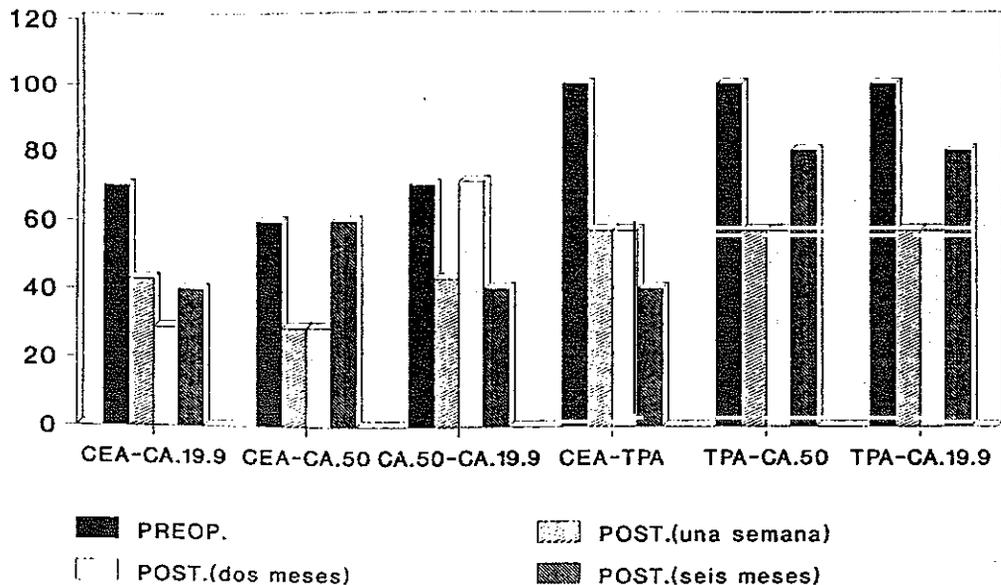


FIG.14

MARC.TUMORALES

RECIDIVAS

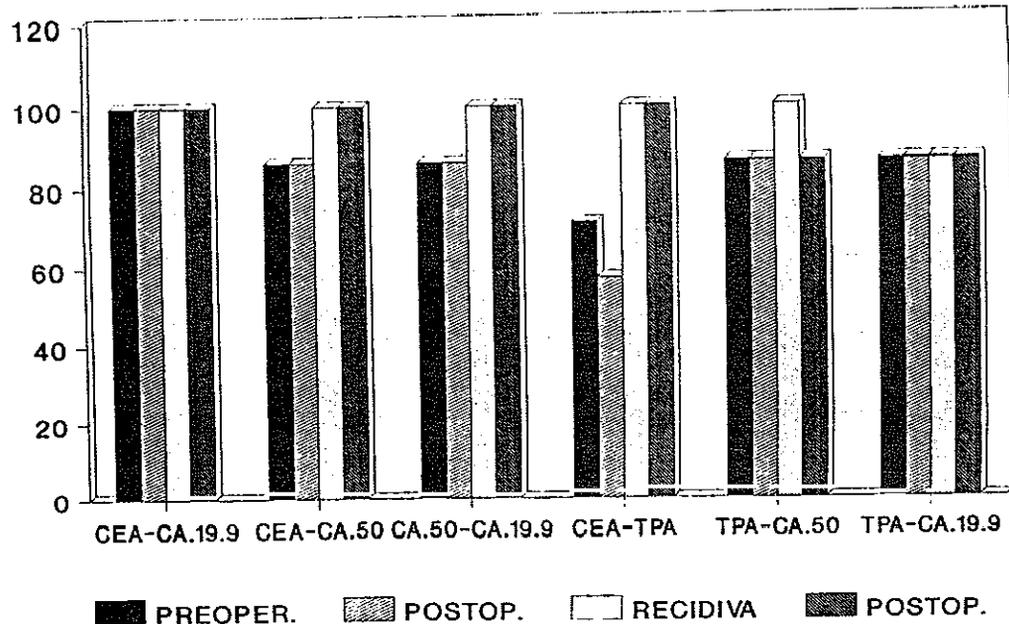


FIG.15

MARC. TUMORALES

ESTADIO A (tres Marc.)

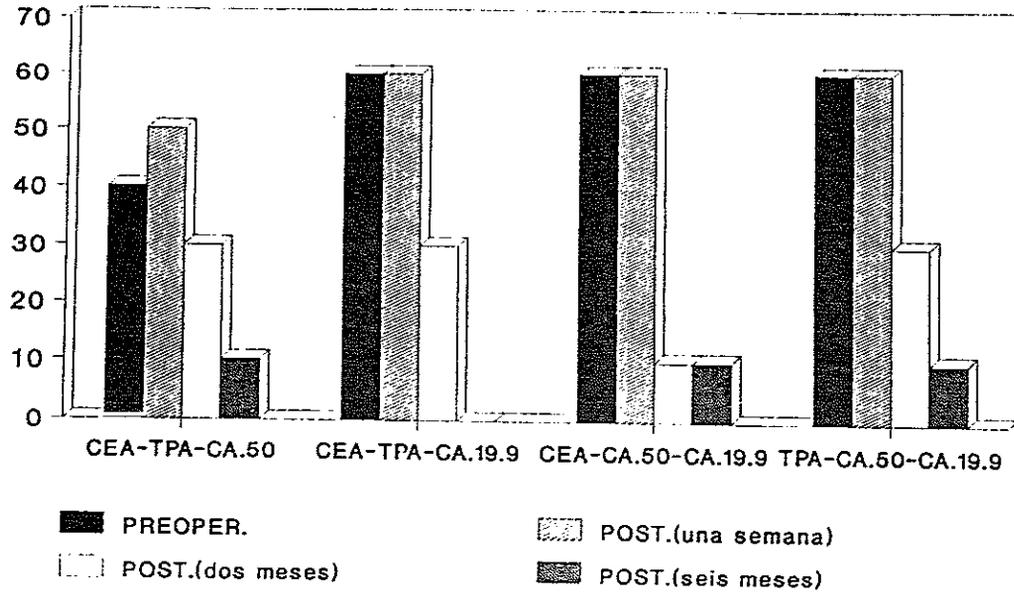


FIG.16

MARC. TUMORALES

ESTADIO B (tres Marc.)

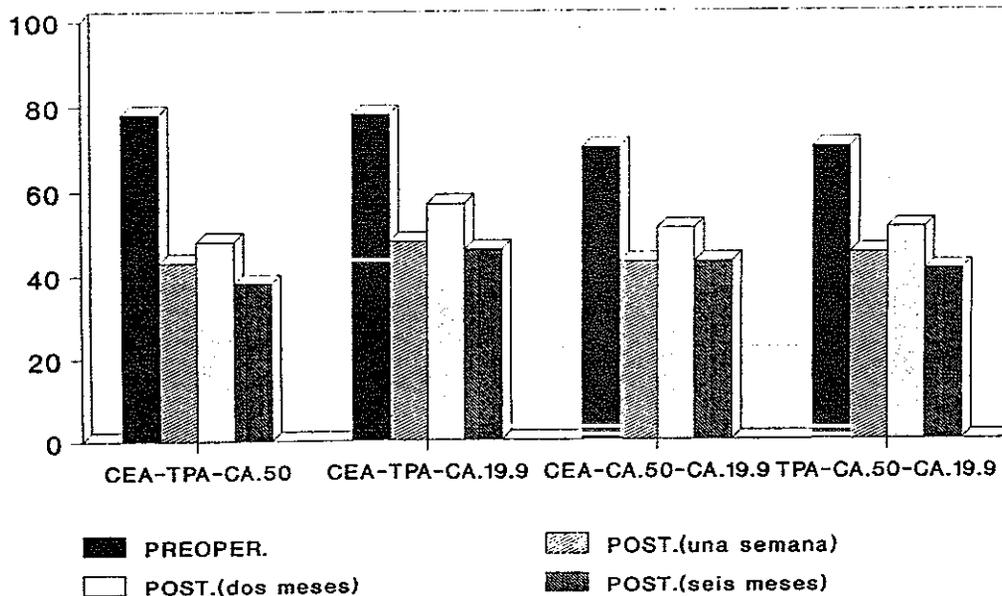


FIG.17

MARC.TUMORALES

ESTADIO C(tres Marc.)

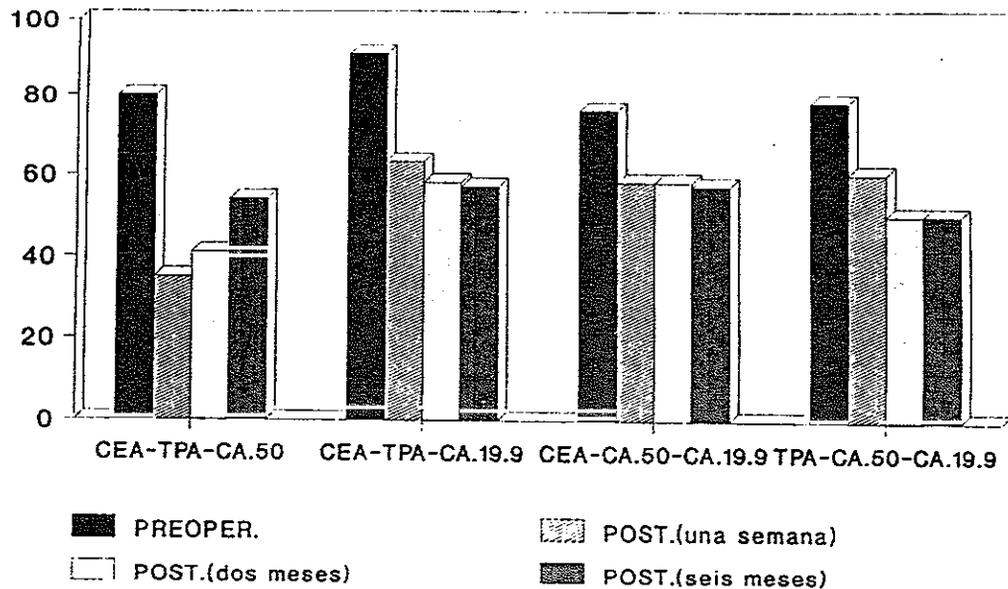


FIG.18

MARC. TUMORALES

ESTADIO D (tres Marc.)

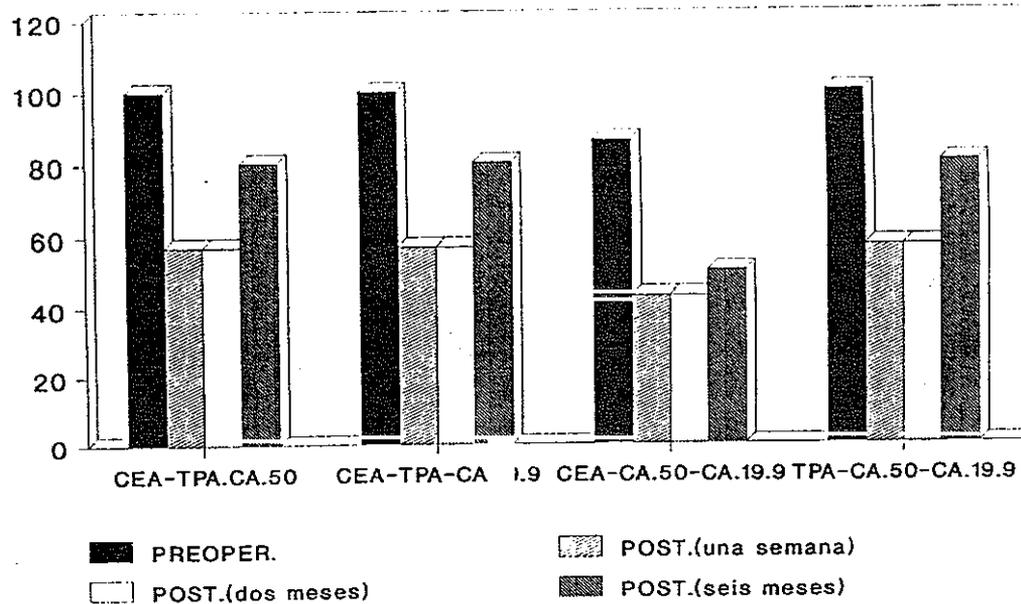


FIG.19

MARC.TUMORALES

RECIDIVAS(tres Marc)

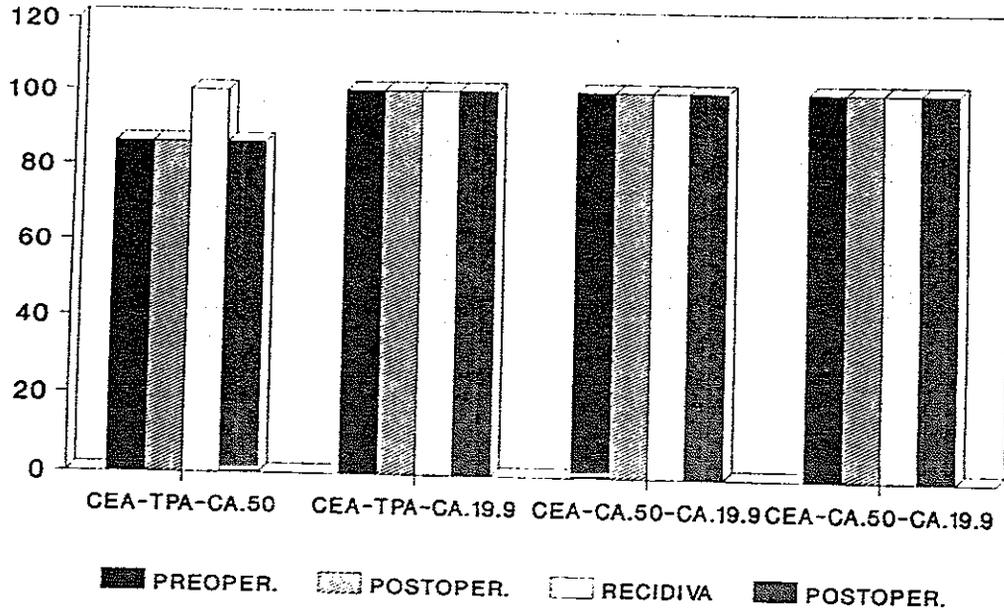


FIG.20

MARC. TUMORALES

CUATRO MARCADORES (correlación)

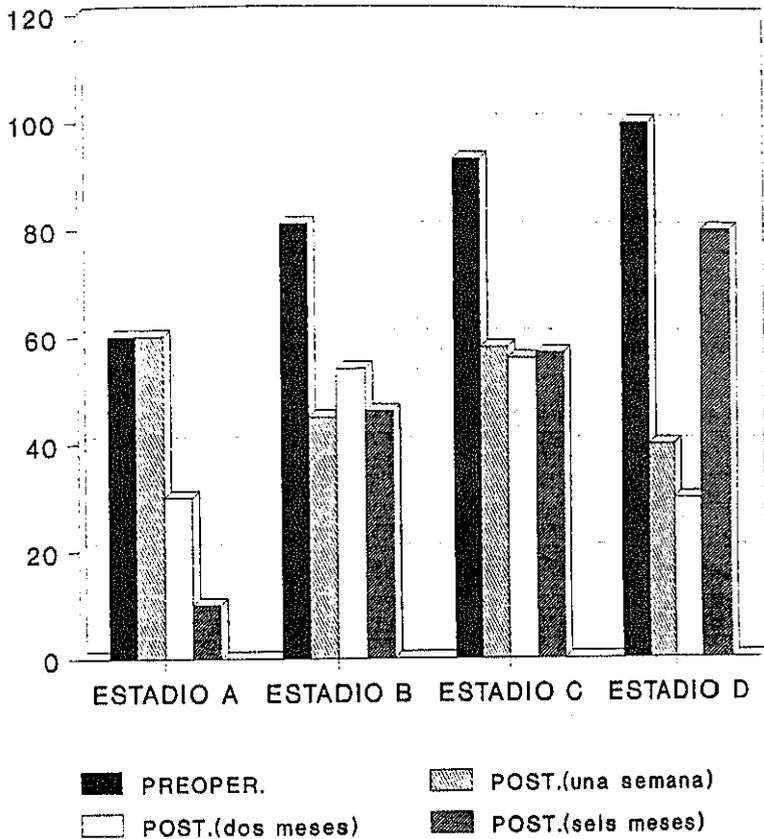


FIG.21

MARC. TUMORALES

RECIDIVAS (cuatro Marc.)

