

## PRESENTACIONES ORALES

### EL ESTUDIO TRANSOPERATORIO (ETO) EN PATOLOGÍA MAMARIA. ACIERTOS Y ERRORES

**Alvarado-Cabrero Isabel**

Departamento de Patología del Hospital de Oncología  
del Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS.

**Introducción.** Las principales indicaciones del ETO de la glándula mamaria son: A. Obtener un diagnóstico, lo que determinará un tratamiento inmediato. B. Analizar márgenes quirúrgicos en casos de tratamientos conservadores y C. Exámen del ganglio centinela.

**Objetivos:** Investigar el tipo de ETO enviado por el servicio de mama y su frecuencia, así como el porcentaje de errores y las causas que los motivaron.

**Material y Métodos.** 1. Se buscaron en los archivos de Patología todos los casos de lesiones mamarias sometidas a ETO durante el periodo 1998-2001 y fueron analizados por un patólogo. 2. Se compararon los diagnósticos transoperatorios con los definitivos. 3. En los casos con error diagnóstico se buscó la posible causa del mismo.

**Resultados.** 1250 ETO de mama fueron enviados, los motivos del envío fueron: A. Diagnóstico, 45% de los casos, B. Márgenes Quirúrgicos, 30% de los casos y C) Análisis de ganglio centinela, 25% de los casos. En la primer categoría(A), se registró un 20% de falsos negativos y un 5% de falsos positivos, las causas más comunes de error fueron, mal muestro e interpretación inadecuada de la lesión. En la segunda categoría(B), el porcentaje de falsos negativos fue del 30% y el porcentaje de falsos positivos del 0%. En esta categoría los errores ocurrieron con mayor frecuencia en los casos con carcinoma intraductal extenso o en aquellos carcinoma infiltrantes con márgenes espiculados(diseminación intraductal). En la tercer categoría(C), el porcentaje de falsos positivos fue del 2% y de falsos negativos del 3%, las causas de error fueron muestreo insuficiente de los ganglios y problemas en la interpretación de los hallazgos intraoperatorios.

**Discusión.** De un diagnóstico intraoperatorio adecuado depende el éxito del tratamiento empleado por el cirujano. Por otro lado, en la evaluación de los márgenes quirúrgicos, el estudio radiológico del espécimen y el apoyo del radiólogo facilitarán la tarea del patólogo en decidir cuál margen puede estar comprometido. El exámen adecuado de los ganglios centinelas depende del entrenamiento que se tenga en esta área.

**Conclusiones.** 1. El tipo de ETO más frecuente en patología mamaria fue el conocer un diagnóstico de benignidad o malignidad. 2. El porcentaje promedio de errores fue del 21%, la gran mayoría motivados por mal muestro de la lesión y por interpretación inadecuada de la misma.

### MAPEO LINFÁTICO Y BIOPSIA DEL GANGLIO CENTINELA EN CARCINOMA EPIDERMÓIDE DE LA CAVIDAD ORAL

**Flores Díaz R\*, Gallegos Hernández JF\*,  
Pichardo Romero P\*\*, Minauro Muñoz G\*,  
García Fernández R\*\*, Mantilla Morales A\*\*\*,  
Resendiz Colosia J\*, Hernández Sanjuan M\*,  
Arias Ceballos H\***

Departamentos de tumores de cabeza y cuello\*,  
medicina nuclear\*\* y patología\*\*\*. H. Oncología.  
CMN. SXXI. IMSS.

**Introducción.** El tratamiento estándar del cuello en pacientes con cáncer de cavidad oral(CCO) sin ganglios palpables(N0) es la disección supraomohioidea(DSOH), sin embargo 70% de los pacientes N0 con tumores menores a 4cm(T1-2) no tienen metástasis en los ganglios disecados(pN0); y 32% presentan morbilidad por la DSOH. Los pacientes pN0 no son beneficiados por la DSOH, es necesario saber si existe un ganglio centinela(GC) en cuello que permita etapificar a los pacientes sin necesidad de DSOH.

**Hipótesis:** El ganglio de primer relevo(GC) es un indicador del estado histológico de los demás ganglios en cuello en pacientes con CCO.

**Material y Métodos:** Pacientes con CCO T1-2, N0(UICC). Infiltración de 3mCi intratumoral el día previo a la cirugía, linfogammagrafía preoperatoria e identificación del GC en la piel, 20' antes de la cirugía infiltración intratumoral de 1ml de azul patente V. Identificación del GC por su color y radiactividad medida con Neoprobe 2000™ transoperatorio. Estudio histológico transoperatorio del GC. DSOH en todos los pacientes. Correlación entre el estado histológico del GC y los demás ganglios disecados, cálculo de sensibilidad e índice de falsos negativos.

**Resultados:** Se incluyen 15 pacientes, la linfogammagrafía mostró al GC en 14/15, hubo 23 sitios de drenaje, en 2/15 pacientes (13%) el GC se identificó fuera del área de DSOH. En todos se identificó en cirugía al menos un GC(índice de éxito 100%), todos los GC identificados quirúrgicamente coincidieron con la linfogammagrafía. Se identificaron 26GC, media de 1.7, 4/15 pacientes tuvieron metástasis, dos de ellos con GC negativo(índice de falsos negativos = 33%).

**Conclusiones.** El MLBGC con colorante/radiocoloide tiene alto índice de éxito con aceptable tasa de falsos negativos, la linfogammagrafía identifica drenaje linfático fuera de la zona anatómicamente esperada; el GC es indicador del estado histológico ganglionar en pacientes con CCO.

## DOSIMETRÍA DE FUENTES DE BRAQUITERAPIA DE ALTA TASA

**A. Martínez Dávalos y S. Almaraz Calderón**  
Instituto de Física, UNAM

Durante la década pasada los padecimientos relacionados con el cáncer se convirtieron en la segunda causa de muerte por enfermedad en México, solamente por detrás de las afecciones cardiovasculares. En la gran mayoría de estos casos la radioterapia constituye la modalidad principal de tratamiento. Por ello es necesario desarrollar procedimientos rápidos y precisos para el cálculo de las distribuciones espaciales de dosis que se ajusten al volumen del tumor y afecten lo menos posible al tejido sano circundante. Estos métodos requieren información anatómica muy precisa, la determinación de las propiedades de atenuación y dispersión del medio y las características de las fuentes de radiación utilizadas. En particular, la braquiterapia de alta tasa de dosis (ATD) guiada por ultrasonido es una de las técnicas más modernas para tratamiento de cáncer de próstata. En el presente trabajo se discuten dos métodos numéricos para el cálculo de distribuciones espaciales de dosis en tres dimensiones, y su aplicación en la planificación de tratamientos de cáncer de próstata por braquiterapia ATD. Incluimos una comparación entre los resultados obtenidos con el método de la integral de Sievert y el uso de tablas generadas por simulación Monte Carlo (MC) de transporte de radiación en un medio homogéneo (agua) para las fuentes encapsuladas de Ir-192 que mas comúnmente se utilizan en hospitales mexicanos (VariSource y Microselectron). Se presenta la aplicación de ambos métodos a datos clínicos, se discute el efecto de considerar la influencia de las fuentes en planos contiguos y se demuestra que, sin importar ni el tipo de fuente ni el método utilizado, el valor promedio de la tasa de dosis tanto en próstata como en uretra se ve incrementada al considerar planos vecinos. Para las fuentes Microselectron la diferencia en la tasa de dosis promedio calculada con MC es menor que el 10% respecto de la calculada con Sievert, mientras que para fuentes VariSource, la diferencia de la tasa de dosis promedio calculada con MC es menor que el 3% con respecto de la calculada con Sievert.

