



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

---

---

**FACULTAD DE MEDICINA**

**CENTRO MEDICO NACIONAL 20 DE NOVIEMBRE**

**I.S.S.S.T.E**

Correlación entre el infiltrado de Linfocitos T CD3+ intratumoral en  
carcinomas primarios de ovario y la evolución clínica.

**TESIS**

**PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
ESPECIALISTA EN ANATOMÍA PATOLÓGICA**

**PRESENTA:**

**DRA. VIOLETA ORDÓÑEZ ESPINOSA**



**MÉXICO. D.F.**

**FEBRERO 2012**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
FACULTAD DE MEDICINA  
CENTRO MEDICO NACIONAL 20 DE NOVIEMBRE  
I.S.S.S.T.E.

Correlación entre el infiltrado de Linfocitos T CD3+ intratumoral en carcinomas primarios de ovario y la evolución clínica.

## **T E S I S**

PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
**ESPECIALISTA EN ANATOMÍA PATOLÓGICA**

**PRESENTA**

**DRA. VIOLETA ORDÓÑEZ ESPINOSA**

**ASESOR DE TESIS**

**DR. AURELIANO MAURICIO PLÁCIDO MÉNDEZ**

**NO. DE TESIS:427.2011**

**MÉXICO, D.F. FEBRERO DE 2012**

## **LISTA DE FIRMAS**

---

**DRA. AURA ERAZO VALLE SOLIS**

**Subdirectora de Enseñanza e Investigación**

---

**DRA. MARIA TERESA GORRÁEZ DE LA MORA**

**Titular del curso de Especialidad en Anatomía Patológica**

**Jefe del Servicio de Anatomía Patológica**

---

**DR. AURELIANO MAURICIO PLÁCIDO MÉNDEZ**

**Asesor de Tesis**

**Médico adscrito al Servicio de Anatomía Patológica**

---

**DRA. VIOLETA ORDÓÑEZ ESPINOSA**

**Autora**

Para mi hija Abril, la luz y alegría de mi vida, el mejor y más hermoso de mis sueños, todo lo que se puede amar en la vida lo amo en ti mi pequeñita. *No te rindas nunca porque cada día es un comienzo nuevo, porque ésta es la hora y el mejor momento, porque no estás sola porque yo te quiero.*

A mis padres Irma y Rafael por ser mis grandes compañeros de vida

A mi esposo Polo por el cariño, compañía y apoyo incondicional

A la memoria de mis abuelos Sra. Ernestina Medina y Ramírez y Dr. Francisco José Ordóñez Ordóñez, del Dr. Jaime Alejandro Orozco Vargas, y de mi amigos Fernando Franco Delgado y Soren Ulises Avilés Ángeles sencillamente porque desde la primera línea pensé en ustedes, como siempre ustedes pensaron en mí.

## AGRADECIMIENTOS

A mi asesor de Tesis, Dr. Aureliano Mauricio Plácido Méndez en reconocimiento a su alta calidad profesional y humana.

A la Dra. Ma. Teresa Gorráez de la Mora por el compromiso académico y profesional a lo largo de mi residencia.

A los médicos adscritos del Servicio de Anatomía Patológica a quienes les agradezco todas sus enseñanzas, en especial a la Dra. Claudia Lucía Shoup Fierro.

Al Dr. Carlos Páez Valencia quien siempre confió en mí y en mis capacidades profesionales.

A mis tíos Violeta y Polo en quienes siempre he encontrado el apoyo y el cariño para seguir adelante.

A mis compañeros Residentes: Dra. Julieta Peralta Serna, Dr. Eliezer Conde Vázquez, Dra. Margarita Eligio Ángeles, con quienes compartí grandes momentos a lo largo de la Residencia.

A mis amigos: Dra. Tania Rueda Luna, Dra. Karla Patricia Ánimas Villafán, Biol. Cynthia Becerra Jiménez, Dr. Omar Cervantes Hernández con todo mi cariño.

Al Lic. Cuauhtémoc Rueda Luna le agradezco infinitamente su intervención profesional sin la cual no hubiera sido posible la culminación de mi Residencia Médica.

Al Dr. José Luis Aceves Chimal por su colaboración con el análisis estadístico del presente trabajo.