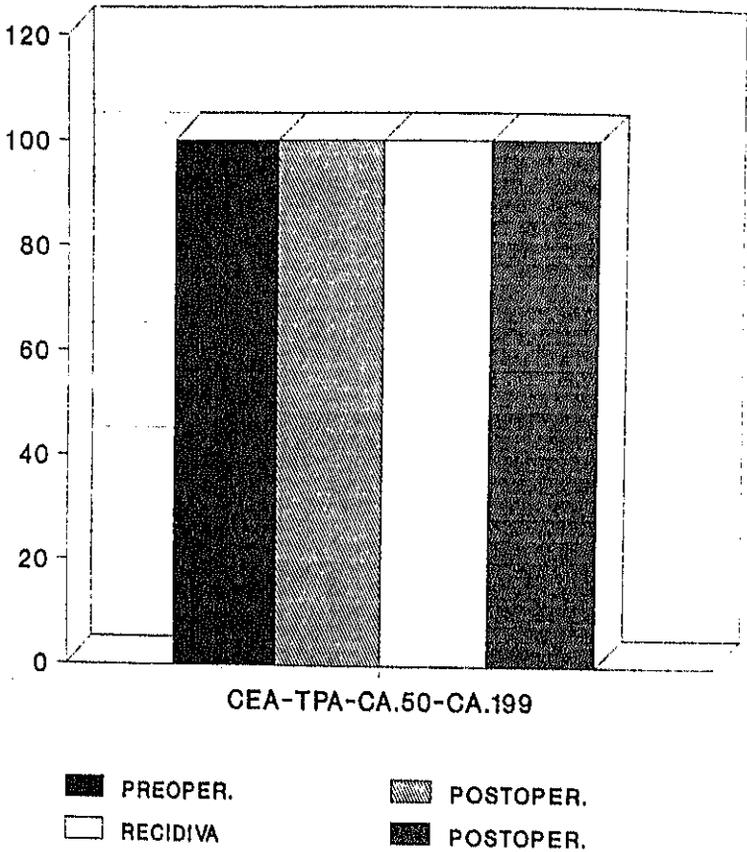


FIG.22

8) ANTICUERPOS MONOCLONALES (B72.3).- Hemos realizado la Inmunohistoquímica e Histoquímica en todos los enfermos con las Técnicas de Tinción de Inmunoperoxidasa y Hematoxilina y Eosina respectivamente, comparando los dos métodos y utilizando el mismo caso para demostrar las diferencias existentes.

Los RESULTADOS han sido los siguientes:

De los 100 casos estudiados han correspondido 99 a Adenocarcinomas y tan solo 1 a un Carcinoma Neuroendocrino de alto grado de malignidad de células pequeñas. La tinción por el B72.3 ha sido fuertemente positiva en los Adenocarcinoma (100%) no tiñéndose el tumor Neuroendocrino ni los tejidos benignos. En 6 enfermos se ha cambiado el Estadiaje: 3 por encontrarse grupos celulares y células aisladas infiltrando la muscular (A-B) y 3 por permeación vascular (B-C) al encontrarse células en el interior de los vasos. En todos estos casos no se observó por el método convencional de HE.

Las Figuras nos indican los resultados obtenidos:

- 1.- Mostramos Mucosa Colónica normal con Tinción de Hematoxilina y Eosina X200 (Figura 23) y de Inmunoperoxidasa X400 con el Anticuerpo Monoclonal B72.3 (Figura 24).
- 2.- Zona de Adenoma Tubular (Pólipo adenomatoso) con atipias nucleares severas vecina de Adenocarcinoma de Colon. Tinción de Hematoxilina y Eosina X100 (Fig.25).
- 3.- Zona de Adenoma Tubular (Pólipo adenomatoso) vecina de Adenocarcinoma de Colon que muestra positividad al Anticuerpo B72.3. Tinción de Inmunoperoxidasa X100. (Fig.26)
- 4.- Glándula del Adenoma Tubular de la figura anterior con Tinción de Inmunoperoxidasa X1.000. (Fig.27).
- 5.- Glándula de Adenocarcinoma de Colon productor de moco que infiltra la muscular. Tinción de Hematoxilina y Eosina X200. (Fig.28).
- 6.- Adenocarcinoma de Colon productor de moco con fuerte tinción para el B72.3 de las células tumorales (Inmunoperoxidasa X400). (Fig.29).

- 7.- Adenocarcinoma de Colon productor de moco. Tinción de Hematoxilina y Eosina X200. (Fig.30).
- 8.- Adenocarcinoma de Colon productor de moco con fuerte tinción para el B72.3 de las células tumorales (Inmunoperoxidasa X400). (Fig.31).
- 9.- Infiltración de pared vascular por células neoplásicas sueltas difícilmente visibles con la tinción de rutina. Tinción con Hematoxilina y Eosina X200. (Fig.32).
- 10.- Vaso sanguíneo con algunas células positivas a la Inmunotinción de B72.3 en su luz. Tinción de Inmunoperoxidasa X400. (Fig.33).
- 11.- Adenocarcinoma de Colon con necrosis celular. Tinción con Hematoxilina y Eosina X400. (Fig.34).
- 12.- Adenocarcinoma de Colon. Se ven glándulas tumorales y células neoplásicas sueltas infiltrando la muscular que son puestas de manifiesto por la Inmunotinción para B72.3. (Inmunoperoxidasa X200). (Fig.35).
- 13.- Se ven células tumorales sueltas infiltrando la muscular detectadas por la Inmunotinción para B72.3. (Inmunoperoxidasa X400). (Fig.36).
- 14.- Dos células Neoplásicas aisladas en la muscular evidenciadas por la Inmunotinción para B72.3. (Inmunoperoxidasa X1.000). (Fig.37).
- 15.- Infiltración de pared vascular por células neoplásicas sueltas y difícilmente visibles con la tinción convencional. (Hematoxilina y Eosina X400). (Fig.38).
- 16.- Adenocarcinoma de Colon con células neoplásicas positivas para la Inmunotinción de B72.3. (Inmunoperoxidasa X200). (Fig.39).
- 17.- Adenocarcinoma Colon alto grado malignidad donde se ven atipias severas. Hematoxilina y Eosina X400. (Fig.40).
- 18.- Adenocarcinoma Colon alto grado de malignidad con infiltración de la grasa pericélica. Tinción de Hematoxilina y Eosina X200. (Fig.41).

- 19.- Adenocarcinoma de Colon de alto grado de malignidad en el que se ven atiplas severas y dos figuras mitóticas. Tinción de Hematoxilina y Eosina X1.000. (Fig.42).
- 20.- Adenocarcinoma de Colon de alto grado de malignidad donde se observa fuerte positividad de las células tumorales con el Anticuerpo B72.3. Tinción de Inmunoperoxidasa X400. (Fig.43).
- 21.- Adenocarcinoma de Colon apreciándose necrosis superficial e infiltración de la submucosa. Tinción de Hematoxilina y Eosina X100. (Fig.44).
- 22.- Adenocarcinoma de Colon en el que se ve muscularis mucosa separando mucosa normal y tumor necrosado. Tinción de Hematoxilina y Eosina X100. (Fig.45).
- 23.- Adenocarcinoma de Colon en el que se observa fuerte positividad al Anticuerpo B72.3. Tinción de Inmunoperoxidasa X400. (Fig.46).
- 24.- Adenocarcinoma de Colon con infiltración de la grasa pericólica en un Estadio B de Duckes. Tinción de Hematoxilina y Eosina X100. (Fig.47).
- 25.- Adenocarcinoma de Colon con infiltración de la grasa pericólica en un Estadio B de Duckes. Tinción de Hematoxilina y Eosina X200. (Fig.48).
- 26.- Adenocarcinoma de Colon con Infiltración de la grasa pericólica en un Estadio B de Duckes. Tinción de Hematoxilina y Eosina X400. (Fig.49).
- 27.- Adenocarcinoma de Colon del mismo caso anterior donde se demuestra una fuerte positividad de las células tumorales al Anticuerpo Monoclonal B72.3 grasa. Tinción de Inmunoperoxidasa X400. (Fig.50).