## ANÁLISIS DEL TRANSCRIPTOMA DEL EPITELIO CERVICAL NORMAL

**Pérez-Plasencia C<sup>1</sup>, Arreola H<sup>1</sup>, Hidalgo A<sup>1</sup>, Riggins G<sup>2</sup>, Salcedo M<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Laboratorio de Oncología Genómica, Hospital de Oncología, Centro Médico Nacional S. XXI.

<sup>2</sup>Pathology Department, Duke University Medical Center, Chapel Hill NC, USA.

**Introducción:** Existen diferentes metodologías para analizar globalmente los transcritos expresados en una célula o tejido determinado, entre ellas se encuentra SAGE (Análisis en Serie de la Expresión Génica) que está basado en dos principios: representación de los transcritos expresados por secuencias cortas de cDNA (tags) y la concatenación de estos tags para su clonación, analizándolos mediante secuenciación. Empleando SAGE, se pueden detectar genes expresados en muy bajos niveles, además de identificar genes nuevos (no descritos previamente). SAGE puede definir la historia celular en función de los niveles de expresión génica de un tejido específico o de una entidad patológica dada. En nuestro grupo estamos interesados en comprender las alteraciones en el perfil de expresión global en el modelo de carcinogénesis del epitelio cervical.

**Objetivo:** Conocer el transcriptoma del epitelio cervical humano. **Resultados y discusión:** Los datos de la biblioteca SAGE que hemos construido pueden ser consultados en el sitio <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SAGE/index.cgi?cmd=expsetup>. Consta de más de 34,000 TAGS que corresponden a alrededor de 7,000 genes expresados. Los genes más representados se encuentran genes involucrados en el mantenimiento y diferenciación de epitelios escamo-estratificados, tal es el caso de small proline-rich protein 3. Al mapear citogenéticamente los genes expresados se observó que muchos de los genes transcripcionalmente activos se encuentran agrupados en regiones discretas del genoma, sugiriendo la presencia de clusters de expresión. Estos resultados constituyen la primera descripción del transcriptoma de tejido cervical; nuestro objetivo es generar otras bibliotecas de tejidos normales y tumorales con el objeto de identificar biomarcadores para esta neoplasia.

## DISEÑO DEL BIOCHIP DE DNA PARA LA DETECCIÓN MOLECULAR DEL VIRUS DE PAPILOMA HUMANO TIPO 18 Y SUS VARIANTES

**Thuluz Meza, R. Maldonado\*, K. Beattie\*\*, M. Lizano\*\*\*, Mauricio Salcedo**

Laboratorio de Oncología Genómica, Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Oncológicas, Hospital de Oncología, Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS, \*Laboratorio de Tecnología del DNA. ENCB-IPN, \*\*Oak Ridge National Laboratory, Oak Ridge, TNN, USA, \*\*\*División de Investigación Básica, INCAN, SS.

**Objetivo:** Diseñar un biochip de DNA para detectar al virus de papiloma humano tipo 18 prototipo y sus variantes intratípicas.

**Materiales y métodos:** Inicialmente se realizó la biosimulación del biochip utilizando DNAs blanco sintéticos y la hibridación virtual utilizando el paquete computacional VirtualHybridization Genesensor Designer para observar las falsas hibridaciones y posibles reacciones cruzadas. Brevemente, en este sistema la secuencia blanco es desnaturalizada y estabilizada por la formación de un duplex parcial termodinámicamente estable, el cual se hace hibridar a un arreglo con sondas fijadas en un vidrio. Posteriormente, se amplificó la región LCR/HPV18 por PCR de líneas celulares derivadas de cáncer de cérvix las cuales presentan polimorfismos (SNP's) en la posición 7529. Estos productos se secuenciaron para comprobar el estado del amplicon del LCR. Finalmente se hibridaron en el microarreglo utilizando ATP a<sup>32</sup>P y revelando por autoradiografía.

**Resultados:** Se logró diseñar sondas específicas para la región del LCR. Con base en el software usado, se realizó la simulación teórica y la biosimulación con oligonucleótidos sintéticos, logrando así los parámetros fisicoquímicos indispensables para una hibridación adecuada. Los resultados mostraron una señal específica para el arreglo realizado.

**Conclusión:** Se logró predecir y establecer los patrones de hibridación para la variante 2 y el prototipo del HPV18, con una discriminación en una sola base. Así, es posible determinar con una especificidad del 100%, variantes y prototipo del virus de papiloma humano 18.

## ESTUDIO DE HIBRIDACION GENOMICA COMPARATIVA SOBRE MICROARREGLOS EN NEOPLASIAS DEL CERVIX UTERINO

**Hidalgo Alfredo<sup>1,2</sup>, Vázquez G<sup>1,2</sup>, Alatorre B<sup>1,2</sup>, Vázquez K<sup>1,2</sup>, López R<sup>1,2</sup>, Arreola H<sup>1,2</sup>, Cerón T<sup>1,2</sup>, Piña P<sup>1,2</sup>, Hernández D<sup>3</sup>, Apresa T<sup>3</sup>, Escudero P<sup>4</sup>, Olvera A<sup>5</sup>, Pérez C<sup>1,2</sup>, Salcedo M<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>Grupo Multidisciplinario de Oncología Genómica, <sup>2</sup>Laboratorio de Oncología Genómica, <sup>3</sup>Sección de Epidemiología, Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Oncológicas, <sup>4</sup>Departamento de Ginecología Oncológica Centro Médico Nacional Siglo XXI-IMSS, <sup>5</sup>ABBOTT-VYSIS México.

**Introducción:** La hibridación genómica comparativa sobre metafases (HGCm), permite obtener un mapa citogenética de las regiones amplificadas o deletadas en un tumor. La HGCm se ha aplicado en todas las etapas del carcinoma cérvico uterino (CACU), detectando un patrón de alteraciones específico. Sin embargo, su sensibilidad es limitada, brindando poca información de los genes blanco de las alteraciones. Para analizar en mayor detalle las alteraciones cromosómicas en CACU, realizamos experimentos de HGC sobre microarreglos, que contienen fragmentos cromosómicos clonados y arreglados sobre un soporte sólido.

**Hipótesis:** El uso de microarreglos genómicos permitirá un análisis detallado de las alteraciones cromosómicas en CACU. **Material y método:** Analizamos 20 muestras (3 lesiones intraepiteliales de alto grado, 10 tumores y 7 líneas celulares). El sistema GenoSensor fue proporcionado por ABBOT-Vysis y consiste en laminillas con 861 elementos, representando 287 regiones cromosómicas. Las muestras de DNA se marcaron diferencialmente, se hibridaron y los microarreglos se analizaron usando el sistema de GenoSensor.

**Resultados:** Las amplificaciones más comunes se encontraron entre los genes RBP1-RBP2 (3q21-q22), la clona sub-telomérica C84C11/T3 (5ptel), el marcador D5S23 (5p15.2) y el gen DAB2 (5p13), en el 50%. Las deleciones más comunes se encontraron en el gen FHIT (3p14.2) (40%), el gen EIF4E (4q24), el marcador D9S325 (9qTel) y el gen AR (Xq11-q12) en el 35% de las muestras. En general se obtuvo un patrón de alteraciones similar al obtenido en CACU utilizando HGCm, sin embargo, fue posible delimitar con mayor detalle regiones o genes particulares involucrados en pérdida o ganancia de DNA.