## INDICE

RESUMEN .....	7
INTRODUCCIÓN .....	8
OBJETIVOS .....	15
JUSTIFICACIÓN .....	16
HIPÓTESIS .....	17
MATERIALES .....	18
METODO .....	19
RESULTADOS .....	25
DISCUSIÓN .....	30
CONCLUSIONES .....	31
APÉNDICE.....	32
BIBLIOGRAFÍA .....	37

## RESUMEN

El carcinoma primario de ovario afecta anualmente alrededor de 200,000 mujeres a nivel mundial Su alta mortalidad se atribuye a que la mayoría de las pacientes son diagnosticadas cuando la enfermedad se encuentra diseminada. Estudios recientes muestran que la infiltración del tejido neoplásico con linfocitos T CD3 está relacionada con el pronóstico. En este estudio presentamos la correlación del conteo linfocitario CD3 con la sobrevida.

Se analizaron 22 muestras de pacientes con carcinoma de ovario calculando el número de linfocitos T CD3+ infiltrados en el tejido tumoral mediante inmunohistoquímica anti CD3. Utilizamos el programa estadístico SPSS 17.0 para Windows. Y consideramos significancia estadística con  $p < 0.05$ .

La edad más frecuentemente observada fue entre 40-59 años. Con relación a las 22 pacientes estudiadas se puede observar el diagnóstico que predominó es Seroso poco diferenciado con el 40.90% (9), seguido de Seroso moderadamente diferenciado con 36.36% (8), y el de menor porcentaje fue el mucinoso moderadamente diferenciado con el 9.09% (2).

El estadio clínico predominante fue el IIIC (47.6%) y con distribución similar en el resto de estadios. La mayoría de las muestras mostraron un número de linfocitos CD3+ intratumorales mayor de 20 por  $\text{mm}^2$  (54%). La cuenta linfocítica mayor de 20 por  $\text{mm}^2$  mostró una sensibilidad del 85% y una especificidad del 45% para predecir sobrevida. La sobrevida a 20 meses y la presencia de recurrencia de la enfermedad mostró una correlación importante y significativa (0.67 y 0.57  $p < 0.001$  y 0.006 respectivamente).

La infiltración intratumoral de linfocitos T CD3 en carcinoma primario de ovario mostró una correlación importante y significativa con la sobrevida a 20 meses (0.67  $p < 0.001$ ).

La infiltración intratumoral de linfocitos T CD3 en carcinoma primario de ovario mostró una correlación importante y significativa con la presencia de recaída (0.57  $p < 0.006$ ).



## INTRODUCCIÓN

El carcinoma de ovario es la neoplasia maligna ginecológica más letal <sup>(1, 2)</sup> y la quinta causa de muerte por cáncer en el sexo femenino <sup>(2)</sup>; afecta a más de 200,000 mujeres alrededor del mundo cada año de acuerdo a los datos de la Agencia Internacional para la Investigación en cáncer <sup>(3, 4)</sup> y a más de 205,000 según las Estadísticas Globales del Cáncer 2002 <sup>(5, 6)</sup>. Tan solo en los Estados Unidos de América murieron más de 15,000 mujeres de las 21,000 diagnosticadas en el año 2008 <sup>(7)</sup>. Se atribuye la alta mortalidad al hecho de que la mayoría de las pacientes presentan enfermedad diseminada al momento del diagnóstico, frecuentemente con presencia de ascitis, debido a que los síntomas son vagos y poco específicos <sup>(3, 8, 9)</sup>. El carcinoma epitelial de ovario ocasiona la muerte cada año a un número mayor de mujeres que todas las neoplasias malignas ginecológicas sumadas <sup>(10, 11)</sup>.

En México el último Registro Histopatológico de Neoplasias malignas disponible reporta en el año 2003 2,907 registros histopatológicos de cáncer de ovario, lo que representa el 2.64% de las neoplasias malignas entre las mujeres, con un total de 1403 defunciones <sup>(12)</sup>.

Los tumores del ovario se clasifican de acuerdo a su morfología y origen embriológico e histológico, debido a la complejidad de éste órgano que contiene cuatro tipos de tejido, en las cuales se pueden desarrollar diversas neoplasias: epiteliales, de células germinales, de los conductos sexuales y del estroma <sup>(7,13)</sup>.

Los tumores epiteliales comprenden el 58% de todas las neoplasias ováricas y más del 90% de los tumores malignos ováricos <sup>(8)</sup>. Estos derivan del epitelio superficial ovárico <sup>(4)</sup> y aunque éste se continúa con el mesotelio que cubre la cavidad peritoneal, compartiendo el mismo origen y morfología, existen diferencias histoquímicas, enzimáticas y biológicas, que hacen que las neoplasias epiteliales del ovario difieran de las peritoneales <sup>(14)</sup>.