RESULTADOS ANTICUERPOS MONOCLONALES (B72.3)
HISTOQUIMICA E INMUNOHISTOQUIMICA

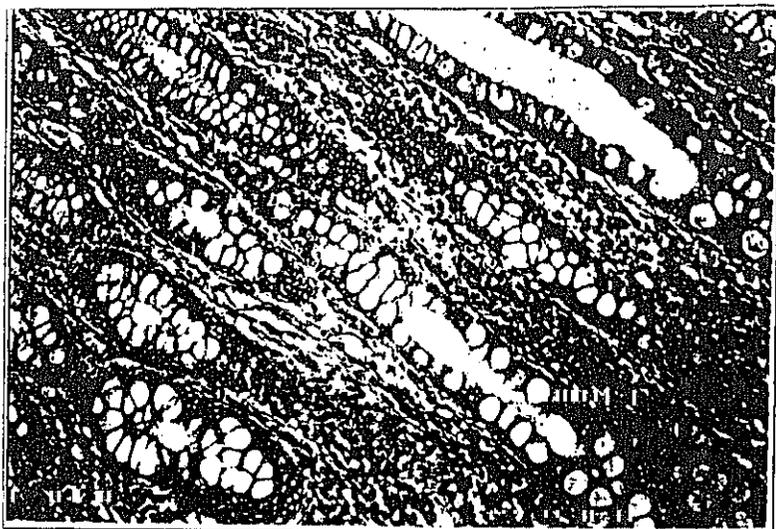


FIG. 23
Mucosa colónica normal.- HE.- X200

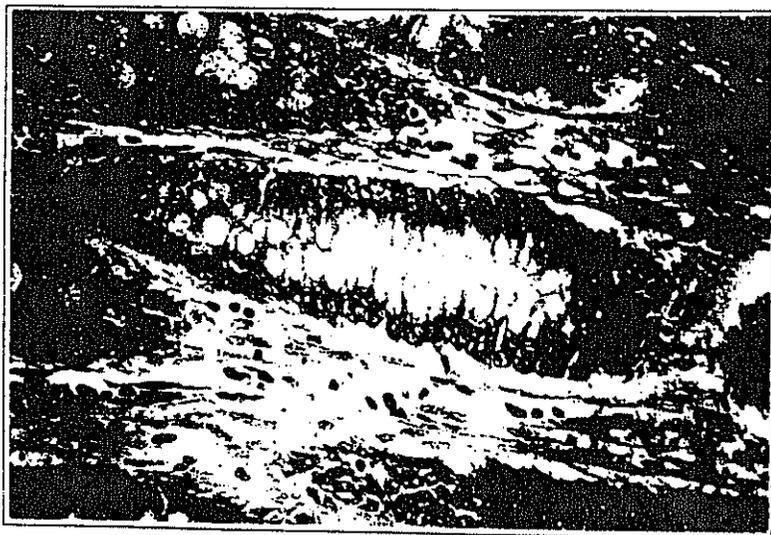


FIG. 24
Mucosa colónica normal.- Inmunoperoxidasa.- X400

RESULTADOS ANTICUERPOS MONOCLONALES (B72.3)
HISTOQUIMICA E INMUNOHISTOQUIMICA

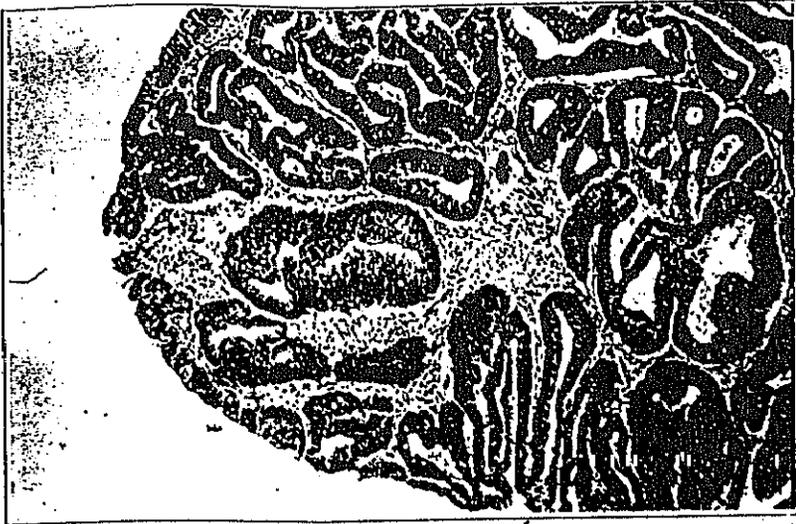


FIG. 25
Adenoma Tubular.- HE.- X100



FIG. 26
Adenoma tubular.- Inmunoperoxidasa.- X100

RESULTADOS ANTICUERPOS MONOCLONALES (B72.3)
HISTOQUIMICA E INMUNOHISTOQUIMICA

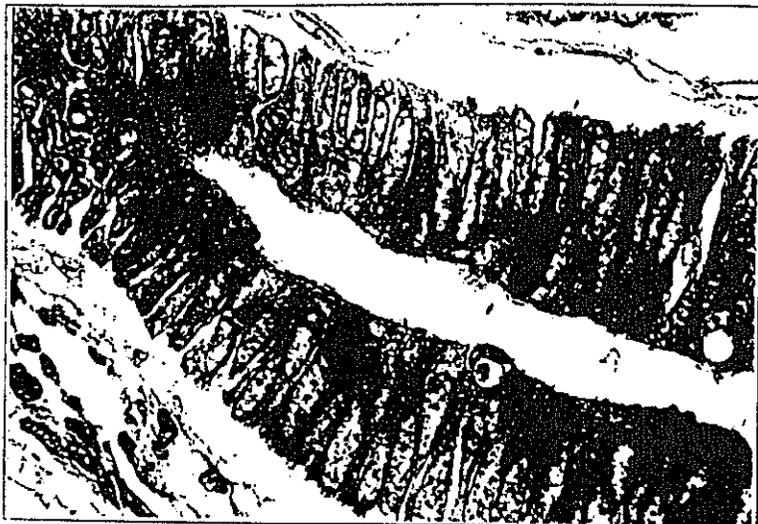


FIG. 27
Adenoma Tubular.- Inmunoperoxidasa.- X1.000

RESULTADOS ANTICUERPOS MONOCLONALES (B72.3)
HISTOQUIMICA E INMUNOHISTOQUIMICA

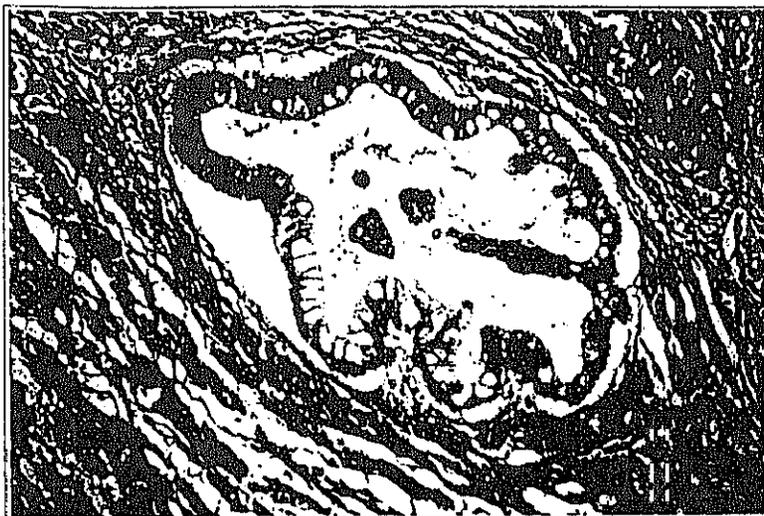


FIG. 28
Adenocarcinoma de Colon.- HE.- X200

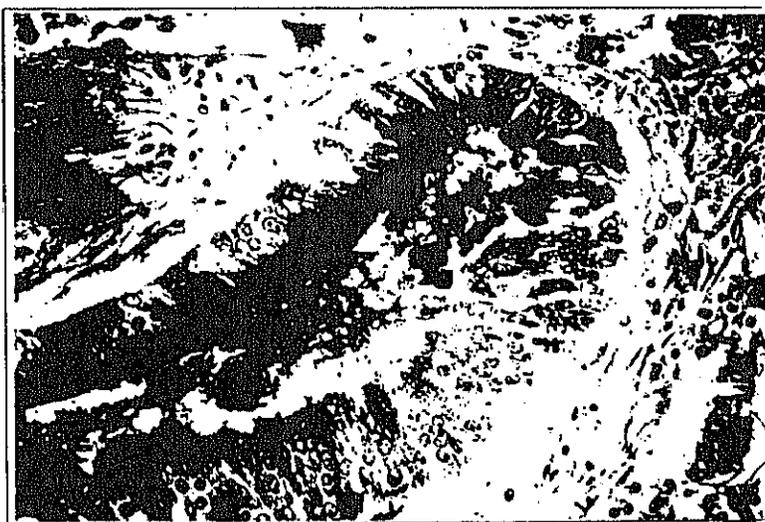


FIG. 29
Adenocarcinoma de Colon.- Inmunoperoxidasa.- X400



RESULTADOS ANTICUERPOS MONOCLONALES (B72.3)
HISTOQUIMICA E INMUNOHISTOQUIMICA



FIG. 30
Adenocarcinoma de Colon.- HE, X200



FIG. 31
Adenocarcinoma de Colon.- Inmunoperoxidasa.- X400

RESULTADOS ANTICUERPOS MONOCLONALES (B72.3)
HISTOQUIMICA E INMUNOHISTOQUIMICA

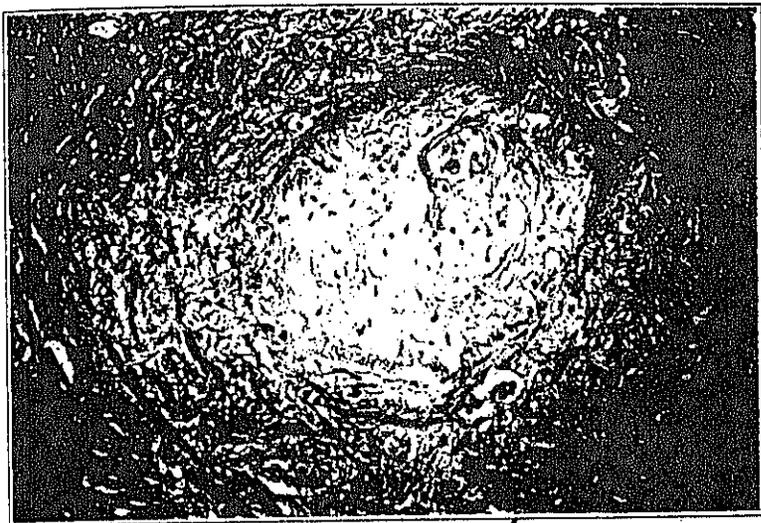


FIG. 32
Adenocarcinoma de Colon.- HE.- X200

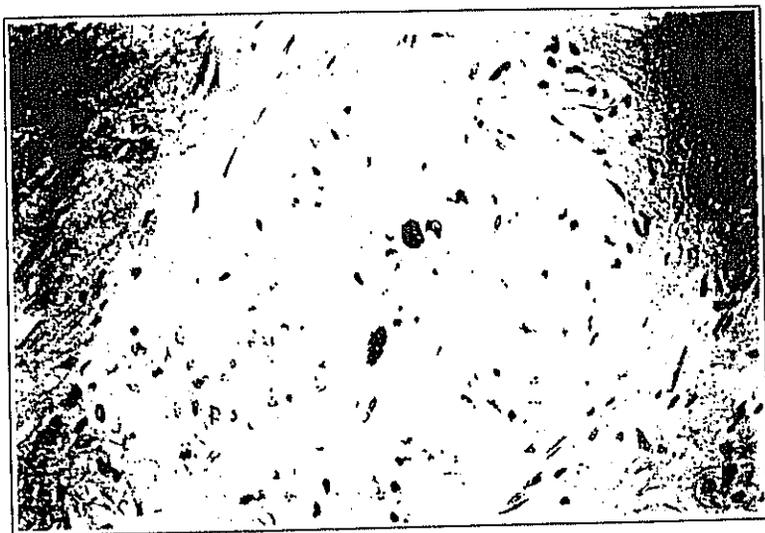


FIG. 33
Adenocarcinoma de Colon.- Inmunoperoxidasa.- X400

RESULTADOS ANTICUERPOS MONOCLONALES (B72.3)
HISTOQUIMICA E INMUNOHISTOQUIMICA

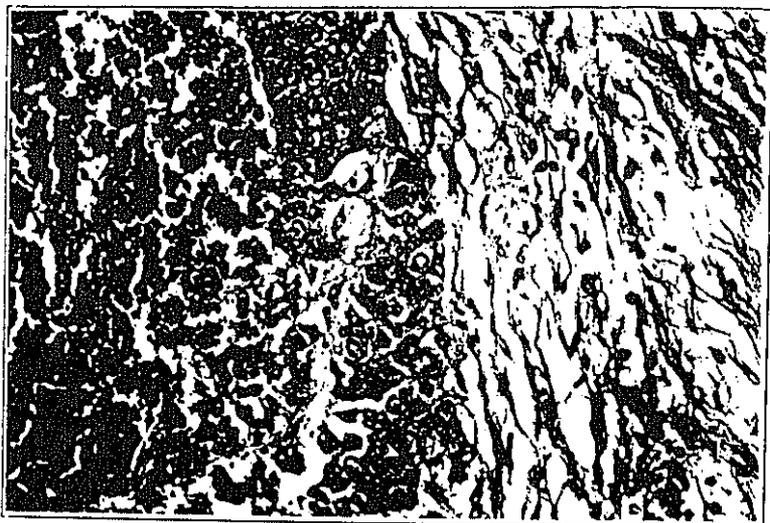


FIG. 34
Adenocarcinoma Colon.- HE.- X400

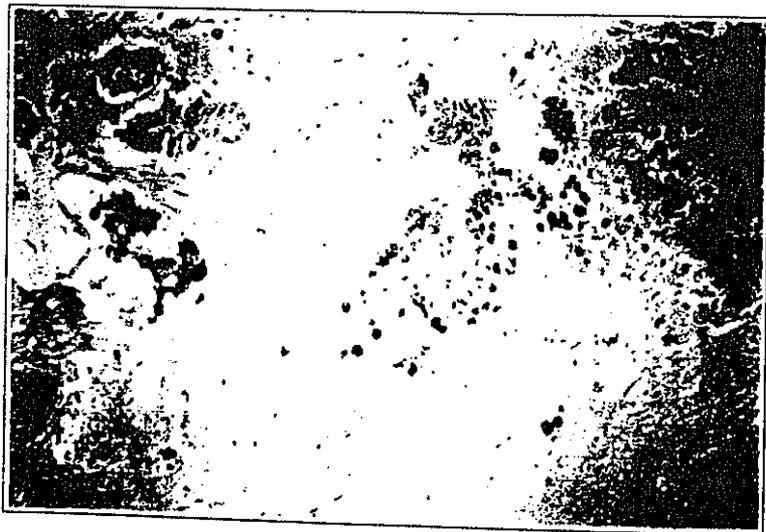


FIG. 35
Adenocarcinoma Colon.- Inmünoperoxidasa.- X200

RESULTADOS ANTICUERPOS MONOCLONALES (B72.3)
HISTOQUIMICA E INMUNOHISTOQUIMICA

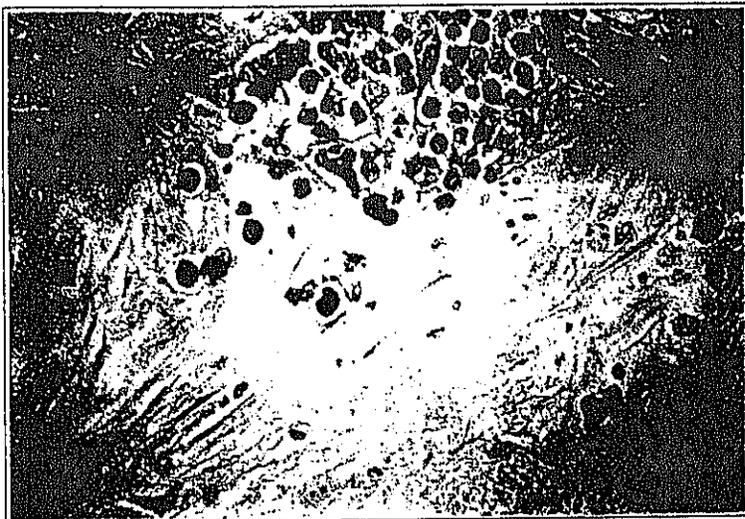


FIG. 36
Adenocarcinoma Colon.- Inmunoperoxidasa.- X400

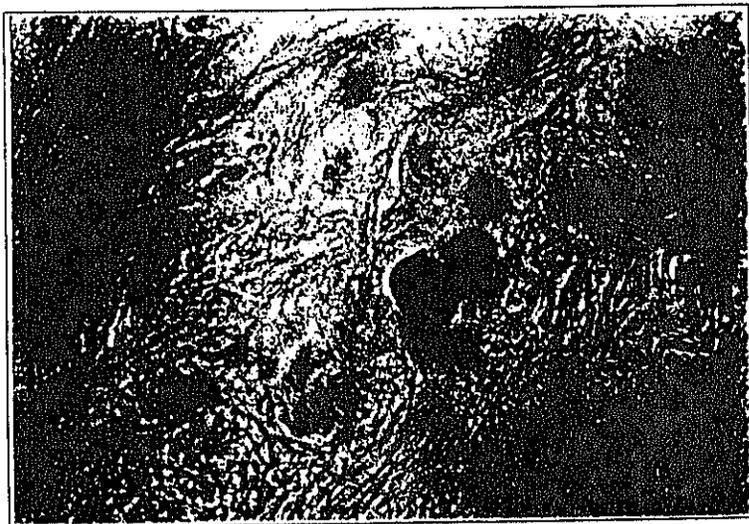


FIG. 37
Adenocarcinoma Colon.- Inmunoperoxidasa.- X1.000

RESULTADOS ANTICUERPOS MONOCLONALES (B72.3)
HISTOQUIMICA E INMUNOHISTOQUIMICA

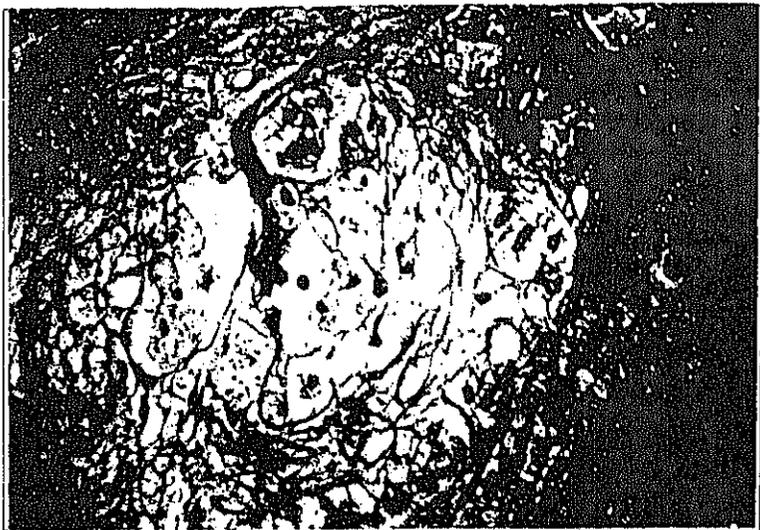


FIG. 38
Adenocarcinoma de Colon.- HE.- X400



FIG. 39
Adenocarcinoma de Colon.- Inmunoperoxidasa.- X200

RESULTADOS ANTICUERPOS MONOCLONALES (B72.3)
HISTOQUIMICA E INMUNOHISTOQUIMICA



FIG. 40
Adenocarcinoma de Colon.- HE.- X400

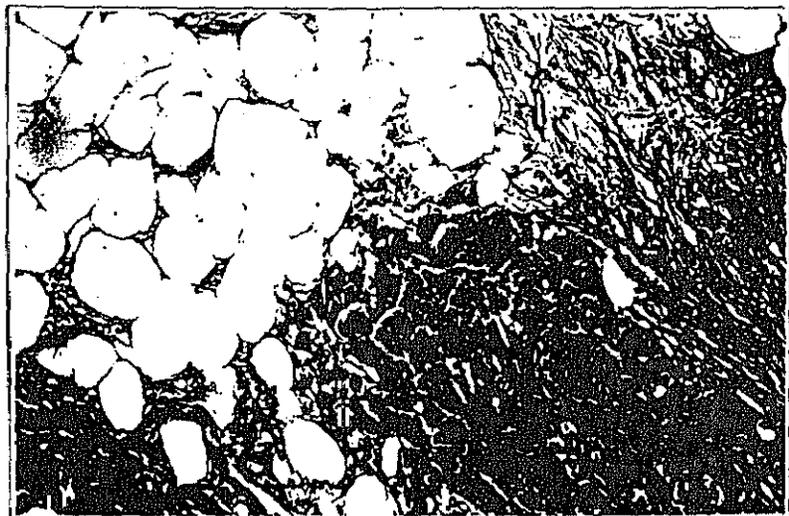


FIG. 41
Adenocarcinoma de Colon.- HE.- X200

RESULTADOS ANTICUERPOS MONOCLONALES (B72.3)
HISTOQUIMICA E INMUNOHISTOQUIMICA



FIG. 42
Adenocarcinoma de Colon.- HE.- X1.000



FIG. 43
Adenocarcinoma de Colon.- inmunoperoxidasa.- X400

RESULTADOS ANTICUERPOS MONOCLONALES (B72.3)
HISTOQUIMICA E INMUNOHISTOQUIMICA

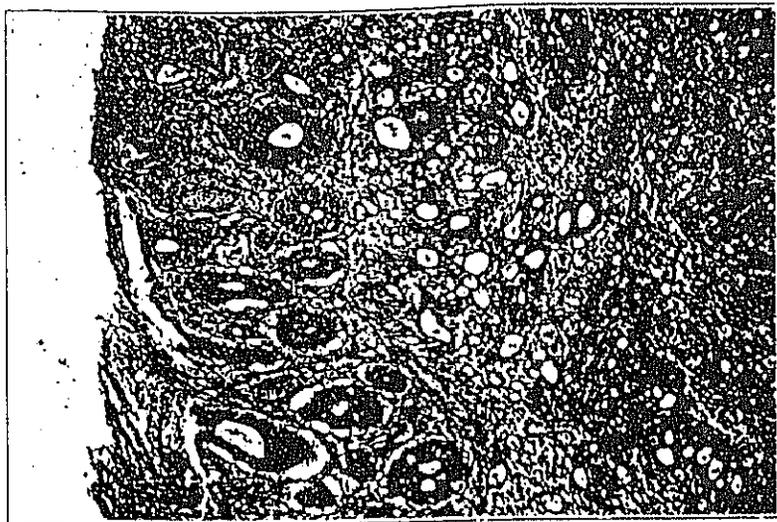


FIG. 44
Adenocarcinoma de Colon.- HE.- X100

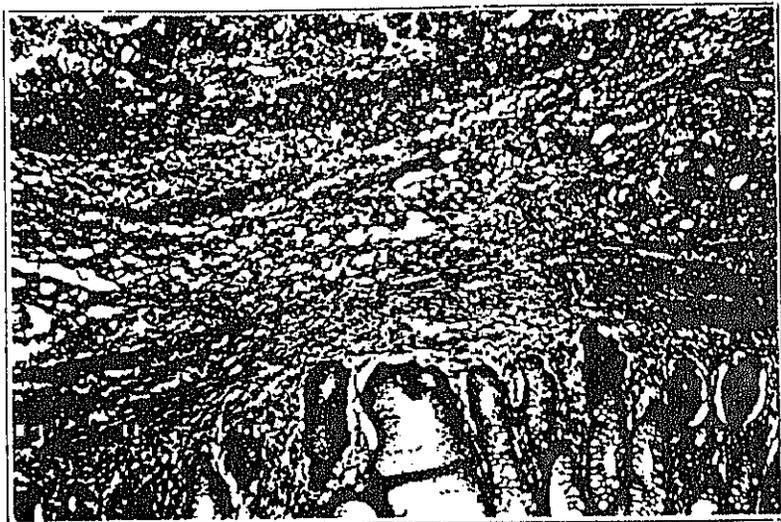


FIG. 45
Adenocarcinoma de Colon.- HE.- X100

RESULTADOS ANTICUERPOS MONOCLONALES (B72.3)
HISTOQUIMICA E INMUNOHISTOQUIMICA

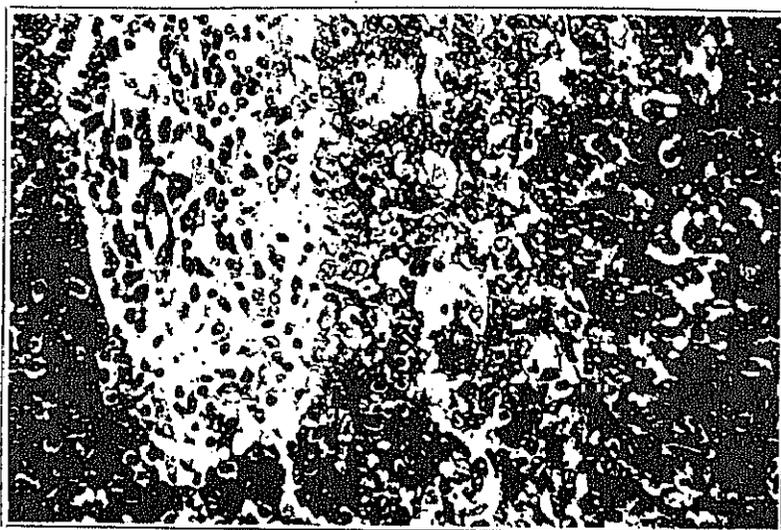


FIG. 46
Adenocarcinoma de Colon.- Inmunoperoxidasa.- X400

RESULTADOS ANTICUERPOS MONOCLONALES (B72.3)
HISTOQUIMICA E INMUNOHISTOQUIMICA

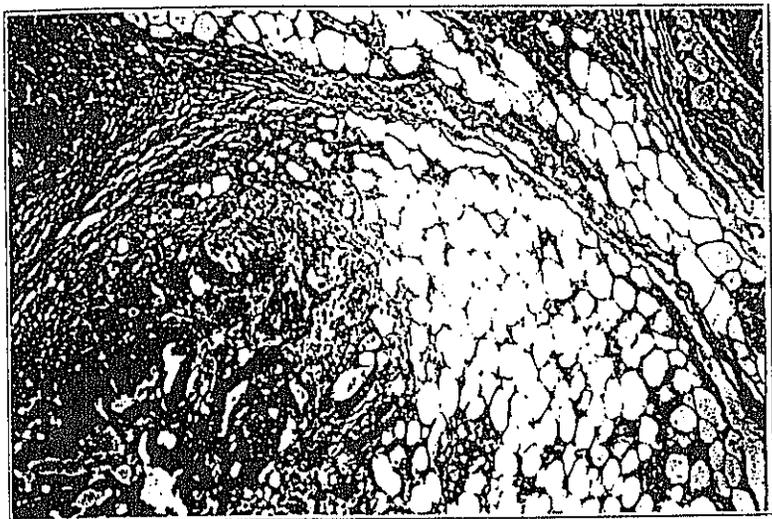


FIG. 47
Adenocarcinoma (Infiltración grasa).- HE.- X100



FIG. 48
Adenocarcinoma (Infiltración grasa).- HE.- X200

RESULTADOS ANTICUERPOS MONOCLONALES (B72.3)
HISTOQUIMICA E INMUNOHISTOQUIMICA

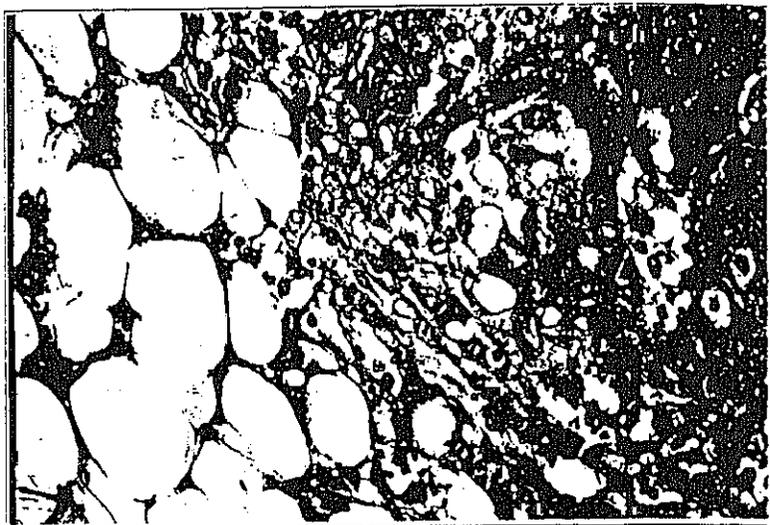


FIG. 49
Adenocarcinoma (Infiltración grasa).- HE.- X400

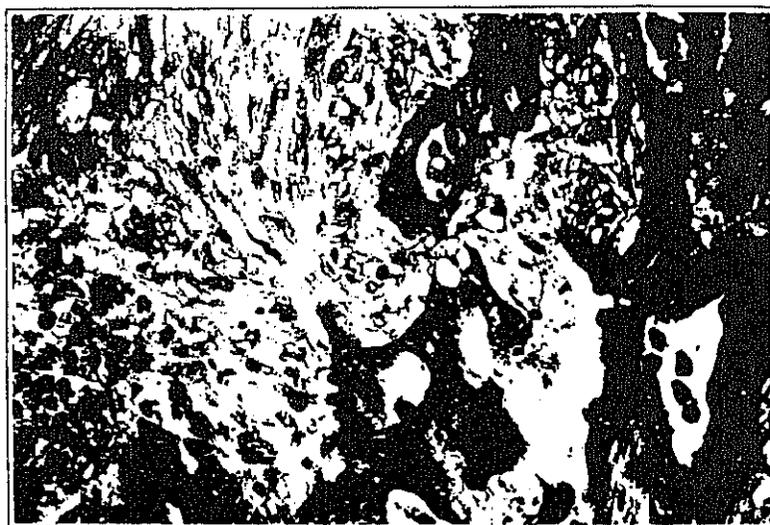


FIG. 50
Adenocarcinoma (infiltración grasa).- Inmunoperoxidasa.- X400

DISCUSSION

El problema del Carcinoma Colorrectal es su Diagnóstico, dependiendo el Pronóstico del Estadio y de un buen Seguimiento, en especial con la detección precoz de Metástasis y Recidivas lo que conseguiremos merced a los Anticuerpos Monoclonales y los Marcadores Tumorales.

En relación a la EDAD, SEXO, LOCALIZACION, CLINICA, ESTADIOS y FALLECIMIENTOS los resultados obtenidos coinciden con la mayoría de los autores. (2,12,123-125), no así en las RECIDIVAS que se da en un porcentaje del 12% (126), siendo más o menos elevada según la localización del tumor. La intervención quirúrgica será correcta evitando la exfoliación celular (127), aunque hay autores que no la considera importante (128), y ligando correctamente los vasos (primero la vena) para disminuir el flujo de circulación linfática con aumento del riesgo de diseminación (129). En nuestro estudio el número global ha sido del 7% debido a que hemos controlado los enfermos durante seis meses, mientras que el tiempo medio considerado por algunos autores (126) ha sido de treinta meses.

MARCADORES TUMORALES MONOCLONALES.-

Descartamos la ALFAPROTEINA, ya que según los resultados obtenidos no tiene ningún valor en esta Patología. Vamos a estudiar individualmente el resto de Marcadores Tumorales Monoclonales para después correlacionarlos entre ellos

1.- ANTIGENO CARCINOEMBRIÓNARIO (CEA).- Refiriéndonos a la Especificidad en el Preoperatorio Lamíquiz y cols. (108) han encontrado que en el Estadio B es del 40% y de 28% en el Estadio C, considerando como valor normal del CEA el de 3 ng/ml. al determinarlo por Técnicas Policlonales. Realizan comparaciones con diferentes autores observando que Marcuello y cols. (81) dan unas cifras del 100% en el Estadio D, y Mach y cols. (130) refieren unas determinaciones globales muy elevadas en relación con el resto de autores (83, 131, 132).

En nuestro estudio los valores no difieren más que en lo referente al Estadio D donde las cifras son muy elevadas en todos los casos, demostrando que para nosotros el TPA ha sido más determinante que el CEA, y en los Estadios B y C, a excepción de las ofrecidas por Mach y Piqué (130,132), nuestros valores son más altos que los de H.Cruces (108), Bombardieri (131) y Szymedera (83). (Tabla).

TABLA

	A	B	C	D
Mach (130)	58	68	71	81
Szymedera (83)	25	30	59	53
Bombardieri (131)	0	9	55	93
Marcuello (81)	0	54	53	100
Piqué (132)		57	68	90
H. Cruces (108)		40	28	69
Marín	33	49	48	29

En cuanto a la Sensibilidad autores como Miridi y Wolmark (133,134), aceptan que los niveles positivos de CEA están en relación directa con el Estadio de la enfermedad, dando valores medios de 4, 9, 32 y 250 ng/ml. para los Estadios A, B, C y D respectivamente en una serie de 945 enfermos con Cáncer Colorrectal, siendo en nuestro estudio de: 4,49; 23; 31 y 20 ng/ml. (Tabla I), observando que son muy parecidos a excepción del Estadio D, lo que demuestra que el TPA ha sido más determinante que el CEA

En relación al Postoperatorio Staab y cols. (84) afirman que al researse la tumoración se produce una disminución inmediata del CEA. En un estudio de 163 enfermos realizó determinaciones entre los 10-20 días apreciando que habían descendido en el 38% de los pacientes reseados, mientras que en los que no lo fueron los niveles se mantenían o aumentaban. Nosotros no hemos realizado estudio comparativo con enfermos no reseados, pero a los siete días la disminución ha sido del 70% en el Estadio A, 45% en el Estadio B, 31% en el Estadio C y 52% en el Estadio D, siendo a los seis meses del 70%, 45%, 0% y 52% respectivamente (Tabla II), apreciando que los valores son más significativos en nuestro trabajo.

RECIDIVAS.-

Cuando los niveles de CEA en el Preoperatorio están elevados se acompañan de mayor número de recidivas (135,136), estableciendo que el 50% se producen en aquellos enfermos con el CEA alto frente a solo el 25% en los que es normal. (137), demostrando Wanebo y cols. (138) que los enfermos en Estadio B en estas condiciones presentan un 52% de Recidivas a los 30 meses frente a un 22% si el CEA era normal. En el Estadio C los porcentajes eran del 85% y 59% respectivamente. Kohler y cols.(139) afirman que si los valores de CEA son superiores a 20 ng/ml. la correlación por Estadios es aun más alta, e Imperato y cols.(140) establecen en una serie de 5.164 enfermos de Cáncer de Colon y 2.577 de Cáncer de Recto como factor de mal pronóstico, entre otros, la elevación del CEA Preoperatorio.

Todos los autores están de acuerdo en que un CEA Postoperatorio que no tiende a la normalización, nos puede estar orientando hacia una recidiva o persistencia tumoral (141-146), así como que si se normaliza no la excluye necesariamente y mucho más si en el Preoperatorio no estaba aumentado (134-136), considerando que suele adelantarse en un periodo de un año a la demostración clínica de la Recidiva tumoral.