## HAPLOTIPOS DE HLA CLASE I Y II. ¿PROTECCIÓN O RIESGO EN CÁNCER DE CÉRVIX?

Hernández Hernández-Dulce Ma<sup>1</sup>, Granados-Julio<sup>2</sup>, Cedillo Juárez-Teresa<sup>1</sup>, Apresa García-Teresa<sup>1</sup>, Martínez García-Ma. del Carmen<sup>3</sup>, García Carrancá-Alejandro<sup>4</sup>, Vargas AG<sup>2</sup>, Guido Jiménez-Miriam<sup>4</sup>, Mohar Betancourt-Alejandro<sup>4</sup>

1 UIMEO-IMSS 2. INN-SS, 3 Coordinación de Investigación-IMSS, 4. INCan-SS.

**Introducción.** El cáncer cervical (CC) constituye un problema de salud pública a nivel mundial, como en nuestro país. Ciertos alelos de HLA clase II están asociados con riesgo relativo aumentado para CC.

**Objetivo:** Determinar la asociación de los haplotipos de HLA clase I, II con la presencia de CC en población mestizo-mexicana positiva a VPH 16.

**Diseño:** Casos y Controles.

**Población de Estudio.** Casos: Mujeres con CCVPH 16, sin tratamiento previo, ni enfermedades autoinmunes. Controles: Mujeres con Pap negativo y sin antecedente de neoplasias previas, pareada por frecuencia en el mismo grupo de edad que los casos. Consentimiento informado.

**Lugares de Estudio.** Hospitales de Oncología y Unidades de Primer Nivel del IMSS. Y SSA.

**Mediciones.** Los casos de primera vez fueron identificados y se determinó infección viral (VPH) por Captura de Híbridos II. HLA se determinó en Linfocitos de sangre periférica por PCR-SSO, Reverse Dot Blot (Amplicor Kit) para HLA-DR y DQ, para HLA-A, B por medio de Kits comerciales y pruebas estandarizadas en el laboratorio de inmunogenética.

**Análisis.** Se realizó comparando las frecuencias génicas de alelos específicos para HLA I, II, a través de OR e Intervalos de confianza al 95%, considerando como unidad de análisis el individuo.

**Resultados.** HLA B39, HLA DR4 y HLA DQB1\*0302 tuvieron un efecto protector significativo. El haplotipo HLA A2 - HLA DQ\*0501 (OR=8.1; 1.0-375), mostro un efecto de riesgo para CC. Mientras que HLA A2- HLA B39, HLA B35 – HLA DR4, HLA B39- HLA DR4, HLA B35-HLA DQB1\*0302, HLA B39- HLA DQB1\*0302 y HLA DR4- HLA DQB1\*0302 mostraron un efecto de protección.

**Conclusiones.** Un mayor número de haplotipos de HLA clase I- II fueron identificados como protectores para CC positivas a la infección por VPH16.

## PÉPTIDOS DE LA PROTEÍNA L1 DE HPV-16 ESTIMULAN LA PROLIFERACIÓN DE LINFOCITOS T CD8+ DE PACIENTES CON CÁNCER CERVICAL AVANZADO EN EL CONTEXTO HLA-A2 Y HLA-B35

Monroy GA\*, Hernández MJ\*, Ortiz-Navarrete VF\*\*, Weiss SB\*, Mora GML\*

\*Laboratorio de INMUNOBIOLOGIA. FES-Zaragoza UNAM; \*\*Biomedicina Molecular, CINVESTAV, IPN.

La proteína L1 del virus de papiloma humano (HPV) tipo 16, constituye cerca del 80% de la cápside viral y tiene un papel importante en la infección del epitelio del cuello cervical. En este trabajo se analizó la actividad antigénica de péptidos derivados de L1 de HPV16, el más asociado al desarrollo de cáncer cervical, sobre linfocitos T de sangre periférica de pacientes con cáncer cervical avanzado (CCA). Mediante un programa de algoritmos, se diseñaron secuencias peptídicas de la proteína L1 de HPV16 específicas para los alelos HLA-A2 y B35, dos de los más frecuentes en la población mexicana. Los péptidos FLLQAGLKA, GLQYRVFRI y YLRREQMFV con alta afinidad para el alelo HLA-A2 estimularon la proliferación de linfocitos T CD8+ (índices de proliferación, IP>20) en 10/19, 8/19 y 10/19 pacientes respectivamente con CCA y positivos para HPV16; mientras que en donadoras normales el estímulo fue de 3/10, 5/10, y 4/10 respectivamente, aunque en menor proporción (Tabla 1). Los péptidos EPYGDSLFF, VPKVSGLQY y LPSEATVYL con alta afinidad para el alelo HLA-B35, estimularon respectivamente los linfocitos T CD8+ de 9/15, 11/15 y 8/15 pacientes con CCA; y en 6/8, 3/8 y 2/8 donadoras normales respectivamente y en menor proporción (Tabla 1). Se concluye que pacientes con CCA positivos a HPV16, mantienen linfocitos T CD8+ de memoria específicos a péptidos antigénicos de HPV16.

Tabla 1. Estímulo de linfocitos T CD8+ de pacientes con CCA y donadoras normales con péptidos de L1/HPV16.

HLA	PEPTIDOS	PACIENTES/IP		NORMALES/IPA	
A2	FLLQAGLK	10/19	30-220	3/10	25-6
	GLQYRVFR	8/19	25-150	5/10	25-7
	YLRREQMF	10/19	40-180	4/10	25-120
B35	EPYGDSLFF	9/15	30-140	6/8	20-80
	VPKVSGLQ	11/15	25-180	3/8	30-55
	LPSEATVY	8/15	25-200	2/8	25-30

Apyadopor: CONACYT 34835-MyPAPIIT-DGAPA IN210501.

**ACTIVACIÓN DE LINFOCITOS T CD8+ DE  
PACIENTES CON CÁNCER CERVICAL USANDO  
PÉPTIDOS SINTÉTICOS DERIVADOS DE LAS  
PROTEÍNAS E6 Y E7 DE HPV 16 Y 18**

**Beristain AAU, Hernández MJ,  
Mora GML, Weiss SB, Monrroy A.**

Laboratorio de Inmunobiología, FES-Zaragoza UNAM.