En nuestro trabajo apreciamos que la Especificidad Preoperatoria es de un 71%, con una cifra media de Sensibilidad de 32,73 ng/l., bajando en el Postoperatorio inmediato al

57%, pero con un valor medio de 26,04 ng/ml. a pesar de la resección, confirmando que las cifras de CEA persistentemente elevadas nos pueden llevar a la sospecha de una posible recidiva o persistencia tumoral, comprobando que en el 57,1% de los casos el CEA estaba elevado por encima de 20 ng/ml, manteniéndose en el Postoperatorio inmediato aunque descendió al 42,9%, aumentando en la Recidiva (57,1%) y permaneciendo en el Postoperatorio de la Recidiva o resección incompleta en el 85,7%. (Tablas IX-X).

Los datos son muy parecidos aunque los Títulos de CEA son más elevados en el Estadio C, y se debe a que hemos controlado las recidivas tan solo durante los seis primeros meses del postoperatorio, mientras que los demás autores lo han efectuado durante treinta meses.

Con respecto al Postoperatorio podemos apreciar que el CEA permanece alto en las recidivas, considerando muy importante este Marcador Tumoral para el seguimiento y control de las mismas.

Por algunos autores se ha planteado la relaparotomía de aquellos enfermos con aumento persistente del título de CEA, comprobándose que la mayor parte de los enfermos tenían enfermedad metastásica (143-146), lo que nos indica que el CEA se asocia más a la enfermedad metastásica (146) que a la recidiva en si.

Podemos concluir diciendo que el CEA, per se, es muy importante en el Seguimiento, Pronóstico y detección de Metástasis y Recidivas y dependiendo del título que tenga nos orientará hacia posible metástasis (más de 100 ng/ml.), o una Recidiva (20 ng/ml.).

En cuanto a la Relaparotomía consideramos, al igual que Martin y cols. (145), que se acompañará de las exploraciones clínicas convencionales como son Colonoscopia, Enema Opaco, TAC, Ecografía etc.

El CEA no sirve de screening, ya que se encuentra elevado en múltiples procesos benignos (147) dando lugar a falsos positivos. Hay que corregirlo siempre con otros Marcadores Tumorales, pues su Sensibilidad y Especificidad se amplía considerablemente.

Aconsejamos que siempre se pida en: Preoperatorio, Postoperatorio inmediato (5-7 días), a los dos meses y a los seis meses como Seguimiento y Pronóstico inmediato del Cáncer Colorrectal así como por posible metástasis, recidiva o resección incorrecta, y si está alto en el Preoperatorio y no desciende en el Postoperatorio las determinaciones se efectuarán cada 15 días para así poder detectar precozmente la Recidiva o persistencia tumoral descar-

tando patología benigna concomitante, acompañado siempre de los medios clínicos habituales. Si las cifras permanecen bajas o se normalizan las determinaciones las haremos cada seis meses hasta los cinco años.

2.- ANTIGENO POLIPEPTIDO TISULAR (TPA).- Es un Marcador Tumoral Monoclonal que en nuestra serie es tan importante como el CEA en el Seguimiento y detección de Metástasis y Recidivas.

En relación a la Sensibilidad Preoperatoria Bauman (148) en una serie de 248 enfermos aprecia que la del TPA es del 73%, superior a la del CEA que es de un 26%, aunque otros autores como Putzki y cols. (149) afirman que el CEA (67%) tiene mayor Sensibilidad que el TPA (36%), así como que la combinación de varios Marcadores Tumorales no la aumenta, predominando más los autores (150,151) que consideran al TPA como uno de los antígenos tumorales más sensibles en esta Patología, especialmente en la detección de metástasis.

En nuestro estudio la Sensibilidad del TPA se encuentra más elevada en los Estadios B, C y D, mostrando unos valores medios proporcionalmente más altos en los Estadios metastásicos ($C = 235'44 \text{ U/L} \pm 427'65$ y $D = 320 \text{ U/L} \pm 221'88$) que en el $A = 73'3 \text{ U/L} \pm 25'84$ y $B = 141'30 \text{ U/L} \pm 208'05$, con una Especificidad mayor en los Estadios C (46%) y D (86%) que en el A (20%) y B (38%), debido a la Sensibilidad y Especificidad que este Antígeno Tumoral tiene para la determinación de Metástasis. (Tablas I-II).

Podemos comprobar que las cifras obtenidas en nuestra serie están más de acuerdo con los autores que manifiestan la importancia de este Antígeno en el Seguimiento de esta patología así como en la determinación de Metástasis.

En los estudios Postoperatorios en la revisión realizada no hemos encontrado Bibliografía. Demostramos que sus valores disminuyen después de resección radical a los siete días siendo aun más llamativo a los seis meses que es del 100%, 42%, 24% y 66% en los Estadios A, B, C y D respectivamente. (Tablas III-IV, VII-VIII).

RECIDIVAS.- En la revisión efectuada no hemos encontrado Bibliografía. Los valores son: 57% de Especificidad en el Preoperatorio con un dintel medio de Sensibilidad de $220'14 \text{ U/ml} \pm 232'21$. En el Postoperatorio la Especificidad se mantiene en el 57%, bajando el valor medio de Sensibilidad a $139'42 \text{ U/ml} \pm 160'86$ elevándose en el momento de la

Recidiva tanto la Especificidad (71%) como la Sensibilidad (434,43 U/ML.±327'83), siendo la Especificidad del 71% en el Postoperatorio de la Recidiva y de 292,43 U/ml.±294'26 la Sensibilidad. (Tablas IX y X)

El Antígeno Polipéptido Tisular (TPA) es un Marcador Tumoral Monoclonal muy poco utilizado en el Seguimiento, Pronóstico y determinación de Metástasis y Recidivas en el Carcinoma Colorrectal, pensando que es debido a que se eleva en todo tipo de neoplasias y tiene aplicaciones muy similares al Antígeno Carcinoembrionario (CEA), demostrándose en nuestro trabajo que es tan importante como él en la detección de Metástasis y Recidivas así como en el Seguimiento y Pronóstico de la Patología Colorrectal.

3.- CARBOHIDRATO 50 (CA.50).- Es un Marcador Tumoral Monoclonal del que en la actualidad existe muy poca literatura.

Tiene tres particularidades muy importantes:

- 1) Reacciona en tejidos de pacientes Lewis negativos
- 2) Es una IgM.
- 3) No se encuentra en la mucosa colónica normal.

En estudios realizados por J. Holmgren y cols. (97) se aprecia una positividad del 67% en 55 casos de carcinoma Colorrectal, siendo más llamativos los del Estadio B que son del 100% (6/6). En este trabajo no se realizan estudios postoperatorios ni seguimiento de recidivas, pero se compara con otros tipos de carcinoma como por ejemplo el Cáncer de Pulmón con una positividad del 13%, Cáncer ginecológico (3% para útero y 40% para el de ovario) y para el Cáncer de Próstata 0%. Genollá y cols.(99) encuentran una Sensibilidad del 25,7% en el Estadio B, 38,4% en el Estadio C y del 76,5% en el Estadio D. La Especificidad sin embargo es del 96,1% en todos los Estadios.

En relación con nuestros resultados podemos observar que la Especificidad global de estos autores es muy alta (50% en nuestro estudio), sin embargo en cuanto a la Sensibilidad los valores medios son más bajos en todos los Estadios. (Tablas I-II).

En estudios realizados por Lamfquiz y cols.(107,108) hacen estudio comparativo con el Ca.19.9 encontrando valores muy parecidos de sensibilidad entre los dos así como en las Recidivas (sensibilidad del 50%), apreciando más falsos positivos en el Ca.50 que en el

Ca.19.9., y en 1,985 Bruha y cols.(98) comunica sus resultados sobre niveles de Ca.50 en diferentes tumores. Con una normalidad basal de 17 U/ml. la Especificidad en el Carcinoma Colorrectal es del 62%, sin especificar Estadios, siendo la del Ca.19.9 y del CEA del 59%. También estudia el postoperatorio con resección tumoral apreciando un descenso en las cifras del Ca.50 mientras que si solo había existido resección paliativa, las cifras no solo permanecían en sus valores, sino que aumentaban.

En nuestro trabajo la disminución a los siete días es del 25%, 14% y 25% en los Estadios B, C y D respectivamente, y a los seis meses del 100%, 53% y 30% para los Estadios A, B, y C. (Tabla IV).

Jalanko y cols. (100) afirman que en el Cáncer Colorrectal la Especificidad del Ca.50 y del Ca.19.9 es mayor que la del CEA, sin embargo la Sensibilidad es menor dando unas cifras del 28% en los estadios A y B, mientras que en los Estadios C y D es del 48%.

En nuestro estudio tanto los valores medios de Sensibilidad como la Especificidad son más elevados en el Ca.50 que en el CEA, siendo también más altos globalmente en los referidos al Antígeno Carbohidrato 50. (Tablas I-II)

Lindholm y cols.(152) dan una Sensibilidad para el Estadio B del 70%, mientras que Paganuzzi (101) encuentra una Especificidad del 98% y una Sensibilidad global del 64% en el Cáncer Colorrectal.

RECIDIVAS.-

En el Preoperatorio, la Especificidad fue del 71%. En el Postoperatorio inmediato se mantuvo y, en el momento de la Recidiva, subió al 100%. Esto es debido a que en los casos de Recidivas, habría más tejidos Lewis negativos que positivos. (Tabla X).

En cuanto a la Sensibilidad observamos que el valor medio Preoperatorio está muy elevado (139 U/ml.±164'76), aumentando en el momento de la Recidiva (318'43 U/ml.±406'46, y disminuyendo en el Postoperatorio de la Recidiva (153'71 U/ml. ±135'95). (Tabla IX).

En estudios realizados por Lamfquiz y cols.(107,108), dan una Sensibilidad del 50% en las Recidivas, pero no ofrecen datos de la Especificidad. En relación con nuestro estudio,

podemos apreciar que la Especificidad en la Recidiva es del 100%, siendo la sensibilidad muy elevada $318'43 \pm 406'46$ U/ml.

Podemos concluir afirmando que el CA.50 tiene gran Especificidad y Sensibilidad en el Carcinoma Colorrectal y en especial en la detección de Recidivas, por lo que es muy importante utilizarlo en el Seguimiento y Pronóstico así como en la determinación de Recidivas. Unido al CA.19.9 nos englobará todos los tejidos Lewis.

4.- CARBOHIDRATO 19.9 (CA.19.9).- Es un Marcador Tumoral Monoclonal muy utilizado en el Seguimiento y Pronóstico del Carcinoma Colorrectal. El valor basal es de <20 U/ml.

La Sensibilidad del Ca.19.9, para algunos autores (82,83, 131,132,153-155), es menor que la del CEA en el Preoperatorio del Carcinoma Colorrectal, y para Kuusela (85) el test del Carbohidrato 19.9 es más Específico que el del Antígeno Carcinoembrionario, siendo la Sensibilidad mayor del CEA en la relación del 69% al 36% con respecto al Ca.19.9. En nuestro trabajo la Sensibilidad y Especificidad del CA.19.9 es mayor que la del CEA en todos los Estadios.

En la Tabla se hace referencia a la Sensibilidad Preoperatorio que dan diferentes autores comparándolo con nuestro estudio, apreciando que las cifras son muy bajas a excepción de la de Bombardieri (131) en el Estadio D. No sabemos cual puede ser la causa, aunque pensamos que es debido a que las determinaciones se han realizado con Técnicas Policlonales en vez de Monoclonales, pero el Ca.19.9 por los resultados obtenidos en nuestra serie se muestra como un Marcador Tumoral Monoclonal de una gran Especificidad y Sensibilidad en el Cáncer Colorrectal. (Tabla I-II).

SENSIBILIDAD PREOPERATORIA DEL CA.19.9 POR ESTADIOS

TABLA

	A	B	C	D
KUUSELA (82)	0%	4%	35%	53%
SZYMENDERA (83)	0%	14%	15%	31%
BOMBARDIERI (131)	10%	18%	56%	86%
PIQUE (132)		23%	35%	63%
DEL VILLANO (153)	8%	17%	47%	58%
RITTS (154)	0%	8%	6%	29%
HERLYN (155)			18%	63%
LAMIQUIZ (108)		20%	13%	53%
MARIN	* 60%	51%	65%	71%

En cuanto al Postoperatorio, Staab (84), afirma que al existir reseccabilidad de la tumoración, se produce una disminución inmediata de los valores del Ca.19.9. Dicho autor en un estudio sobre 163 determinaciones realizadas entre el 10-20 días postoperatorio, observó una disminución significativa del Ca.19.9 en el 40% de los pacientes reseccados, mientras que los que no lo fueron los niveles se mantenían o aumentaban.

En nuestro estudio las determinaciones disminuyeron en un 12%, 25% y 20% en los Estadios B, C y D, manteniéndose en el A. A los seis meses fue de 100%, 39% y 22% en los Estadios A, B y C respectivamente. (Tablas IV, VIII).

Con referencia al Seguimiento y las Recidivas prácticamente todos los autores (82,83,129) coinciden en que debe ir correlacionado con el CEA, sin embargo hay muy pocos trabajos en relación al TPA y al Ca.50.

En nuestro estudio el CA.19.9, per se, mostró una Especificidad en la Recidiva del 86%

en el Preoperatorio. En el Postoperatorio fue también del 86% así como en el momento de la intervención de Recidiva. El no tener una Especificidad del 100% como el CA.50, se debe a que en nuestra serie tengamos más tejidos Lewis negativos que positivos.(Tabla X).

La Sensibilidad Preoperatoria es de 168'29 U/ml.±206'24 disminuyendo a 56'10 U/ml.±42'72 en el Postoperatorio a los siete días, elevándose en el momento de la Recidiva a 535'57 U/ml.±710'93 (la cifra normal es 20 U/ml.) bajando en el Postoperatorio de la Recidiva a 361'29 U/ml.±568'19 siempre con valores altos. Para la detección de la Recidiva se acompañó de otros Marcadores Tumorales Monoclonales así como de Pruebas Diagnósticas convencionales. (Tabla IX)

El Ca.19.9 es un Marcador Tumoral Monoclonal Específico (64% global) para el Carcinoma Colorrectal, y en especial, para la detección de Recidivas (86%).

Debido a su gran Sensibilidad nos será muy útil para el Seguimiento de dicha Patología, especialmente unido a otros Marcadores Tumorales Monoclonales aunque no nos sirve para el Diagnóstico, pero debido a su alta Especificidad y Sensibilidad, cuando las cifras en el Preoperatorio son elevadas o permanecen altas en el Postoperatorio, puede orientarnos a la existencia de Tumor, Recidiva o persistencia tumoral. Para realizar el Diagnóstico definitivo siempre irá acompañado de los métodos clínicos habituales.

ESTUDIO COMPARATIVO DE LOS MARCADORES TUMORALES MONOCLONALES EN EL CANCER COLORRECTAL.- Hasta ahora hemos hecho un estudio individualizado de los Marcadores. A continuación vamos a correlacionarlos entre ellos.

1.- CEA - Ca.19.9.- Es la correlación que más se ha utilizado, siendo muchos los autores que han empleado exclusivamente estos dos Marcadores Tumorales Monoclonales para el Seguimiento, Pronóstico y detección de Metástasis y Recidivas en el Cáncer Colorrectal.

Lamíquiz y cols.(108) llegan a la conclusión de que la sensibilidad preoperatoria del CEA (58%) es mayor que la del Ca.19.9 (34%). Asimismo apreciaron que en el Seguimiento de las Recidivas y/o Metástasis, el Antígeno Carcinoembrionario ofreció mayor información que el Carbohidrato 19.9 en la mayor parte de los casos.

En nuestro trabajo con la correlación de estos dos Marcadores Tumorales las Recidivas fueron detectadas en el 100% de los casos, siempre acompañado de las pruebas clínicas diagnósticas adecuadas.

En estudios realizados por Ruibal y cols. (118) dan una sensibilidad global en el Preoperatorio del 69%. Si hay metástasis (Estadios C y D) la sensibilidad es del 53% y si no existen (Estadios A y B) del 83%.

En nuestro estudio ocurre lo contrario, la sensibilidad es más elevada en los Estadios C y D (78%-80%) que en los Estadios A y B (58%-60%), aunque los valores son muy parecidos. En cuanto al Postoperatorio estos autores no nos dan determinaciones, sin embargo con la resección tumoral desciende a los siete días el 33%, 26%, 33% y 38% en los Estadios A, B, C y D respectivamente, siendo a los seis meses de 100%, 26%, 31% y 43%. (Tablas XI-XIV). Podemos apreciar que el CEA puede dar mayor información en las metástasis pero no así en las recidivas, dada la gran Especificidad que tiene el Ca.19.9 y la alta Sensibilidad del CEA para las Metástasis, por lo que la correlación de estos dos Marcadores Tumorales Monoclonales es muy útil. Siempre irá acompañado de los métodos Diagnósticos habituales.

2.- CEA - CA.50.- La Literatura de estos Marcadores Tumorales es muy escasa.

En nuestro estudio podemos observar que en el Preoperatorio la Especificidad es del 20%, 62%, 63% y 60% para los Estadios A, B, C y D respectivamente, siendo ligeramente inferiores a las de la correlación CEA- CA.19.9 pero bastante elevadas. (Tablas XI-XIV).

En el Postoperatorio a los siete días, los valores descienden un 0%, 39%, 0% y 52% en los Estadios A, B, C y D respectivamente, siendo a los seis meses de 50%, 48%, 21% y 0%. (Tablas XI-XIV).

En cuanto a las Recidivas los valores en el Preoperatorio son del 86% y en el momento de la Recidiva aumenta la Especificidad al 100%.

En estudios realizados por Bruhn (98) la Especificidad Preoperatoria al correlacionar estos dos Marcadores Tumorales subía al 81%, mientras que al realizar la resección bajaba casi a los límites de la normalidad.

Stahle y Cols.(156) demostraron una correlación entre la determinación preoperatoria del CEA y el pronóstico en enfermos con carcinoma colorrectal, siendo aun más fuerte con el TPA y con el Ca.50.

Dada la Especificidad del CA.50 así como la Sensibilidad del CEA esta correlación se

asemeja mucho a la anterior, dependiendo exclusivamente del número de Tejidos Lewis negativos (CA.50) o positivos (CA.19.9), siendo más frecuentes estos últimos.

3.-CA.50 - CA.19.9.- En la correlación de estos dos Marcadores Tumorales la literatura es muy escasa y pensamos que es debido a que el Ca.50 fue descubierto muy recientemente. (1.983).

En el Preoperatorio, la Especificidad es del 60%, 57%, 67% y 70% en los Estadios A, B, C y D respectivamente, comprobando que es muy elevada en especial en los Estadios metastásicos (C y D). (Tablas XI-XIV).

A los siete días de la resección tumoral la disminución es de 17%, 39%, 19% y 39% en los Estadios A, B, C y D respectivamente, siendo a los seis meses de 80%, 35%, 29% y 43% (Tabla XI-XIV). Con respecto a las Recidivas se puede apreciar que en el Preoperatorio es del 86%, mientras que en el momento de la Recidiva es del 100%. (Tabla XV).

Como conclusión podemos decir que al reconocer estos dos Marcadores Tumorales Monoclonales eptópos comunes, pero observando diferencias que afectan a su Especificidad Tumoral: CA.50 reacciona en tejidos Lewis negativos, es una IgM y no se encuentra en la mucosa colónica normal, podemos determinar la totalidad de los Tumores Colorrectales, siendo su especificidad muy elevada.

4.- TPA-CEA.- Hay muy pocos autores que hagan determinaciones del TPA y menos aun correlacionado con el CEA, sin embargo Bauman y cols.(148) dan una sensibilidad en el Preoperatorio del 73% para el TPA y del 26% para el CEA, y Ruibal (118) un 50% en los Estadios metastásicos (C y D) y 83% en los no metastásicos (A y B).

En nuestro trabajo el Preoperatorio es del 30% en el Estadio A, 54% en el B (sin metástasis), 61% en el C y 100% en el D (con metástasis), debido a las determinaciones del TPA que han estado elevadas en todos los casos. Ello se debe al TPA que en nuestra serie determina mejor las metástasis que el CEA. (Tablas XI-XIV).

En relación con el resto de autores podemos comprobar que la sensibilidad de los dos Marcadores Tumorales Monoclonales aumenta en relación con la de cualquiera de ellos individualizado, llegando a ser del 61% y 100% en los Estadios metastásicos.

En el Postoperatorio a los siete días decaen el 0% en el Estadio A, 35% en el B, 32% en el C y 43% en el D, siendo a los seis meses de 100%, 35%, 32% y 60% respectivamente. No podemos comparar resultados por no haber encontrado Bibliografía. (Tablas XI-XIV).

En las Recidivas el Preoperatorio da una Especificidad del 71%, y en el momento de la Recidiva es del 100%.

En esta Correlación importa más la Determinación de Metástasis que la Recidiva Tumoral. Todo ello se debe a que estos dos Marcadores no son Específicos de los Tumores Colorrectales.

5.- TPA - Ca.50.- En la correlación de estos dos Marcadores Tumorales no hemos encontrado Bibliografía por lo que no podemos hacer estudios comparativos.

Nuestra serie muestra que la Especificidad en el Preoperatorio del Estadio B es del 68%, igual que la correlación CEA-CA.19.9, y en el Estadio C es del 76%, mayor que cualquiera de las otras correlaciones menos con la del Carbohidrato 19.9. En el Estadio D es del 100% debido a que las determinaciones del TPA permanecen elevadas en todos los casos por las Metástasis. (Tablas XII-XIV).

En el Postoperatorio a los siete días baja el 39% en el Estadio B, 34% en el C y el 43% en el D, siendo a los seis meses del 67%, 53%, 39% y 20% en los Estadios A, B, C y D respectivamente. (Tablas XI-XIV)

En las Recidivas el Preoperatorio da una Especificidad del 86%, permaneciendo alta en el Postoperatorio inmediato y llegando al 100% en el momento de la Recidiva. (Tabla XV).

Como conclusión podemos decir que el hecho de que estos dos Marcadores Tumorales juntos muestren una alta Especificidad (CA.50) y Sensibilidad a la detección de Recidivas o Metástasis (CA.50 y TPA), no quiere decir que sean los que empleemos en el Seguimiento y Pronóstico de esta patología.

Por otra parte afirmamos que el TPA es muy sensible a las Metástasis así como que el Carbohidrato 50 es muy Específico del Carcinoma Colorrectal y de la detección de Recidivas lo que nos lleva a la conclusión de que cuando hay elevación continuada de CA.50 hemos de sospechar inmediatamente en una posible Recidiva o persistencia tumoral y si el Antígeno Polipéptido tisular permanece elevado nos indicará que existen Metástasis.

6.- TPA - Ca.19.9.- En los estudios realizados con estos dos Marcadores Tumorales Monoclonales no hemos encontrado Bibliografía del Postoperatorio aunque si del Preoperatorio.

En el Preoperatorio la Especificidad conjunta de estos dos Marcadores en el Estadio B es del 68%, igual que la del TPA-Ca.50, mientras que la del Estadio C es del 83%, más elevada que el anterior. En el Estadio D sigue siendo del 100% debido al TPA. (Tablas XII-XIV).

En estudios realizados por Ruibal y cols.(118) la positividad global en el Preoperatorio es del 65%, no encontrando estudios Postoperatorios ni de Recidivas. En el Estadio B (sin metástasis) es del 79%, y en el Estadio C y D (con metástasis) del 54%.

En relación con nuestro estudio apreciamos que son más bajos los del Estadio B (68%), y sin embargo las determinaciones de los Estadio C (83%) y D (100%) son más elevadas. Ello se debe a que las valoraciones del TPA son mucho más representativas que las del CEA en nuestro estudio.

En el Postoperatorio a los siete días baja el 41% en el Estadio B, 52% en el Estadio C y 43% en el Estadio D. (Tablas XII-XIV).

Con respecto a las Recidivas, en el Preoperatorio la Especificidad es del 86%, manteniéndose en el Postoperatorio inmediato y permaneciendo igual en el momento de la Recidiva. (Tabla XV).

Podemos comprobar que los valores son muy parecidos a los de la correlación del TPA-CA.50 a excepción de las Recidivas. Ello puede ser debido a que en nuestra serie hay más tejidos Lewis negativos (propios del CA.50), que Lewis positivos (propios del CA.19.9), sacando las mismas conclusiones que en el caso anterior.

CORRELACION DE TRES MARCADORES TUMORALES MONOCLONALES

7.- CEA - TPA - Ca.19.9.- En la correlación de estos tres Marcadores Tumorales Monoclonales hay poca Bibliografía.

En trabajos de Putzki y cols.(149) en la comparación de estos tres Marcadores aprecian que el CEA es el que presenta mayor Sensibilidad para los Tumores Colorrectales así como que la combinación de varios de estos Antígenos Tumorales no mejora la Sensibilidad. Sin

embargo Ruibal y cols. (118) dan una Positividad global del 76%, muy superior a la individualizada de cada uno de ellos. Para las Metástasis es del 55% y del 90% sin Metástasis.

Estamos más de acuerdo con Ruibal (118) que con Putzki y cols.(149) aunque discrepamos con el primer autor en cuanto a que sin Metástasis la positividad que nosotros encontramos es del 78% y con metástasis del 91%, lo contrario que a Ruibal (118). En el Estadio D la Positividad es del 100% en el Preoperatorio debido a que al existir metástasis generales el TPA está elevado en todos los casos.

Con respecto al Postoperatorio y Seguimiento no podemos hacer comparaciones porque no hemos encontrado bibliografía.

En nuestro estudio a los siete días de realizar extirpación radical la Positividad baja el 0%, 39%, 30% y 43% en los Estadios A, B, C y D respectivamente, disminuyendo a los seis meses el 100%, 41%, 37% y 20%. (Tablas XVI-XIX).

En las Recidivas la Positividad es del 100% tanto en el Preoperatorio (un día antes), Postoperatorio (una semana), Recidiva y Postoperatorio de la Recidiva. (Tabla XX).

Como Conclusión podemos afirmar que para el Seguimiento Pronóstico y detección de Metástasis y Recidivas hay que utilizar varios Marcadores, ya que aumenta considerablemente la Positividad. Asimismo se puede añadir que con la Especificidad del CA.19.9 y la Sensibilidad para las Metástasis del CEA y del TPA, podremos efectuar un buen Seguimiento y Pronóstico de la Patología Colorrectal así como la determinación precoz de las Metástasis y Recidivas.