El Cáncer Cérvicouterino (CaCu) se encuentra asociado con la infección del Virus de Papiloma Humano (HPV) en especial al HPV 16 y 18. La expresión de las proteínas E6 y E7 de el HPV estos virus es necesaria para mantener el estado transformado de las células infectadas, por lo que péptidos derivados de estas proteínas presentados por moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad clase I (HLA) –I, pudieran ser buenos candidatos para activar linfocitos T CD8+ de pacientes con CaCu. Con la finalidad de identificar péptidos antigénicos, en el presente trabajo se estimularon los linfocitos T CD8+ de pacientes con CaCu con péptidos derivados de las proteínas E6 y E7 de los HPV- 16 y 18, con especificidad para los alelos HLA-A2 y B35 (de mayor frecuencia en la población mexicana). A través de un programa de predicción por algoritmos se definieron los péptidos derivados de las proteínas E6 y E7 del HPV 16 y 18 con mayor afinidad para los alelos HLA-A2 y B35 y posteriormente se sintetizaron y fueron utilizados a una concentración de 25µM para estimular *in vitro* a los linfocitos T CD8+ de pacientes con diferentes estadios clínicos de CaCu. Finalmente se evaluó el porcentaje de proliferación (índice de proliferación, IP) en cada caso. Se analizó el estímulo en 10 muestras: 6 positivas para HLA-B35 y 4 para HLA-A2. El péptido RPRKLPQLC derivado de E6/HPV16 indujo proliferación *in vitro* de linfocitos T en 5 de 6 pacientes, con IP>50% y el péptido YSRIRELRY de la variante VAA2 de E6/HPV18 indujo proliferación *in vitro* de linfocitos T en 4 de 6 pacientes positivas para HLA-B35 con IP>25%. Por otra parte los péptidos KISEYRHYC y KLPQLCTEL derivados de E6/HPV16 indujeron proliferación en 2 de 4 pacientes positivas para HLA-A2 con IP>40 y >25% respectivamente. Debido a su importante actividad antigénica, estos péptidos podrían ser candidatos potenciales para estimular la respuesta inmune de pacientes con CaCu.

Ayudadopor: CONACYT34835-MyPAPIIT\_DGAPAIN210501.

**RESULTADOS A LARGO PLAZO DEL PROGRAMA  
DE TRASPLANTES DE CELULAS HEMATOPOYETICAS  
PERIFERICAS EMPLEANDO EL «METODO MEXICANO»  
DE ACONDICIONAMIENTO NO MIELOABLATIVO**

**Ruiz-Argüelles GJ, Gómez-Almaguer D,  
Gómez-Rangel D, Cantú-Rodríguez OG.**

Centro de Hematología y Medicina Interna  
de Puebla, Laboratorios Clínicos de Puebla  
y Hospital Universitario de Monterrey.

Con nuestro método de acondicionamiento no mieloablativo (*AmJHematol*2001, 66:241) hemos llevado a cabo 126 trasplantes alogénicos en pacientes con diversas enfermedades. La mediana de edad es de 31 años, con rangos de 1 mes a 62 años. Treinta y dos de los pacientes tenían más de 45 años de edad; este grupo no podría haberse sometido a un trasplante de médula ósea convencional. El seguimiento post-trasplante oscila entre 30 y 1450 días (mediana 210). El tiempo para alcanzar más de 500 neutrófilos osciló entre 0 y 56 días (mediana 13), en tanto que el tiempo para alcanzar más de 20 000 plaquetas tuvo una mediana de 12 días (rango 0 a 29). La mediana de supervivencia de los pacientes no ha sido alcanzada y la supervivencia a 1300 días es de 56.7%. Se presentó EICH aguda en el 53% de los pacientes y crónica en el 33%. En 14 casos (11%) hubo falla del injerto. La mortalidad en los primeros 100 días post-trasplante fue de 18%, siendo la mortalidad total por el trasplante de 24%. En 101 sujetos el procedimiento se pudo llevar a cabo de manera totalmente extrahospitalaria. La mediana del costo del procedimiento es de 18 000 dólares americanos, cifra que contrasta con la informada en los Estados Unidos de Norteamérica (300 000 dólares).

**EXPOSICIÓN A CAMPOS ELECTROMAGNÉTICOS  
ASOCIADOS AL DESARROLLO DE LEUCEMIA  
AGUDA EN NIÑOS CON ALTA SUSCEPTIBILIDAD  
A LA ENFERMEDAD, RESIDENTES DE LA  
CIUDAD DE MÉXICO**

**Pérez-Saldivar ML, Mejía-Aranguré JM,  
Fajardo-Gutiérrez A, Martínez-García MC,  
Salamanca-Gómez F, Palma-Padilla V, Paredes-  
Aguilera R, Bernáldez-Ríos R, Ortíz-Fernández  
A, Martínez-Avalos A, Gorodezky C.**  
Instituto Mexicano del Seguro Social.

**Introducción:** La frecuencia de leucemias agudas (LA) se ha incrementado en los niños residentes de la Ciudad de México. No obstante se desconocen las causas que originan éste incremento. La LA es el resultado de la interacción entre diferentes factores de susceptibilidad a la enfermedad y la exposición a diferentes agentes ambientales cancerígenos. La exposición a campos electromagnéticos (CEM) se ha vuelto una parte importante en la investigación de la etiología de la LA infantil. Por otro lado, el factor genético que más se ha asociado al desarrollo de LA es el Síndrome de Down (SD). La susceptibilidad de éstos individuos los podría estar haciendo más vulnerables al exponerse a CEM para desarrollar LA. El presente trabajo tuvo por objetivo el determinar la frecuencia de niños con SD y LA expuestos a configuraciones eléctricas cercanas a su domicilio, así como cuantificar dicha asociación.

**Hipótesis:** Los niños con SD que desarrollaron LA tienen mayor exposición a CEM en comparación con los SD que no desarrollaron LA.

**Diseño:** Casos y controles

**Muestra:** Participaron 4 hospitales del Distrito Federal que atienden cáncer infantil y tres escuelas especiales para niños con SD. 42 casos y 124 controles. Se empleó el código de cableado eléctrico de Wertheimer y Leeper (WL) para evaluar la exposición a CEM en los domicilios de la población estudiada, así como medición con el dosímetro EMDEX II.

**Análisis:** simple, bivariado y regresión logística no condicionada, Se comparo a casos con controles, para conocer exposición entre ambos.

**Resultados:** La OR cuando había un transformador cerca al domicilio fue de 3.18 (IC90% 1.19-8.46), cuando había alguna línea secundaria OR 2.03 (IC90% 0.54-7.63). Con exposición "muy alta" a CEM OR 2.82 (IC90% 0.47-17.03). Cuando había de 1 a 3 exposiciones "muy altas" cercanas a la casa OR 2.19 (IC90% 0.35-13.66) y cuando había de 4 a 5 exposiciones "muy altas" OR 5.40 (IC90% 0.78-37.23). Edad materna >35 OR 2.56 (IC90% 1.28-5.09). **Conclusiones:** En niños altamente susceptibles la exposición a CEM y que tengan una mamá > de 35 años pueden constituir importantes factores de riesgo para el desarrollo de Leucemia Aguda.

**PROLIFERACIÓN Y EXPANSIÓN DE CÉLULAS  
PROGENITORAS HEMATOPOYÉTICAS PROVENIENTES  
DE PACIENTES CON LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA**

**Montesinos-Montesinos J,\*  
Sánchez-Valle E,\*\* Mayani Héctor**

\* Laboratorio de Hematopoyesis, U.I.M.E.O. Hospital de Oncología, \*Servicio de Hematología. Hospital de Especialidades. \*\* CMN SXXI.

**INTRODUCCIÓN:** Recientemente se ha demostrado que en la Leucemia Mieloide Aguda (LMA) el sistema hematopoyético está organizado de manera jerárquica, al igual que en la hematopoyesis normal, existiendo una subpoblación de progenitores primitivos, encargados de producir células con mayor grado de diferenciación. Sin embargo, actualmente no se conocen los potenciales de crecimiento in vitro de dichas células progenitoras.

**OBJETIVO:** Por ello en este trabajo se determinó las cinéticas de proliferación y expansión de células progenitoras hematopoyéticas (CPH) CD34+lin-, provenientes de pacientes con LMA y de donadores sanos.

**MATERIAL Y METODOS.** Se obtuvieron muestras de médula ósea de pacientes con LMA antes de recibir tratamiento, así como de 3 donadores normales. Después de obtener las células mononucleares, se utilizó un sistema inmunomagnético de separación para la obtención de la subpoblación celular CD34+lin-, y se realizaron cultivos líquidos en presencia de diferentes combinaciones de citocinas recombinantes. Se evaluaron cinco combinaciones: a) en ausencia de citocinas, b) SCF + IL-6 (coctel básico), c) SCF + IL-6 + GM-CSF + G-CSF (coctel mielóide), d) SCF + IL-6 + EPO + IL-3 (coctel eritroide) y e) todas las citocinas (coctel mixto). Se determinó el número celular y el de CPH, durante 20 días de cultivo.

**RESULTADOS.** El máximo incremento observado en proliferación se obtuvo con las células de los donadores normales y en presencia del coctel mixto al día 20 de cultivo (280.5 veces). Con el mismo coctel se observó proliferación en las células de los pacientes, sin embargo el máximo incremento fue de tan solo 1.5 veces (día 10). No se observó expansión de CPH en ninguna de las condiciones analizadas para los donadores normales, no obstante el número de progenitores se mantuvo constante en presencia del coctel mixto. En los cultivos de los pacientes se observó una disminución en el número de CPH con respecto a los donadores sanos y en algunos casos no se detectaron progenitores.

**CONCLUSIONES.** Nuestros resultados indican una disminución en el potencial proliferativo y de expansión de la subpoblación CD34+lin- de pacientes con LMA en comparación con los normales. Esta disminución se puede relacionar con una baja susceptibilidad a la quimioterapia en esta subpoblación primitiva de células leucémicas.

**NIVELES DE EXPRESIÓN DEL mRNA BCL-2  
EN ADULTOS CON LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA  
AGUDA SE ASOCIA CON PARÁMETROS  
CLÍNICOS DE ALTO RIESGO**

**Martínez Mancilla M<sup>1,2</sup>, Rozen Fuller E<sup>3</sup>,  
Zafra de la Rosa G<sup>4</sup>, Miranda Peralta E<sup>3</sup>,  
Gariglio Vidal P<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Escuela Nacional de Medicina y Homeopatía del IPN, <sup>2</sup>Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN, <sup>3</sup>Hospital General de México SSA, <sup>4</sup>Hospital Español.

En la actualidad está ampliamente aceptado que la expansión aberrante de células malignas en el tejido hematopoyético es la causa de la leucemia humana. El mecanismo maligno tiene un componente multigénico en donde están involucrados protooncogenes y antioncogenes. bcl-2 es un protooncogen que incrementa la sobrevivencia de las células neoplásicas al inhibir el mecanismo de muerte celular programada (apoptosis). El gen p53 es un factor transcripcional inducible por daño al DNA, que juega una parte fundamental en apoptosis. No obstante, el valor clínico del daño molecular en ambos genes ha sido bien establecido en diferentes tumores sólidos, en leucemias y linfomas los datos disponibles son aún controversiales en la etapa de diagnóstico inicial. Con base en lo anterior, evaluamos el estado molecular de bcl-2 y p53 en 41 adultos con nuevo diagnóstico de leucemia linfoblástica aguda (LLA), y lo relacionamos con sus datos clínicos a la presentación. Nuestro grupo determinó la cantidad relativa del mRNA bcl-2 y p53 en los 41 casos de LLA y 20 voluntarios sanos por RT-PCR semiquantitativo y la detección de los portadores del gen bcr-abl mediante RT-PCR múltiple, en ambos métodos, se utilizó al gen b2-microglobulina como control interno. Además realizamos la búsqueda de mutaciones en los exones 4 al 9 del gen p53 por secuenciación del cDNA. Encontramos dos (4.9%) pacientes portadores de p53 mutado: un paciente presentó una delección de 1-pb en el codón 249, lo que implica que el péptido aborte en la posición 344, mientras que en el otro paciente se presentó una mutación puntual (T > C) en el codón 146, que lleva a un cambio de triptófano por arginina. Además 7 (17.1%) de los 41 casos de LLA son portadores de la variante 1a2 bcr-abl. Si bien la integridad de p53 no se relaciona con la tasa de expresión del mRNA bcl-2 ( $P=0.232$ ), la cantidad relativa del mRNA bcl-2 y p53 es más alta en los linfoblastos que en las células mononucleares de los controles normales ( $P < 0.05$ ). Un hallazgo interesante, fue que los pacientes con más bajos niveles de expresión del mRNA bcl-2 se asocia con alta cuenta inicial de leucocitos ( $P=0.046$ ), presencia del mRNA bcr-abl ( $P=0.003$ ) y pobre respuesta hematológica a la quimioterapia de inducción ( $P=0.007$ ). En conclusión, nuestros datos señalan que bajos niveles de expresión del mRNA bcl-2 en adultos con LLA al diagnóstico, definen un subgrupo de pacientes con parámetros clínicos de más alto riesgo, lo que sugiere que estos casos de LLA, deberían ser manejados empleando otras estrategias de tratamiento.

**ALTERACIONES CUANTITATIVAS Y FUNCIONALES EN  
PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS DE PACIENTES  
CON LEUCEMIA MIELOIDE CRÓNICA**

**Chávez González Ma. A.<sup>1</sup>,  
Vela Ortega J.<sup>2</sup>, Mayani H.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Hospital de Oncología. Centro Medico Nacional Siglo XXI. <sup>2</sup>Departamento de Hematología. Hospital de Especialidades, Centro Médico la Raza. IMSS. México.

La Leucemia Mieloide Crónica (LMC) es una enfermedad clonal de las Células Seminales Hematopoyéticas (CPH), que da como resultado una progenie funcionalmente alterada, incluyendo células progenitoras hematopoyéticas (CPH). Las CPH y CSH forman parte de la población CD34+ normalmente presente en la médula ósea, sin embargo no está bien caracterizada la biología básica de poblaciones primitivas procedentes de pacientes con LMC, por lo que se espera que poblaciones primitivas de CML presenten diversas anomalías. Por ello en este trabajo se analizó el potencial proliferativo y de expansión de células progenitoras hematopoyéticas de LMC, en respuesta a diferentes combinaciones de citocinas, por lo que se separaron mediante selección negativa, dos diferentes subpoblaciones de células CD34+, la población I, enriquecida en células CD34+Lin-, y la población II, enriquecida en células CD34+CD36-CD38-CD45RA-Lin-; y medimos su contenido de células progenitoras, así como su capacidad de proliferar y expandirse en respuesta a diferentes combinaciones de citocinas en cultivos líquidos libres de suero y estroma. Nuestros resultados indican que la población I de LMC mostró niveles similares de células formadoras de colonias a las observadas en la población proveniente de médula ósea normal (MON), sin embargo, su capacidad de proliferación y expansión fueron claramente deficientes. En el caso de la población II, las células de LMC mostraron un contenido reducido de CFC, y su máximo incremento en proliferación y expansión se encuentra disminuido en relación con la misma subpoblación procedente de MON. El presente estudio demuestra que las células CD34+ derivadas de pacientes de LMC poseen alteraciones cuantitativas y funcionales en nuestro sistema in-vitro. Además se demuestra que de las dos poblaciones estudiadas, la población II (que representa la más inmadura), mostró anomalías más severas, comparada con su contraparte más madura (población I).