8.- CEA -Ca.50 -Ca.19.9.- En la correlación de estos tres Marcadores Tumorales Monoclonales hemos encontrado muy poca Bibliografía, solamente un trabajo de Lamíquiz (107) en relación con la elevación Preoperatoria del CEA, CA.19.9 y CA.50 en los Estadios irreseccables del Cáncer Colorrectal.

Según los resultados obtenidos por dichos autores llegan a la conclusión de que la elevación significativa, en especial del CEA y Ca.19.9, son sugestivos de irreseccabilidad de la masa tumoral total macroscópica, y que un aumento Preoperatorio junto con técnicas de

despistaje de metástasis negativas es indicativo de localización locoregional irreseccable o carcinomatosis por diseminación peritoneal.

Nuestro estudio muestra una positividad sin metástasis en el Preoperatorio (Estadio B) del 70%, y con metástasis (Estadios C y D) del 76%-86% respectivamente. Estos valores son ligeramente inferiores a la correlación de los anteriores Marcadores Tumorales, (Tablas XVI-XIX).

Con respecto al Postoperatorio, a los siete días los valores bajan el 0%, 53%, 24% y 50% en los Estadios A, B, C y D respectivamente, disminuyendo a los seis meses el 83%, 53% 24% y 43%. (Tablas XVI-XIX).

En la Recidiva la Positividad tanto en el Preoperatorio como en la Recidiva es del 100%. (Tabla XX).

Podemos sacar la conclusión de que al existir dos Marcadores Tumorales Monoclonales muy Específicos del tumor Colorrectal como son el CA.50 y el CA.19.9, y al mismo tiempo otro Marcador Tumoral que nos va a indicar las Metástasis por su gran Sensibilidad a ellas, las determinaciones que obtenemos son muy significativas.

9.- TPA - Ca.50- Ca.19.9.- En esta Correlación no podemos hacer estudios comparativos porque no hemos encontrado Bibliografía.

Comprobamos la alta Especificidad del CA.50 y del CA.19.9 y la gran Sensibilidad para las Metástasis que tiene el TPA, observando que la positividad en el Preoperatorio es del 60%, 70%, 78% y 100% para los Estadios A, B, C y D respectivamente, siendo en las Recidivas también del 100%. (Tablas XVI-XX).

En el Postoperatorio a los siete días disminuye en un 0%, 36%, 83% y 43% en los diferentes Estadios, bajando a los seis meses en un 83%, 40%, 40% y 20% respectivamente.

Podemos sacar como conclusión que al existir dos Marcadores Tumorales Monoclonales de una elevada Especificidad como son el CA.50 y CA.19.9, y otro de una elevada Sensibilidad como es el Antígeno Polipeptídico Tisular, realizaremos un Seguimiento, Pronóstico y detección de Metástasis y Recidivas muy completo en el Carcinoma Colorrectal.

10.- CEA - TPA -Ca.50.- En esta correlación nos encontramos con un Marcador Tumoral Monoclonal Específico del Carcinoma Colorrectal como es el Ca.50, y dos Marcadores Tumorales Monoclonales muy Sensibles a las Metástasis como son el CEA y el TPA.

En el Preoperatorio la Positividad sin metástasis (Estadio B) es del 78%. Con metástasis locoregionales (Estadio C) es del 80% y con metástasis a distancia es del 100%. En el Postoperatorio a los siete días los valores bajan en un 0%, 45%, 56% y 43% en los Estadios A, B, C y D respectivamente, disminuyendo a los seis meses en un 100%, 51%, 32% y 20%. En las Recidivas la Positividad es del 86% en el Preoperatorio y del 100% en el momento de la Recidiva.

(Tablas XVI-XX).

No podemos realizar estudios comparativos porque no hemos encontrado Bibliografía.

La conclusión que sacamos al igual que en los casos anteriores es que al hacer las determinaciones con varios Marcadores Tumorales Monoclonales que cubren la Especificidad y Sensibilidad de la Patología Colorrectal, podemos realizar un Seguimiento completo y total de dicha Patología así como detectar con una antelación importante las posibles Recidivas Tumorales.

Después de hacer la Correlación de Tres Marcadores Tumorales Monoclonales entre si observamos que los valores son muy parecidos, siendo más demostrativo cuando hacemos la Correlación CEA -TPA -Ca.19.9. Nos indica que si no se puede hacer la determinación del CA.50 debe realizarse siempre la de los otros tres Marcadores Tumorales Monoclonales.

CORRELACION DE CUATRO MARCADORES TUMORALES MONOCLONALES

11.- CEA - TPA - Ca.50 - Ca.19.9.- En la correlación de los cuatro Marcadores Tumorales Monoclonales las determinaciones son aun mucho más significativas. No podemos hacer estudios comparativos porque no hemos encontrado Bibliografía.

En el Preoperatorio la Positividad global es del 87%. En los Estadios A y B (no metastásicos) es del 81%, con metástasis locales (Estadio C) es del 93%, y cuando las Metástasis son generalizadas (Estadio D) los valores son del 100%. En el Postoperatorio a los siete días de la intervención bajan en un 0%, 44%, 40% y 60% respectivamente en los Estadios A, B, C y D. A los seis meses la disminución es de un 83%, 44%, 40% y 20%. En las

Recidivas tanto en el Preoperatorio como en el momento de la Recidiva los valores son del 100%. (Tablas XXI-XXII).

Así como en la determinación de tres Marcadores Tumorales Monoclonales los valores resultaban ya de por sí elevados y demostrativos, con los cuatro Marcadores Tumorales Monoclonales los resultados son aun más llamativos.

Se debe a que:

- 1) Determinamos dos Marcadores Tumorales Monoclonales Específicos para el Carcinoma Colorrectal como son el CA.50 y el CA.19.9.
- 2) Determinamos dos Marcadores Tumorales Monoclonales Sensibles a la Patología Colorrectal, y en especial a las Metástasis como son el CEA y el TPA.
- 3) Determinamos dos Marcadores Tumorales Monoclonales Específicos actuando uno sobre tejidos Lewis negativos (CA.50) y otro sobre tejidos Lewis positivos (Ca .19.9).
- 4) Determinamos con los cuatro Marcadores Tumorales Monoclonales todos los posibles casos de Carcinoma Colorrectal, tanto en el Preoperatorio, Seguimiento, Pronóstico y detección de Metástasis y Recidivas con anclación, acompañado de los métodos Diagnósticos habituales.

ANTICUERPOS MONOCLONALES (B72.3).- El Anticuerpo Monoclonal B72.3 ha sido poco utilizado en la Inmunohistoquímica, siendo Johnston (48) el primero que hizo estudios comparativos en carcinomas de mama, pulmón, ovario, colon y otras localizaciones consiguiendo un 100% de positividad en carcinomas de pulmón (27/27) y colon (6/6) y de 81% en el de mama (17/21), comprobando que era negativo en los tumores benignos de cualquier localización así como en los carcinomas de células pequeñas del Pulmón, melanomas, linfomas y sarcomas. Demuestra que el Anticuerpo reconoce también en el líquido pleural el 100% de los Adenocarcinomas en pacientes con derrames de cánceres de mama, ovario y pulmón y el 95% del de otras localizaciones, descartando los linfomas y mesoteliomas, por lo que aconseja que sea aplicado de rutina en todos los Servicios de Anatomía Patológica.

Schlom y Weeks (157) afirman que el Mab B72.3 actúa selectivamente en células malignas en contra de las benignas y es más fuertemente expresado en Adenocarcinomas que

en otras neoplasias, comprobando que el nivel de expresión del TAG-22 en las muestras de PAAF se correlacionaba razonablemente entre el fragmento escindido con el fragmento tumoral a distancia del sitio de punción en más del 90% de los pacientes.

Stella y cols. (158) hacen un estudio Intraoperatorio sobre 20 enfermos de Carcinoma Colorrectal con Inmuno-detección comparando sus resultados con la Inmuno-histoquímica. Fueron detectados 7/15 casos de tumor primario y 4/5 de tumor recurrencial, siendo la confirmación Histoquímica en los 11/20 (100%). En la recidiva 2/4 permitieron hacer resección más radical por detectar masa tumoral que no se había visto. En España del Anticuerpo Monoclonal B72.3 solo existe publicado un trabajo por Armas y cols. (159) sobre tumores epiteliales malignos del ovario.

En nuestro estudio el Marcador B72.3 ha sido fuertemente positivo en todas las determinaciones de Adenocarcinoma no tiñéndose en un caso de tumor neuroendocrino de alto grado de malignidad de células pequeñas ni en las células benignas de mucosa colónica. Asimismo en seis casos (6%) hemos cambiado el Estadiaje. En tres de ellos (3%) por encontrar grupos celulares y células sueltas y aisladas en la capa muscular que no fueron detectadas por los métodos de tinción habitual pasando del Estadio A al B (Fig. 36-37), y en otros tres del Estadio B al C por permeación vascular al observar grupos celulares y células sueltas atípicas en el interior de los vasos (Fig. 33). La mucosa colónica normal no presenta positividad al B72.3. (Fig. 24).

Como podemos comprobar el Anticuerpo Monoclonal B72.3 es altamente positivo en los Adenocarcinomas como refieren todos los autores, no tiñéndose en tejidos benignos y pudiendo cambiar el Estadiaje de los tumores Colorrectales y por tanto el Pronóstico de los enfermos al no apreciarse con claridad por los métodos convencionales habituales grupos celulares aislados o células sueltas en capa muscular, vasos o ganglios, aconsejando se emplee en los Servicios de Anatomía Patológica para diagnóstico diferencial del Adenocarcinoma con neoplasias de otra extirpe.

CONCLUSIONES

1.- Las determinaciones de los Marcadores Tumorales deben realizarse Siempre con Técnicas Monoclonales, porque así los resultados serán más fiables al no existir reacciones cruzadas y falsos negativos por enfermedades concomitantes.

2.- La Alfafetoproteína (AFP), No es útil para realizar el Seguimiento, Pronóstico, Control y detección de Metástasis y Recidivas en el Carcinoma Colorrectal.

3.- Cuando los Marcadores Tumorales CEA y TPA están muy elevados en el Preoperatorio y siguen en el Postoperatorio, esto es demostrativo de la existencia de Metástasis, Recidiva o persistencia tumoral por la gran Sensibilidad de ambos.

4.- Cuando los Antígenos Carbohidrato 50 y 19.9 están altos en el Preoperatorio y continúan en el Postoperatorio inmediato, esto es demostrativo de Recidiva o persistencia tumoral por la elevada Especificidad de ambos. Asimismo siempre los utilizaremos conjuntamente para detectar todos los antígenos Lewis.

5.- El Antígeno Polipéptido Tisular (TPA) es muy importante y demostrativo en el Seguimiento, hallazgo de Metástasis y detección de Recidivas en el Carcinoma Colorrectal.

6.- Al realizar extirpación radical de la tumoración Colorrectal, todos los Marcadores Tumorales bajan en la primera semana del Postoperatorio indicándonos la eficacia de la resección de la enfermedad. Si a los dos meses los valores se elevan en cualquiera de ellos debemos pensar inmediatamente en la existencia de Metástasis, Recidivas o persistencia tumoral dependiendo de los que hayan aumentado, y realizaremos las pruebas Clínicas complementarias para definir su Diagnóstico .

7.- Para el Seguimiento, Pronóstico, Control y Determinación de Recidivas en el Carcinoma Colorrectal Nunca se valorará un solo Marcador Tumoral Monoclonal sino Varios.

8.- Cuando solo se puedan utilizar dos Marcadores Tumorales Monoclonales en el Seguimiento, Pronóstico, Control y Detección de Recidivas en el Carcinoma Colorrectal utilizaremos el CEA O TPA y el CA.19.9. Los primeros porque nos determinarán las Metástasis y el segundo por su gran Especificidad y actuar sobre Tejidos Lewis positivos que son los más frecuentes.

9.- Para realizar un control Completo en el Seguimiento, Pronóstico y Determinación de Metástasis y Recidivas en el Carcinoma Colorrectal, es IMPRESCINDIBLE la valoración de los Marcadores Tumorales: CEA, TPA, CA.50 y CA.19.9.

Los dos primeros al ser muy Sensibles a las Metástasis y Recidivas, y los Segundos por su alta ESPECIFICIDAD y su gran SENSIBILIDAD para el Carcinoma Colorrectal y las Recidivas.-

10.- El Anticuerpo Monoclonal B72.3 puede cambiar el Estadaje de los Tumores Colorrectales por tanto el Pronóstico de los enfermos, siendo muy Sensible en los Adenocarcinomas Colorrectales por lo que siempre deberá emplearse para realizar el Diagnóstico Diferencial.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- PARKIN DM.; STJERNSWARS, J.; MUIR CS.- Estimates for the world-wide frequency of twelve major cancers. Bull WHO 1.984; 62: 163-182.
- 2.- RODNEY MAINGOT.- Cáncer de Colon y Recto. En: Operaciones Abdominales. Vol. II. Editorial Médica Panamericana. 1.966. Pág. 1.240-1.368.
- 3.- KENNETH E. LEVIN, M.D. and ROGER R. DOZOIS, M.D.- Epidemiology of large bowel Cancer. World J. Surgery. 15. 562-567, 1.991.
- 4.- SILVERBERG, E.; BORING, C.E. y SQUIRES, T.S.: Cancer Statistics, 1.990. CA. 40: 9-12. 1.991.
- 5.- MUIR, C.; WATERHOUSE, J.; MACK, T.; POWEL, J.- Cancer incidence in five continents; Vol. V. Lyon. IARC Scientific Publication. 1.987; 88-96.
- 6.- OBRADOR, A.; BENITO, E.; MULET, M.; AVELLA, A.; RECOBER, A.- Epidemiología del Cáncer de budoel gros a Mallorca. En: El Cáncer Colorrectal (1.982-1.986). Barcelona. Acadèmia de Ciències Mèdiques de Catalunya i de Balears 1.988; 87-101.
- 7.- NAVARRO, C.- Incidencia del Cáncer en Murcia en 1.982 Murcia, Consejería de Sanidad, Consumo y Servicios Sociales. 1.985.
- 8.- ALLEN Y WELCH.- Cáncer Colorrectal.- Am. J. Surg. 46: 171. 1.939.
- 9.- DUCKES.- Cáncer Colon.- Proc. Roy. Soc. Med. 38:381. 1.945.
- 10.- POSTLETHWAIT Y COLS.- Localización Cáncer Colon (Surg. Gynecol. & Obst. 106: 257, 1.958).
- 11.- HAENSZEL, W.; CORREA, P.- Epidemiology of large Bowel Cancer. En: Correa, P. y Haenszel, W. eds. «Epidemiology of cancer of the digestive tract». La Haya. Martinus Nijhoff Publishers. 1.982: 84-126.

- 12.-PARRILLA, J.; AGUAYO, J.L.; GARCIA OLANO, D.- Cáncer de Colon y Recto.-En: Tratado de Cirugía. Vol.II. Director: J.L. Ballbrea.- Ediciones Toray S.A.. Barcelona.- 1.988; 2.293-2.317.
- 13.-KUNE, S.; KUNE, G.; WATSON, L.- The Melbourne Colorectal study: incidence findings by age sex, site, migrants and religion.- *Int. J. Epidemiol*: 1.986; 15: 483-493.
- 14.-LYNCH, PM., LYNCH, HT, Eds.- Colon Cancer genetics. NewYork, Van Nostrand Reinhold, 1.985.
- 15.-KOLONEL, LN.; LE MARCHAND, L.- «The epidemiology of colon cancer and dietary fat.- En: IpC, Birt DF, Rogers AE, Mettin, C Eds.- Dietary fat and Cancer. Newyork. Allan R Liss. 1.986. 69-91.
- 16.-MAC QUART-MOULIN, G.; RIBOLI, E.; CHARNAY, B y COLS.. «Case control study on colorectal cancer and dit in Merselles.- *Int.J. Cancer* . 1.986: 38: 183-191.
- 17.-RIBOLI, E.- «Epidemiology of colorectal cancer and diet.- En: Faivre, J, Hill MJ Eds.- Causation and prevention of colorectal cancer.- Amsterdam, Excerpta Medica. 1.987. 49-60.
- 18.-NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES. COMMITTEE ON DIET, NUTRITION AND CANCER.- Diet, nutrition and cancer. Washington, National Academy Press, 1.982.
- 19.-GRENWALD, P.; LANZA, E.; EDDY, GA.- Dietary fiber in the reduction of colon cancer risk.- *J. Am. Diet Ass.* 1.987. 87.- 1178-1188.
- 20.-GERHARSSON, M.; FLODERUS, B.; NORELL, SE.- Physical activity and colon cancer risk.-*Int. J. Epidemiology.* 1.988. 17.-743-746.
- 21.-FENOGLIO-PREISER CM, ROSSINI FP, Eds. Adenomas and adenomas containing carcinoma of the large bowe: advances in diagnosis and therapy. Verona. Cortina International. 1.985.