**VIRUS DE PAPILOMA HUMANO EN MUESTRAS DE PACIENTES CON CÁNCER DE PENE COMO UN POSIBLE FACTOR PARA EL DESARROLLO DE LA ENFERMEDAD**

**Brenda Alatorre<sup>1</sup>, Candela Iglesias<sup>1</sup>, Hugo Arreola<sup>1</sup>, Patricia Piña<sup>1</sup>, Guelaguetza Vázquez<sup>1</sup>, Isabel Alvarado<sup>2</sup>, Dulce Hernández<sup>1</sup>, Teresa Apresa<sup>1</sup>, Alfredo Hidalgo<sup>1</sup>, Carlos Pérez<sup>1</sup>, Ricardo López<sup>1</sup>, Karla Vazquez<sup>1</sup> y Mauricio Salcedo<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Oncológicas y <sup>2</sup>Departamento de Patología, Hospital de Oncología, CMN-SXXI, IMSS.

**OBJETIVO:** Detectar y tipificar secuencias del virus de papiloma humano en muestras de pacientes con Cáncer de Pene.

**MATERIALES Y METODOS:** En el presente trabajo se estudiaron 57 muestras de cáncer de pene (CaPe) y 10 Neoplasias Intraepiteliales de Pene (NIP), mediante PCR con distintos juegos de oligonucleótidos: E6/HPV16, MY09/11, Gp5+/6+ para la detección de secuencias de virus de papiloma humano (HPV) y la secuenciación para su tipificación. Para determinar el tipo y variante se utilizó mediante el programa BLAST.

**RESULTADOS:** El tipo 16 fue el más frecuente tanto en CaPe (73.6%) como en NIP (70%), del mismo modo que se presenta en Cáncer cérvico Uterino (CaCu), seguido por los tipos 33 y 59 (>5%). Falta por determinar otros tipos de HPV presentes (15%). Así mismo, se observó que al utilizar más de un juego de oligonucleótidos aumentó el total de casos positivos (93%). Se logró identificar varios casos de HPV16 variante Africana, contrario a lo que ocurre en CaCu.

**CONCLUSIONES:** La frecuencia de los HPV en CaPe es semejante a lo que ocurre en CaCu, pero con algunas diferencias. Estos resultados apoyan la idea de la participación del virus en el desarrollo del CaPe. Es probable que la variante Africana en pene tenga un papel diferente a lo que sucede en cérvix, probablemente por la diferencia de epitelios

**LA DEHIDROEPIANDROSTERONA (DHEA) INHIBE LA PROLIFERACIÓN DE LAS CÉLULAS DE CÁNCER DE MAMA MCF-7**

**Galloso Téllez V., López Marure R.**  
Departamento de Fisiología, Instituto Nacional de Cardiología "Ignacio Chávez".  
E-mail:rlmarure@yahoo.com.mx

La DEA es una hormona adrenal que puede convertirse en la hormona masculina (testosterona) y femenina (estradiol). En algunos experimentos se ha demostrado que su efecto se produce cuando se convierte en estradiol. Sus niveles en la sangre son elevados durante la niñez y la adolescencia y disminuyen en la etapa adulta. Dicho decremento se ha relacionado con la aparición de enfermedades como la obesidad, la diabetes, la aterosclerosis y el cáncer, entre otras. Se ha demostrado que la DHEA protege en contra de dichas enfermedades; sin embargo, el mecanismo de acción de tal protección aún no se conoce, aunque se le ha atribuido a su potente efecto antiproliferativo. Por lo que pensamos que la DHEA inhiba la proliferación de las células tumorales de mama MCF-7.

En este trabajo se determinó el efecto de la DHEA y de dos de sus metabolitos, la testosterona y el estradiol, en la proliferación, la actividad metabólica y en la muerte de las MCF-7, con la finalidad de conocer algunos de los mecanismos que utiliza en su protección contra el cáncer y determinar si sus metabolitos pudieran tener un efecto similar al de la DHEA.

La proliferación celular fue evaluada a las 48 h por la tinción con cristal violeta. Se probaron diferentes concentraciones de la DHEA, la testosterona y el estradiol. La actividad metabólica se midió por la reducción del MTT, y la muerte celular por la fragmentación de la PARP y el ADN.

La DHEA inhibió la proliferación de las MCF-7 con un 50% a 25  $\mu$ m, mientras que sus metabolitos, el estradiol y la testosterona, no tuvieron efecto a ninguna de las concentraciones usadas. La actividad metabólica de las células disminuyó con la DHEA; sin embargo, ni la inhibición de la proliferación, ni la reducción del MTT inducidas por la DHEA se vieron asociadas a un proceso de muerte apoptótica.

Estos resultados indican que la DHEA ejerce su efecto antiproliferativo directamente sobre las MCF-7, sin convertirse a otros metabolitos; y que algunos de los mecanismos que pudiera tener para proteger contra el cáncer son: 1) inhibir la proliferación, 2) reducir la actividad metabólica, y posiblemente, 3) detener a las células en alguna fase del ciclo celular, sin llegar a provocar su muerte.

## CO-EXPRESIÓN CONSTITUTIVA DE FAS Y FASL EN LÍNEAS CELULARES DE CARCINOMA PULMONAR

**Hernández Meléndez Jaime, Prado García Heriberto, López González José Sullivan**

Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias. SS. México, D.F.

**Introducción:** Fas y FasL (Fas Ligando) son proteínas de membrana que regulan diversos procesos fisiológicos y patológicos relacionados con muerte celular. La molécula FasL interacciona con Fas para inducir la apoptosis. Alteraciones en la expresión de Fas y FasL o de las moléculas involucradas en el proceso que conllevan a la apoptosis, se favorecen en curso de la replicación de la célula tumoral. Se ha reportado que diversos tipos de cánceres presentan reducción de la expresión de Fas o inducción de la expresión de FasL, como mecanismos de evasión a la apoptosis. En carcinomas de pulmón existen reportes contradictorios de la expresión de las moléculas Fas y FasL. El objetivo de este estudio fue determinar el porcentaje de células tumorales que expresan o coexpresan Fas y FasL.

**Hipótesis:** Un número reducido de células tumorales expresarán Fas, mientras que un elevado porcentaje de células expresarán FasL.

**Material y métodos:** Se utilizaron 8 líneas celulares de carcinoma pulmonar obtenidas comercialmente o derivadas de los pacientes. De ellas, 5 líneas provinieron de adenocarcinoma y 2 líneas de carcinoma epidermoide. El porcentaje de células que expresaron Fas y FasL se determinó por citometría de flujo, utilizando anticuerpos monoclonales anti-Fas y anti-FasL marcados con fluorocromos distintos.

**Resultados:** En 5 de las 8 líneas, la proporción de células que expresaron Fas varió del 90 al 100%; en este grupo la expresión de FasL varió de 50 al 90%. En las 3 líneas celulares restantes, dos líneas coexpresaron Fas y FasL en el 30% de las células y un 20% expresaron sólo Fas o FasL. En una línea celular (SK-LU-1) el porcentaje de células que expresaron FasL fue de 70%, mientras que el porcentaje de células que expresaron Fas fue del 5%.

**Discusión y conclusiones:** En los carcinomas de pulmón, una alta proporción de células coexpresan Fas y FasL. Ya que la interacción de estas moléculas, entre distintas células o en una misma, no conlleva a la apoptosis es probable que durante las etapas que conducen al desarrollo del cáncer, las moléculas intracelulares involucradas en la cascada de la apoptosis se alteren. Por otro lado, la expresión constitutiva de FasL en el tumor podría inducir a la apoptosis de las células que entran en contacto con el tumor. Lo anterior podría representar un mecanismo que favorece la permanencia del tumor en el huésped.

## DESARROLLO DEL MICROARRAY DE DNA PARA EL DIAGNÓSTICO MOLECULAR DEL CÁNCER MEDULAR DE TIROIDES

**Oscar Barrera<sup>1,2</sup>, Carmen Colín<sup>1,2</sup>, Beatriz González<sup>1</sup>, Juan C. Santiago<sup>2</sup>, Rogelio Maldonado<sup>2</sup>, Kenneth Beattie<sup>3</sup>, Mauricio Salcedo<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Lab. Oncología Genómica, U. Inv. Med. Enfs. Oncológicas, Hospital de oncología, CMN SXXI-IMSS, <sup>2</sup>Lab Acidos Nucleicos, ENCB-IPN, <sup>3</sup>OakRidge National Lab, ORNL TN, USA.

**INTRODUCCIÓN.** Los microarreglos o Microarrays, son dispositivos diseñados sobre la base de la técnica de Southern blot, siendo el formato más común el de porta-objetos, cuya ventaja es la compatibilidad con muchos métodos de marcado y con los sistemas robotizados para colocación de sondas. En este trabajo diseñamos el biochip genesensor con sondas de 7-mer para la detección de mutaciones puntuales del oncogen RET involucradas en cáncer medular de tiroides (NEM2A).

**MATERIALES Y METODOS.** Se diseñaron sondas de 7-mer que contiene las mutaciones mas frecuentes en los exones 10 y 11 del oncogen RET. Asimismo se utilizaron oligos estabilizadores de 20 nucleótidos para la estabilidad de la hibridación en doble tandem. En este estudio se llevo el diagnóstico en una familia con cáncer medular portadora de la mutación en RET634 previamente determinada.

**RESULTADOS Y CONCLUSIONES.** Se confirmó la mutación presente en la familia RET634. En este trabajo, las señales de hibridación fueron más evidentes en las sondas que contiene la mutación en la posición final que las sondas que contienen la mutación en el centro. De esta manera se logró detectar la mutación el microarreglo de 18 sondas

## ESTUDIO MOLECULAR DE LAS ISOFORMAS DEL GEN BETA-CATENINA EN TUMORES DE WILMS

Castillo Peñalosa JF, Peñaloza Espinosa RI, Barrientos-Salcedo C, Valenzo Valencia G, Arenas Aranda DJ, Monroy V, Quintero JL, Salamanca Gómez F

UIM en Genética Humana, Lab. Genética Molecular. Coordinación de Investigación en Salud, IMSS. México, D.F.

**Introducción.** El tumor de Wilms o nefroblastoma es el tumor renal infantil más frecuente; en México se estima una frecuencia de 6% de las neoplasias malignas infantiles. No se conocen todos los eventos moleculares involucrados en la iniciación, progresión y metástasis de esta neoplasia embrionaria, que además representa un buen modelo de estudio. Se conoce la participación de al menos cinco genes, y uno de ellos es beta-catenina. Este gen codifica para una proteína con tres dominios funcionales: hacia el extremo amino terminal se encuentra un sitio de fosforilación, seguido de dominios de repetidos tipo armadillo y hacia el extremo carboxilo terminal se encuentra la región de transactivación que comprende a los exones 13 al 16. El exón 16 presenta un sitio de “splicing” alternativo, pero no se conoce si existe expresión diferencial en los tumores, por lo que en este estudio se analiza la expresión de ambas isoformas en el modelo de tumor de Wilms.

**Hipótesis.** Se propone que las isoformas del exón 16 (+/- 159 pb) del gen beta-catenina se expresan de forma diferente en los tumores que el tejido renal sano.

**Material y Métodos.** Se analizaron cinco tumores de Wilms esporádicos y tejido renal sano. Se realizó la amplificación mediante RT-PCR de la región de “splicing” alternativo del exón 16. Se cuantificaron cada una de las isoformas mediante RT-PCR en tiempo real con el sistema LightCycler (Roche).

**Resultados y Discusión.** Se observó expresión de la isoforma – 159 pb exón 16 del gen beta-catenina en los cinco tumores y en el tejido renal sano; sin embargo, en los tumores se expresó en mayor cantidad. La isoforma con los 159 pb, solo se expresó en el tejido sano. Estos resultados pueden indicar que en la región que comprende a los 159 pb se encuentran residuos importantes para la regulación de los genes blanco de beta-catenina.

**Conclusión.** En los tumores de Wilms analizados, no se expresa la isoforma completa (+159 pb exón 16) del gen beta catenina.

## DISTRIBUCIÓN DE CÉLULAS DENDRÍTICAS Y LINFOCITOS T *IN SITU* EN CÁNCER DE MAMA

Polo Soto S. M., Olivares Morales A. S.+; García Romo G. S.\* y Pedroza González, A.\*+  
+Escuela Médico Militar y \*Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del-IPN.

**Introducción:** La incidencia de cáncer mamario en México ha ido en aumento. El principal mecanismo de respuesta antitumoral es la eliminación de las células cancerosas por la acción citotóxica de los linfocitos CD8<sup>+</sup> y las células NK. Sin embargo existen diversos mecanismos por medio de los cuales las células tumorales escapan a la acción del sistema inmune. En cuanto a los mecanismos iniciales de la respuesta inmune, la información existente es muy escasa, sobre todo con relación a las células dendríticas (DCs), las cuales constituyen un complejo sistema de células centinelas y presentadoras de antígenos esenciales para el desarrollo de la inmunidad. En el presente estudio pretendemos evaluar la distribución y estado de activación tanto de células dendríticas como de linfocitos T *in situ* en muestras de cáncer ductal infiltrante.

**Hipótesis:** La deficiente respuesta antitumoral en el cáncer de mama puede deberse a la alteración en la funcionalidad de las células dendríticas.

**Material y métodos:** Se utilizó la técnica de inmuno-histoquímica. La inmuno-tinción se realizó para las moléculas de superficie CD1a, CD25, CD83, TCRαβ y HLA-DR. Para evaluar las muestras se utilizó un analizador de imágenes.

**Resultados:** Los resultados preliminares indican la presencia de células dendríticas inmaduras (CD1a<sup>+</sup>) en los diferentes estadios evaluados, observándose un aumento conforme avanza el estadio del tumor, en contraste es muy baja la cantidad de DCs maduras (CD83<sup>+</sup>) que se pueden observar. Las células T (TCRαβ<sup>+</sup>) se restringen a la periferia del tumor, sin embargo se encuentra una muy escasa presencia de linfocitos T CD25<sup>+</sup> en las muestras analizadas. Lo anterior podría deberse a la existencia de un microambiente dentro del tumor que no permite la maduración de las DCs, y por lo tanto estas células no son capaces de inducir una eficiente respuesta de células T

**Conclusión:** La falta de una respuesta antitumoral eficiente puede deberse en parte a la inhibición *in situ* de las células dendríticas en relación a su función como células presentadoras de antígeno. Sin embargo hace falta determinar los mecanismos de inhibición, que inicialmente serán evaluados mediante la expresión de marcadores de activación y el perfil de citocinas que prevalece dentro de las lesiones tumorales.