- 22.-COLLIN, RH.; FELDMAN, H.; FORDTRAN, JS..- Colon cancer displasia and surveillance in patients with ulcerative colitis: a critical review.- N. England J. Med. 1.987: 316. 1.654-1.658.
- 23.-HOFFMAN, J.P.; TAFT, D.A.; WHEELIS, R.F. Y COLS..- Adenocarcinoma in regional enteritis of the small intestine. Arch. Surg. 112: 606-611. 1.977.
- 24.-RON, E.; LUBIN, F..- Epidemiology of colorectal cancer and its relevance to screening. Front Gastrointet. Res 1.986. 10: 1-34.
- 25.-FRIEDMAN, GD.; GOLHABER, MK.; QUESENBERRY, CP..- Colectectomía y Cáncer de intestino grueso.- The Lancet (ed. español). 1.987. 11: 129-132.
- 26.-A.OBRADOR Y E. BENITO.- Epidemiología en el Cáncer Colorrectal. En: Monografía Cáncer Colorrectal. Eds. Doyma. 1.990. Barcelona. Pág. 1-11.
- 27.-SCHOTTENFELD, D.; WINAWER, SS..- Large intestine.- En: Schottenfeld, D; Fraumeni J. Jr. eds.- Cancer epidemiology and prevention. Filadelfia, WB Saunders. 1.982
- 28.-BOLIN, S.; FRAZEN, L.; NILSSON, E.; SJODHAL, R..- Carcinoma of the colon and rectum. Tumors missed by radiologic examination in 61 patients. Cancer 1.988. 61: 1.999-2.008.
- 29.-BEYMON, J.; FOY, DMA.; ROE, AM.; TEMPLE, LN..- Endoluminal ultrasound in the assessment of local invasion of rectal cancer. Br. J. Surgery 1.986. 73: 474-477.
- 30.-SAITOH, N.; OKVI, K y COLS..- Evaluation of Ecographic diagnosis of rectal cancer using intrarectal ultrasonic examination. Dis colon rectum. 1.986. 29:234-242.
- 31.-PIQUE, J.M..- Diagnóstico Clínico del Carcinoma Colorrectal. En: Monografía Cáncer Colorrectal.- Eds. Doyma.- 1.990. Barcelona. Pág. 19-29.
- 32.-DUKES, CE..- The classification of Cancer of the rectum. J. Pathol Bacteriol. 1.932. 35:323-332.

- 33.- TURNBULL, RB.; KYLE, K.; WATSON, FR..- Spratt J. Cancer of the Colon. The influence of the no-touch isolation technic on survival rates. *Ann. Surgery* 1.967. 166:420-425.
- 34.- HUTTER, RVP.; SOBIN, LH..- A universal staging system for cancer of the colon and rectum. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 1.986. 110: 367-368.
- 35.- JASS, JR.; LOVE, SB.; MORTHOVER, JMA..- A new prognostic classification of rectal cancer.- *Lancet* 1.987. 1.303-1.306.
- 36.- ASTLER, V.B. Y COLLER, F.A..- The prognosis significance of direct extension of carcinoma of the colon and rectum. *Ann.Surg.* 139: 846-852, 1.954.
- 37.- MILES, W.E..- A method of performing abdominoperineal excision for carcinoma of the rectum and of the terminal portion of the pelvic colon. *Lancet*, 2: 1812-1817. 1.908.
- 38.- TURNBULL, R.B. Y CUTHBERTON, A.M..- Abdomino-rectal pullthrough resection for cancer and for Hirschprung's disease. *Cleveland Clin.Quart.* 28:109-113, 1.961.
- 39.- LOCALIO, S.A. Y BARON, B..- Abdominal-sacral resection and anastomosis for mid-rectal cancer. *Ann.Surg.*, 178: 540-552, 1.973.
- 40.- FUJIMOTO, S.; SRECTHA, RD.; ENDOH, F. y COLS..- Mitomycin C microspheres and intra-arterial cancer chemotherapy. En: Tagucchi T, Andrysek O, eds. *New trends in cancer chemotherapy with Mitomycin C.*- Amsterdam. *Excepta Medica.* 1.987. 100-112.
- 41.- O'CONNELL, MJ.; GUNDERSON, LL.; FLEMING, TR..- Surgical adjuvant therapy of rectal cancer.- *Semin. Oncol.* 1.988. 138-145.
- 42.- GRAU, J.J..- Tratamiento Médico del Cáncer Colorrectal. En: *Monografía Cáncer Colorrectal.*- Eds. Doyma. Barcelona. 1.990. Pág. 113-121.
- 43.- KHÖLER, G.; MILSTEIN, C..- Continous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. *Nature.* Vol.256. Aug. 1.975. 494-497.

- 44.- MILSTEIN, CESAR.- Anticuerpos Monoclonales.- Investigación y Ciencia. Vol. 243. 1.980. 38-47.
- 45.- KENNETH, H.; COHN, MD.; SYDNEYWELT y 12 más.- Localization of radioiodinated Monoclonal antibody in colorectal cancer.- Arch.Surg. Vol. 122.Dec. 1.987. 1425-1.429.
- 46.- FRANK H. DELAND; EDMUND KIN; F. JAMES PRIMS y dos más. In vivo Radioinmunodetection of occult recurrent colonic carcinoma. AJR. 138: 145-148. January 1.982.
- 47.- MACH, J.; BUCHEGGER, F.; FORNI, M..- Use of radiolabelled monoclonal Anti-Cea antibodies for the detection of human carcinoma by external photoscanning ang tumor cintigraphy.- Immunology. Today 2.239-2.249. 1.981.
- 48.- WILLIAMS W. JOHNSTON, MD..- Applications of Monoclonal antibodies in clinical cytology as exemplified by studies with monoclonal antibody B72.3. Acta Cytologica. 1.987; 31: 535-556.
- 49.- JORGES A. CARRASQUILLO, MD y diez más.- Peritoneal Carcinomatosis.- Imagen with intraperitoneal injection of I131-Labeled B.72.3 Monoclonal antibody.- Radiology. 167: 33-40. 1.988.
- 50.- SZPAK, C.A.; JOHNSTON, W.W.; LOTTICH, S.C.; KUFER, D; THOR, A. and SCHOLM, J.- Patients of reactivity of four novel monoclonal antibodies (B72.3, DF3, B11, and B6.2) cells in human malignant and benign efusions. Acta Cytol. 28: 356-367. 1.984.
- 51.- JOHNSTON, V.G; SCHOLM, J; PATERSON, A.J.; BENNET, A.J. MAGNANI, J.L and COLCHER, D..- Analysis of a human tumor-associated glycoprotein (TAG-72) identified by monoclonal antibody B72.3. Cancer Res. 46:850-857. 1.986.
- 52.- MARTIN, S.E.; MOSHIRI, S.; THOR, A.; VILASI, V.; CHU, E.W. and SCHOLM, J..- Identification of adenocarcinoma in cytoplasm preparations of efusions using monoclonal antibody B72.3. Am.J.Clin. Pathol. 86: 10-18. 1.986.

- 53.- JOHNSTON, W.W.; SZPACK, C.A.; LOTTICH, S.C.; THOR, A. and SCHOLM, J.- Use of a monoclonal antibody (B72.3) as a novel immuno cytochemical adjunct for the diagnosis of carcinoma in fine needle aspiration biosies specimens Human Path. 17. 501-513. 1.986.
- 54.- NUTI, M.; MOTTOLESE, M.; VIORA, M.; DONNORSO, P.; SCHOLM, J. and NATAL, P.G.- Use of monoclonal antibodies to human breast tumor associated antigens in fine needle aspirate cytology. Int. J .Cancer, 37:493-498. 1.986.
- 55.- TOSHIO TAKAHASHI, MD; TOSHIHARU YAMAGUCHI y COLS. Clinical application of monoclonal antibody. Drug conjugates for immunotargeting chemotherapy of colorectal carcinoma. Cancer. Vol. 61. 881-888. 1.988.
- 56.- EDITH P. MITCHELL and JEFFERY SCHLOM.- Monoclonal anbdodies in gastrointestinal cancers. Seminars in Oncology, vol 15, n° 2: 170-180.- 1.988.
- 57.- DAVID M. GOLDEMBERG; E. EDMUND KIN; SIDNEY J. BENNETT; M. OWENS NELSON AND FRANK H. DELAND.- Carcinoembionic antigen Radioimmunodeteccion in the evaluation of colorectal cancer and in the detection of occult neoplasms Gastroenterology. 1.983; 84.:524-532.
- 58.- LYDIA P. HOWELL, MD; STEVEN ZIPFEL, CT (ASCP); ZENON STEPLEWSKI, MD; IRENA ROPROWSKA.- A gastrointestinal specific monoclonal antibody That May Be of clinical value in Cytologic material.- Acta Cytologica. Vol.31. N°6. 1.987.- 802-806.
- 59.- P.A. FARRANDS; A.C. PERKINS y COLS.- Radioimmunodetection of human monoclonal antibody colorrectal Cancers by an anti-tumour Monoclonal Antibody. The Lancet. Aug. 1.982. 397-400.
- 60.- PHILIP J. MOLDOFSKY, MD; JOHN POWE y COLS.- Metastatic colon carcinoma detected with radiolabeled F(ab')₂ Monoclonal antibody fragments.- Radiology. Vol. 149, n° 2; 549-555. 1.983 (Nov).

- 61.- BERNARD DELALOYE, ANGELIKA BISCHOF-DELALOYE y COLS. Detection of colorectal carcinoma by emission-computerized tomography after injection of I 123 labeled Fab or F(ab')₂, fragments from monoclonal anticarcinoembryonic antigen antibodies.- J. Clin. Invest. Vol.77 January 1.986. 301-311.
- 62.- SARA A. MICHTE, MD; DOMINIC V. SPAGNOLO, MB y COLS.- A panel approach to the evaluations of the sensitivity and specificity of antibodies for the diagnosis of Routinely processed Histologically Undifferentiated human neoplasm. Brief Scientific Reports. 1.987. Octubre. 457-467.
- 63.- ANDREW M. KEENAN.- Radiolabeled Monoclonal Antibodies current status and futiere outlook.- Nuclear Medicine annual 1.988.- 171-207.-
- 64.- STEWARD M. SPIES, A. MICHAEL ZIMMER y COLS.- Considerations for Tomographics imaging of Monoclonal Antibodies.- Seminary in Nuclear Medicine. Vol. XVII. N° 3. 1.987. 267-272.
- 65.- DAVID M. GOLDEMBERG, SC; FRANK DELAND y COLS.- Use of radiolabeled antibodies to carcinoembryonic antigen for the detection and localization of divers cancers by external photoscanning. The New England journal of Medicine.- 1.978. June 1384-1388.
- 66.- HENRY F. SEARS, MD; DARIUS J. BAGLI, MD y COLS.- Human immune response to monoclonal antibody administration dore-dependent.- Arch. Surg. vol. 122. Dec. 1.987. 1.384-1.388
- 67.- PHILIP J. MOLDOFSKY, MD; HENRY F. SEARS, MD y COLS.- Detection of metastatic tumor in normal-sized retroperitoneal lymph nodes by monoclonal antibody imaging. New England Journal of Medicine. July 1.984. 311: 106-107.
- 68.- DAVID M. HYAMS, MD; JOSE H. ESTEBAN, MD; CHARLES P. LOLLO, PHD; BARBARA G. BEATLY, PHD; DAVID BEATTY, MD.- Therapy of peritoneal carcinomatosis off human colon cancer Xenografts with Ytrium 90-Labeled anticarcinoembryonic antigen antibody 2CEO25. Arch. Surg. Vol 122 Nov.1.987. 1.333-1.337.

69. STEVENN M. LARSON, MD.- Lymphoma, Melanoma, Colon cancer. Diagnosis and treatment with Radiolabeled Monoclonal antibody. *Radiology* 1.987. 165. 297-304.
- 70.- MOLINA, R; BALLESTA, A.M..- Marcadores tumorales. Valor e interés clínico. *Rev. Madrid. Méd.* 49-56 1.990. Oct.
- 71.- GOLD, P; FREEDMAN, S.O..- Demostration of tumor specific antigens in human colonic carcinoma by immunologic tolerance and adsorptive techniques.- *J. Exc. Med.* 121: 439-462.- 1.965.
- 72.- MARTIN, E.W; KIBBERG, W.E.; DI VECCHIA, L y COLS.- Carcino embriogenic antigen, clinical and historial aspects.- *Cancer* 37: 62-81, 1.976.
- 73.- THOMPSON, D.M.P.; FREEDMAN, S.O y COLS.- The radiolimmuno assay of circulating carcinoembrionic antigens of the human digestive system.- *Pro. Natl. Acad. Sci. USA* 64: 161-169. 1.969.
- 74.- BALLESTA GIMENO, A.M.; MOLINA, R..- Antígeno carcinoembrionario.- «Laboratorio». Año 39, vol. 78, nº 467: 473-484.- 1.984.
- 75.- MACH, J.P y PUSZTASZERI, G..- Demostration of a partial identity between CEA and a normal glicoprotein. *Immunochemistry*, 9. 1.031-1.034.
- 76.- VON KLEIST, S; CHARANEL, G y BURTIN, P..- Identification of a normal antigen that crossreacts with the carcinoembrionic antigen.- *P.N.A.S.* 69: 2.492-2.494.1.973.
- 77.- BURTIN, P; QUAN, P.C. y SABINE, M.C.- Non specific cross reacting antigen as a marker for human polymorph macrophages and monocytes.- *Nature*, 255: 714-716.1.975.
- 78.- SVENBER.- Carcinoembrionic antigen-like subsrances of human bile. Isolation and partial characterization. *Int. J. Cancer.* 17: 588-596. 1.976.

- 79.- BURTIN, P.; CHARANEL, G y CHIRSCH-MARIE, H.- Characterization of a second normal antigen that cross-reacting with CEA.- *J. Immunol.* 111: 1.926-1.928.- 1.973.
- 80.- MATSUOKA, Y.; HARA, M.; TAKATSU, K. y KITAGAWA, M.- Presence of antigen related to the carcinoembryonic antigen in feces of normal adults. *Gann.*, 64:203-206. 1.973.
- 81.- MARCUELLO, E.- Marcadores tumorales en Cáncer colorrectal: valor pronóstico del CEA preoperatorio y utilidad en el second-look. Ponencia al primer Symposium Internacional sobre Biología y utilidad clínica de los marcadores tumorales. Barcelona. Febrero 1.986.
- 82.- KUUSELA, P; JALNKO, P; ROBERTS, P; SIPPONEN, P; MECKLIN, J.P.; PITKÄNEN, R y MAKELA, O.- Comparison of Ca.19.9 and carcinoembryonic antigen (CEA) levels in the serum of patients with colorectal diseases.- *B. J. Cancer.* 1.984. 49: 135-139.
- 83.- SZYMENDERA, J.J; MAREK, D.SC; NOWACKI, P; SZALOWSKI, A.W y KAMINSKA, J.A.- Predictive value of plasma CEA levels: preoperative prognosis and postoperative monitoring of patients with colorectal carcinoma. *Dis. Colon. & Rectum* vol. 25: 46-52.- 1.982.
- 84.- STAAB, H.J; BRÜMMENDTRF, T; HORNUNG, A; ANDERER, F.A. y KIENINGER, G.- The clinical validity of circulating tumor associated antigens CEA and Ca.19.9 in primary diagnosis and follow-up of patients with gastrointestinal malignancies. *Klin. Wochenschr.*, 63: 106-115. 1.985.
- 85.- MARTIN, JR. E,W; COOPERMAN, M; KING, L; CAREY, L. y MINTON, J.R.- A retrospective and prospective study of serial CEA determinations in the early detection of recurrent colon cancer. *Am. J. Surgery.* vol. 137: 167-169. 1.979.
- 86.- ATTIEH, F.F. y MAUS Jr., W.S.- Second-look laparotomy based on CEA elevations in colorectal cancer. *Cancer*, 47: 2.119-2.125. 1.981.

- 87.- TARTARINOV, Y.S.- Detection of embriospecific alphaglobulin in the bleed sera of patients with primary liver tumors.- Vop. Med. Khim. 10: 90-91. 1.964.
- 88.- PARRA, I.; GARCIA RODRIGUEZ, B.; PEREIRA, M.J.; GALLATEGUI, R.; MONZON, G.; HERBOSA, A y LLAMA, M..- La AFP: utilidad clínica actual en Oncología. En: Marcadores Tumorales. Monografía. 545-553. Barcelona. 1.989.
- 89.- JALANKO, H.; KUUSELA, P.; ROBERTS, P.; SIPPONEN, P.; HAGLUND, C y MAKELA, O. - Comparison a new tumor marker, Ca.19.9 with alfa-fetoprotein and carcinoembryonic antigen in patients with upper gastrointestinal diseases. J. Clin. Pathol., 37. 218-222., 1.984.
- 90.- YOSHIKAWA, T.; NISBIDA, K.; TABIGAWA, M.; FUKUMOTO, K. y KOBDO, M..- Carbohidrate antigenic determinant (Ca.19.9) and other tumor markers in gastrointestinal malignances. Digestion, 31: 67-76., 1.985.
- 91.- ARAKAWA, Y.; ARIGA, H.; KANO, M.; MATSUO, Y.; HONDA, T. y MORITA, K..- Determination and significance of a new carbohidrate antigen Ca.19.9 in digestive system cancers. Jap. J. Med. vol. 24(2). Mayo 1.985.
- 92.- BJÖRKLUNG, B.; BJÖRKLUNG, V..- Antigenicity of pooled human malignant and normal tissues by citoimmunological technique. Presence of an insoluble, heat-labile tumor antigen.- Int. Arch. Allergy, 10:153-160. 1.957.
- 93.- BJÖRKLUNG, B..- Tissue polypeptide antigen (TPA) in cancer and other condition. Oncodevelopmental gene expression. Ed. Fischman W.H. y Sells. Academic Press. New York, 501-507. 1.976.
- 94.- LINDHOLM, L.; HOLGREN, J.; SVENNERBOLM, L.; FREDMAN, P.; NILSSON, O.; PERSSON, B.; MYRVOLD, H. y LAGERGÅRD, T..- Monoclonal antibodies against gastrointestinal tumor associated antigens isolated as monosialogangliosides. Int. Archs. All Appl. Immunol., 71: 178-181. 1.983.

- 95.- NILSSON, O.; LINDHOLM, L.; PERSON, B.; FREDMAN, P. MANSSON, J.E.; HOLGREM, J. y SVENNERBOLM, L.- Tissue distribution and concentration of a monoclonal antibody defined tumor-associated ganglioside antigen. In: Chester et al. (eds.) Glicoconjugates: Proceedings of 7th. International Symposium. Lund University, Lund, pp. 852-853. 1.983.
- 96.- NILSSON, O.; MANSSON, J.E.; LINDHOLM, L.; HOLMGREM, J. y SVENNERBOLM, L.- Syalosylactotetraosylceramide, a novel monoclonal antibody defined ganglioside antigen detected in human carcinomas. FEBS.(letter). 1.985. 398-402.
- 97.- HOLGREM, J.; LINDHOLM, L.; PERSSON, B.; LAGERGÅRD, T. NILSON, O.; SENNERHOLM, L.; RUDENSTAN, C.M.; UNGGAARD B.; YNGUASON, F; PATTERSON, S.; KILLANDER, A.F.- Detection by monoclonal antibody of carbohydrate antigen Ca.50 in serum of patients with carcinoma.- British Medical J. 1.479 -1.482. Mayo 1.984.
- 98.- BRUHN, MD.; EVERDING, A.; JOOS, B. y HEDDERICH, J.- Clinical experience with the carbohydrate antigen Ca.50 in the serum of carcinoma patients. In: Tumor Marker Antigens, Holgrem, J. et ed. Studentlitteratur, pp. 92 -103, Lund, Sweden. 1.985.
- 99.- GENOLLA, G; MORAGAS, M; BUXEDA, M.M; SORRIBES, A; CUARTERO y ENCABO, G.- Valor de la determinación sérica del antígeno Ca.50 en las neoplasias de colon.- En: Marcadores Tumorales. Monograffa. 197-206. Barcelona. 1.989
- 100.- JALANKO, H.; McGLUND, C.; ROBERTS, P.J. y KUUSELA, P.- Tumors markers in gastrointestinal cancer. In: Tumor marker antigen Holgrem, J. ed., pp. 112-121. Studentlitteratur, Lund, Sweden, 1.985.
- 101.- PAGANUZZI, M.; MARRONI, P.; BOCCARDT, F.; VALENTY, G y FERRARA, G.B.- Clinical evaluation of Ca.50 in sera of patients with different tumors. In: Tumor Marker Antigens, Holgrem, J. ed., pp. 134-145, Studentlitteratur, Lund, Sweden.- 1.985.

- 102.- KOPROWSKI, H.; STEPLEWSKI, Z.; MITCHELL, K.; HERLYN, D. y FUHSER, P.- Colorectal carcinoma antigens detected by hibridoma antibodies. *Somat. Cell. Gen.* 5: 957-961. 1.979.
- 103.- SEARS, H.F.; HERLYN, M.; DEL VILLANO, B.C.; STEPLEWSKI, Z. y KOPROTWSKI, H.- Monoclonal antibody detection of a circulating tumor associated antigen. A longitudinal evaluation of patients with colorectal cancer. *J. Clin. Immunol.* 2: 141-149. 1.982.
- 104.- MAGNANI, J.; NILSSON, B.; BROCKBOUS, M. ET ALT.-A monoclonal antibody-defined antigen associated with gastrointestinal cancer is a gangliosid contained sialylated lacto-N-fucopentaose II. *J. Biol. Chem.* 257: 14.365-14.369. 1.982.
- 105.- ATKINSON, B.F.; ERNST, C.S.; HERLYN, M. y tres más.- Gastrointestinal cancer associated antigen in inmunopeptoxidasa assay.- *Cancer Res.* 42: 4.820 - 4.823. 1.982.
- 106.- DEL VILLANO, B.C.; BRENNAN, S. y BOCK, P.- Radioinmunometric assay for a monoclonal antibody-defined tumor marker Ca.19.9. *Clin. Chem.* 29: 549-552. 1.983.
- 107.- LAMIQUIZ, A.; LOIZATE, A. y DOMINGUEZ, M.J.- Elevación preoperatoria de CEA, CA.19.9 y CA.50 en los estadios irreseables del cáncer colorrectal.- *Cartas al Director. Rev. Española. Enf. Apar. Digest.* 73. 1.988. 323-324.
- 108.- LAMIQUIZ, A.; DOMINGUEZ, M.J.; LAZARO, S. y cuatro más.- Interés clínico del CEA monoclonal y del Ca.19.9 en el diagnóstico y seguimiento del Ca. gastrointestinal. Resultados preliminares. *Cirugía Española.* Vol. 43. Marzo 1.988. 372-378.
- 109.- LAMIQUIZ, A.; DOMINGUEZ, M.J.; FOMBELLIDA, J.C.- Marcadores tumorales del Cáncer Colorrectal. Historia y estado actual. *Gaceta médica de Bilbao.* Vol.84. Nº 9-10. 1.988. 363-375.
- 110.- POLLARD DR AND GUPTA, K; In *Lectins-Biology. Clinical Biochemistry.* Vol.5. 1.982. 226-229.

- 111.- KERCKAERT, JP AND BAYARD, B.; In *Lectins-Biology, Biochemistry, Clinical Biochemistry*, vol. 1 Walter de Gruyter, Berlin, New York 1.981. pág. 271-274.
- 112.- BREBOROWICZ, J. AND MACKIEWICZ, A.; In *Lectins-Biology, Biochemistry*, vol.1 Walter de Gruyter, Berlin, New York 1.981. p.303-306.
- 113.- LÜNING, B.; NILSSON, B.- Sequence Homology between tissue Polypeptide antigen (TPA) and intermediate filament (IF) proteins. *Acta Chem. Scand.*B37 (1.983):731-733.
- 114.- MROSS, K.B.; WOLFRUM, D.J. and BAUCHRECKER, H.- Determination of tissue polypeptide antigen (TPA) levels in different cancer types and controls. *Oncology* 42. 1.985: 288-295.
- 115.- OEHR, P.; FISCHER, L.; RERSJES, W. et ALT.- Distribution, sensitivity and specificity of TPA, Cea and marker product values for patients with carcinoma of the gastrointestinal tract. *Tumor Diagnostic* 3 (1.982): 195-198.
- 116.- BOMBARDIERI, E.; JOTTI, G.S.; COCCILOLO, M.G. et ALT.- Tissue Polypeptide antigen and carcinoembryonic antigen in colon tumors: serum levels and immunohistochemical localization. *Cancer Detect. Pre.* 8 (1.985) 219-226.
- 117.- KREMER, M; CHATAL, J.F.; CURTET, C. y DOUILLARD, J.Y. XI Annual meeting of ISOBM, Stockholm, Suede, Sep. 1.983.
- 118.- RUIBAL, A. y COLS.- Marcadores Tumorales. *Bull. Cancer* (1.983) 70: 438-440.
- 119.- KLAPDOR, R. AND COLS.- Tumor diagnostic therapie. 1.984. 5: 161-165.
- 120.- RUIBAL, A. y COLS.- Marcadores Tumorales. International meeting on monoclonal antibodies in Oncology. Nantes. France. Juin 1.984
- 121.- VINDIMIAN, M. et ALT.- Immunoradiometric assay of CA.19.9. *Presse Med.* (1.984) 13: 1.787-1.790.

- 122.- CHATAL, J.F. et ALT.- Marcadores Tumorales. XXIV Colloque de Médecine Nucléaire Nice, France. Sept. 1.984.
- 123.- GOLIGHER, J.C.- Cirugía del ano-recto y colon. Salvat Editores S.A. Barcelona 1.979.
- 124.- RÜEFF, F.L. AND BOHMERT, H.- Clínica del Carcinoma de Recto.- Cln. Quir. Universitaria. Munich. M. M. W 4/ 1.971. 333-342.
- 125.- FALTERMANN, K.W; HILL, C.B. y MARKEY, J.C.- Cancer of the colon, rectum and anus.- A Review of 2.313 cases. Cancer.34. 951-959. 1.974.
- 126.- PHILLIPS, RKS; HITTINGER, R; BLEARSKI, JS; FRIELDING, LP.- Local recurrence following «curative» Surgery for large bowell cancer: II. The rectum and rectosigmoid. 1.984, 71: 17-20.
- 127.- SKIPPER, D.; COOPER, AJ.; MARSTON, JE.; TAYLOR, I.- Exfoliated cell and in vitro growth in Colorectal Cancer.- Br. J. Surgery.- 1.987, 74: 1.049-1.052.
- 128.- ROSEMBER, IL.; ROSSELL, CW.; GILES, GR.- Cell viability studios on the exfoliated colonic cancer cell.- Br. J. Surgery. 1.978, 65: 188-190.
- 129.- ACKERMANN, NB.- The tecnique of primary arterial ligation for cancer of the colon as suggested by venous and lymphatic antflacio. Studies. Surgery 1.976, 80: 312-316.
- 130.- MACH, J.P.; JAEGER, PH.; BERTHOLET, M.M.- «Detection of recurrence of large bowel carcinoma by radioinmunoassay of circulating carcinoembriogenic antigen (CEA) Lancet, 535-550. Sep. 1.984.
- 131.- BOMBARDIERI, E.; COCCILO, M.G.; RINGHINI, R. y BURAGGI, G.L.- Factors affecting the clinical interpretation of Laboratory results with tumor markers.- Ponencia al primer Symposium Internacional sobre Biología utilidad clínica de los Marcadores Tumorales. Barcelona. 1.986.

- 132.- PIQUE, J.M.; ESTAPE, M.- «Marcadores Tumorales en Neoplasias de Colon y Recto.- Ponencia al primer symposium Internacional sobre Biología y utilidad clínica de los Marcadores Tumorales. Barcelona. 1.986.
- 133.- MIRIDI, G.; AMANTI, C.; CONSORTI, F. AND COLS.- Usfulness of preoperative CEA levels in the assesment of the colorectal cancer patients.- J. Surgery Oncol. 1.983; 22: 257-260.
- 134.- WOLMARK, N.; FISHER, B.; WIEAND, HS et ALT.- The prognostic significance of preoperative carcinoembryonic Antigen levels in colorectal cancer. Results from NSABP clinical trials. Ann. Surgery. 1.984; 199: 375-381.
- 135.- HERRERA, MA.; CHU, TM.; HOLYOKE, ED.- Carcinoembryonic antigen (CEA) es prognosis and monitoring test in clinically complete resection of colorectal carcinoma. Ann. Surgery 1.976; 183: 5-9.
- 136.- STEELE, G.; ELLEMBERG, S.; RAMMING, K et ALT.- CEA monitoring among patients in multi-institutional adjuvant GI therapy protocols. Ann.Surg.1.982; 196:162-169.
- 137.- BEATTY, JD.; ROMERO, C.; BROWN, PW. et ALT.- Clinical value of Carcinoembryonic antigen. Diagnosis, Prognosis and follow up of patients with cancer.- Arch.Surgery 1.979;114 :563-567.
- 138.- WANEBO, HJ.; RAO, B.; PNSKY, CM. et ALT.- Preoperative Carcinoembryonic antigen levels as prognostic indicicator in colorectal cancer. N. England J. Med. 1.978 299:448-451.
- 139.- KOHLER, JP.; SIMONITZ, D.; PALOYAN, D.- Preoperative CEA level. A prognostic test in patients with colorectal carcinoma.- Am. Surg. 1.980; 46: 449-452.
- 140.- IMPERATO, JP.; SENNER, SF.; CHINIEL, J. et ALT.- Colorectal Cancer in Illinois. Demographic, treatment results and prognostic indicators in 7.791 patients treated between 1.976-1.978. Proc. ASCO 1.988; 7: 353-57.
- 141.- ZAMCHECR, N.- The present status of Carcinoembryonic antigen (CEA) in diagnosis, detection of recurrence, prognosis and evaluation of therapy of colonic and pancreatic cancer. Clin. gastroenterology 1.976; 5: 625-638.

- 142.- OH, JH.; MCLEAN, LD.- Prognostic use of preoperative and immediate postoperative Carcinoembryonic antigen determinations in colonic cancer. *Can J. Surg.* 1.977 20: 64-67.
- 143.- ATTIYEH, FF.; STEARNS, M.- Second-look laparotomy based on CEA elevations in colorectal cancer. *Cancer* 1.981; 47: 2.119-2.125.
- 144.- STEELE, G.; ZAMCHECK, V.; NILSON, R. et ALT.- Results of CEA initiated second-look surgery for recurrent colorectal cancer. *Am. J. Surgery.* 1.980; 139: 544-549.
- 145.- MARTIN, EW.; MINTON, JP.; CAREY, LC.- CEA-directed second-look surgery in the asymptomatic patients after primary resection of colorectal carcinoma. *A. A. Surg.* 1.985; 203:301-317.
- 146.- FUCCINI, C.; TOMMASI, MS.; CARDONA, G. et ALT.- Limitations of CEA monitoring as a guide to second-look surgery in colorectal cancer surgery.- *Tumori.* 1.983; 69: 359-364.
- 147.- STEVENS, DP.; MACKAY, IR.; CULLEN, KJ.- Carcinoembryonic antigen in a selected elderly population. A four year follow-up.- *Br. J. Cancer,* 1.975;32:147.
- 148.- BAUMAN, M.; BRAND, K.; GIEDL, J. et ALT.- Significance of serum phosphohexose isomerase in gastrointestinal cancer at different stages.- *Oncology* 1.988; 45: 153-158.
- 149.- PUTZKI, H.; STUDENT, A.; JABLONSKI, A.; HEYMAN, H.- Comparison of the tumors markers CEA, TPA and Ca.19.9 in colorectal carcinoma.- *Cancer,* 1.987; 59: 223-226.
- 150.- OEHR, P.; DERIGS, G.; ALTMANN, R.- Evaluation and characterization of tumor-associated antigens by conversion of inverse distribution functions values into specificity sensitivity diagrams.- *Tumor Diagnostik* 1.981; 2: 283-290.
- 151.- LÜTHGENS, M.; SCHLEGEN, G.- Combined use of Carcinoembryonic antigen and tissue polypeptide antigen in oncology therapy and surveillance. *Cancer Detect Prev.* 1.983; 6: 51-59.

- 152.- LINDHOLM, L.; JOHANSSON, C.; JANSSON, E.L.; HALLBERG, C. y NILSSON, O.- An Immunoradiometric assay (IRMA) for the Ca.50 antigen. In: Tumor Marker Antigens, Holmgren, J. Ed. pp. 134-145, Studentlitteratur, Lund, Sweden. 1.985.
- 153.- DEL VILLANO, B.C. y ZURAWSKI, V.R.- The Carbohydrate Antigen determinant 19.9 (Ca.19.9): a monoclonal Antibody defined tumor marker: Immunodiagnostic: 269-282, 1.983.
- 154.- RITTS, R.E.Jr.; DEL VILLANO, B.C.; LANO, B.C.; GO, V.L HERBERMAN, R.B.; KLUG, T.L. y ZURAWSKI, V.R.- Initial clinical evaluation of a Immunoradiometric assay for Ca.19.9 using the NCI serum bank Int. J.Cancer, 33: 339-345, 1.984.
- 155.- HERLYN, M.; JHEN, J.W.; SEARS, H.F. y COLS.- Detection of a circulating gastrointestinal cancer antigen in sera of patients with gastrointestinal malignances by a double determinant immunoassay with monoclonal antibodies against human blood group determinants. Clin. Exp. Immunol. 55: 23-35, 1.984.
- 156.- STAHL, E.; GLIMELIUS, B.; BERSTRÖM, R.; PAHLMAN, L.- Preoperative serum markers in carcinoma of the rectum and Rectosigmoid. II Prediction of prognosis. Eur.J. Sur. Oncol. 1.988; 14:287-296.
- 157.- SCHOLM, J. y WEECKES, MO.- Potential clinical utility of Monoclonal antibodies in the management of human carcinomas. In: Important Advances in Oncology. 1.985. Edited by VT DeVita, S. Hellman, SA Rosenberg. Philadelphia, JB Lippincott, 1.985. pp: 170-192.
- 158.- STELLA, M. y COLS.- Surgery for colorectal cancer quided by radiodetecting probe. Clinical evaluation using monoclonal antibody B72.3. Eur. J. Surgery. Aug. 1.991. 157(8). P. 485-488.
- 159.- ARMAS, A.; GONZALEZ GANCEDO, P.; CASAUS, M.; CALERO, F.- El B72.3 como nuevo Marcador de los tumores epiteliales malignos del ovario.- Actual. Obstétrico Ginecológica. 1.990. 2 (5): 275-278.