**DISEÑO DEL BIOCHIP DE DNA PARA LA  
DETECCIÓN DE MUTACIONES FRECUENTES DEL  
GEN P53 EN CÁNCER**

**Rangel Angélica** <sup>1,2</sup>, **Maldonado R.** <sup>2</sup>,  
**K. Beattie** <sup>3</sup>, **Salcedo Mauricio** <sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Oncología Genómica, Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Oncológicas, Hospital de Oncología, Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS <sup>2</sup>Laboratorio de Tecnología del DNA. ENCB-IPN. <sup>3</sup>Oak Ridge National Laboratory, Oak Ridge, TNN, USA.

**OBJETIVO:** Diseñar un biochip de DNA para detectar por las mutaciones más frecuentes de p53 en cáncer de pulmón.

**MATERIALES Y METODOS:** Inicialmente se realizó la biosimulación del biochip utilizando DNAs blanco sintéticos y la hibridación virtual utilizando el Virtual Hybridization Designer Software para observar las falsas hibridaciones y posibles reacciones cruzadas. Posteriormente, se amplificaron por PCR los exones 5,7 y 8 del gen p53, de muestras normales y líneas celulares derivadas de cáncer de pulmón las cuales presentan mutaciones en alguno de estos exones. Estos productos se secuenciaron para comprobar el estado del gen p53. Finalmente se hibridaron en el microarreglo utilizando ATP  $\alpha^{32}P$  y revelando por autoradiografía.

**RESULTADOS Y CONCLUSIONES:** Se pudo discriminar en el microarreglo los diferentes "mismatch" observándose la señal de hibridación en los sitios predichos por la hibridación virtual. Además fue posible detectar mutaciones puntuales en los sitios antes mencionados.

**EFFECTO CITOTÓXICO DEL EXTRACTO DE  
AZAFRÁN Y SUS PRINCIPALES COMPONENTES  
EN CÉLULAS MALIGNAS HUMANAS**

**F.I. Abdullaev**

Laboratorio de Oncología Experimental,  
Instituto Nacional de Pediatría, México, D.F.,  
04530, México, fikrat@servidor.unam.mx

Los productos naturales han sido una fuente importante para el tratamiento del cáncer, enfermedad que podría llegar a ser la mayor causa de muerte en este siglo. Desde épocas antiguas, el azafrán, el cual es cosechado a partir de los estigmas secos de color rojo oscuro de la flor de *Crocus sativus L.*, ha sido usado como un fármaco para tratar varias enfermedades, incluyendo el cáncer. En el presente trabajo examinamos el efecto citotóxico del extracto de azafrán y de sus principales componentes en células normales y células malignas empleando varios ensayos (formación de colonias, viabilidad celular, determinación de ADN, ARN y síntesis de proteínas). Los principales componentes del azafrán fueron aislados e identificados por HPLC. Nuestros resultados indicaron que el extracto de azafrán inhibe el crecimiento de las diferentes células malignas humanas y que no hay un efecto significativo en las células normales. Los responsables del efecto antitumoral del extracto de azafrán son los carotenoides, particularmente las crocinas. El azafrán y sus principales componentes inhiben solo la síntesis de los ácidos nucleicos, pero no la síntesis de proteínas en las células malignas. En base a estos resultados, sugerimos que los mecanismos moleculares del efecto antitumoral de este agente natural ocurre debido a la inhibición de la síntesis del ADN y ARN en las células malignas. Nuestros estudios y datos publicados en modelos animales indican que el azafrán y sus principales componentes actúan como agentes quimiopreventivos para diferentes tipos de cáncer humano y sugerimos la realización de pruebas antitumorales del extracto de azafrán en tratamientos clínicos para garantizar su efectividad.

**SUBPOBLACIONES NAIVE, MEMORIA Y EFECTORA  
DE LINFOCITOS T CITOTÓXICOS DE PACIENTES  
CON ADENOCARCINOMA PULMONAR**

**Prado-García Heriberto, Aguilar-Cázares  
Dolores, Ávila-Moreno Federico,  
Flores-Vergara Héctor, Morales-Fuentes  
Jorge. López-González José Sullivan**

Depto. Enfermedades Crónico Degenerativas.  
Servicio Clínico 3. Instituto Nacional de  
Enfermedades Respiratorias. SS México.

**INTRODUCCIÓN.** En el derrame pleural maligno es frecuente encontrar células mononucleares que coexisten con células tumorales, por lo que representa un sitio accesible para el estudio de las alteraciones en la respuesta inmune antitumoral. Los linfocitos T citotóxicos (CTLs) son células con capacidad para eliminar células neoplásicas. Se ha descrito que los CTLs presentan varias etapas de diferenciación. Mediante diversos marcadores se han identificado tres etapas generales que son: *naive, memoria y efectora.*

**OBJETIVO:** Determinar en los CTLs del derrame pleural las subpoblaciones naive, memoria y efectora, y compararlas con las subpoblaciones respectivas presentes en la sangre de pacientes con adenocarcinoma.

**MATERIAL Y MÉTODOS:** A partir de la sangre periférica y derrame pleural de 12 sujetos con diagnóstico de adenocarcinoma pulmonar, los CTLs (células T CD8+) se purificaron mediante selección negativa empleando perlas magnéticas. Las subpoblaciones de linfocitos T citotóxicos fueron identificadas empleando citometría de flujo, mediante anticuerpos anti-CD45RA y anti-CD28; el fenotipo detectado fue confirmado con anticuerpos anti-CD27, anti-CD45RO, anti-perforina y anti-granzima A acoplados a distintos fluorocromos. Como control, se determinaron las subpoblaciones de CTLs provenientes de la sangre de 9 sujetos sanos.

**RESULTADOS:** No se encontraron diferencias significativas en el porcentaje de cada una de las subpoblaciones de CTLs en sangre periférica de los pacientes comparados con los CTLs de sujetos sanos. En derrame pleural se encontró un incremento significativo en el porcentaje de CTLs con fenotipo de memoria comparado con la sangre periférica de los mismos sujetos. Concomitantemente, se detectó una disminución significativa de CTLs con fenotipo efector con respecto a la sangre periférica. Con respecto a la población de células efectoras, el porcentaje de células conteniendo perforina disminuyó significativamente en la sangre de los pacientes con respecto a los sujetos sanos; en los pacientes, el derrame pleural presentó menor porcentaje de células efectoras conteniendo perforina comparado con la sangre.

**CONCLUSIONES:** Nuestros resultados sugieren que los adenocarcinomas pudieran actuar: *i)* deteniendo el proceso de diferenciación de los CTLs en la etapa de memoria o *ii)* induciendo la muerte temprana de los CTLs efectores, lo que explicaría la ausencia de este tipo de células en el derrame pleural. Estas posibilidades podrían participar como mecanismos de evasión de los adenocarcinomas pulmonares a la respuesta inmune del huésped.