De acuerdo a la O.M.S., los tumores epiteliales del ovario se clasifican con base al patrón predominante de diferenciación como serosos, mucinosos, endometrioides, mixtos, de células claras, tumor de Brenner/ de células transicionales, de células escamosas e indiferenciados. Los cuales a su vez pueden ser malignos, benignos o intermedios (borderline); clasificación importante desde el punto de vista clínico ya que se relaciona con el pronóstico, de acuerdo a la cantidad de proliferación de células tumorales, el grado de atipia nuclear y la presencia o ausencia de invasión al estroma <sup>(15)</sup>. Los tumores serosos y mucinosos son los más comunes. <sup>(8, 15)</sup>.

Algunos tumores, particularmente aquellos de subtipo seroso pueden ser exofíticos o intraquísticos (endofíticos) o pueden tener ambas características <sup>(15)</sup>.

### **Carcinoma seroso**

Los tumores serosos representan el 30% de todas las neoplasias ováricas <sup>(8, 16)</sup>. La mayoría se diagnostican en mujeres adultas y son bilaterales en el 30 a 50% de los casos <sup>(17)</sup>. De todos los tumores serosos el 50% son benignos, el 15% son

intermedios y el 35% son carcinomas invasivos <sup>(8)</sup>. Los carcinomas serosos afectan a mujeres que se encuentran en un rango de edad de 45 a 65 años; aunque estas pacientes presentan síntomas, con frecuencia se confunden con aquellos de patologías benignas del tracto digestivo lo que da como resultado que alrededor del 70% de las pacientes sean diagnosticadas cuando el tumor se encuentra en un estadio avanzado. El tumor se disemina localmente en el abdomen por continuidad y por la vía linfática <sup>(15)</sup>. Macroscópicamente los carcinomas serosos pueden variar en tamaño: mientras unos son microscópicos, otros llegan a medir 20 cm de diámetro y son bilaterales en dos tercios del total de casos. Los que están bien diferenciados son sólidos y quísticos, con papilas suaves dentro del quiste o en la superficie. Los que están poco diferenciados son masas sólidas, multinodulares y con hemorragias. Las metástasis en el omento son masas firmes de color blanco grisáceo. Microscópicamente la mayoría de los carcinomas serosos son tumores de alto grado e invaden el estroma. En su arquitectura muestran ramificación y papilas irregulares con poco o nulo soporte estromal y aberturas similares a lúmenes glandulares combinados con áreas sólidas. Estos espacios abiertos tienden a ser uniformes en tamaño y se orientan radialmente. Las células neoplásicas son pequeñas y uniformes, pero se pueden ver escasas células gigantes mononucleares. Las mitosis son numerosas y la necrosis tumoral con frecuencia es extensa. El estroma puede ser escaso o desmoplásico. Inmunohistoquímicamente, los carcinomas serosos son reactivos para CK7 pero no para CK20. También reaccionan con CAM 5.2, AE1/AE3, EMAs

(epitelial membrane antigen), B72.3, Ver-EP4, Leu-M1 y Ca125 (85%). No son reactivos para calretinina, CK5 u otros marcadores mesoteliales <sup>(15)</sup>.

### **Carcinoma mucinoso**

Los carcinomas mucinosos representan solo el 3% de los carcinomas del ovario, macroscópicamente son grandes (8 – 40 cm), unilaterales, con una o varios quistes que contienen fluido mucinoso. Con frecuencia exhiben áreas suaves y mucoides, o firmes, hemorrágicas y necróticas. Solo en 5% de los casos son bilaterales y si tienen un diámetro mayor de 10 cm se debe sospechar de metástasis. Microscópicamente el 80% de los carcinomas mucinosos invasivos tienen componente de tipo intestinal o cistadenoma mucinoso o ambos, lo que sugiere que la neoplasia benigna se tornó maligna. El otro 20% corresponde a neoplasias son exclusivamente malignas. Es importante realizar el diagnóstico diferencial del carcinoma mucinoso primario de ovario con el carcinoma mucinoso metastásico que puede originarse en el intestino, páncreas, tracto biliar, estómago o cérvix. La inmunohistoquímica es menos útil en este tipo de carcinomas, aunque podría ser de ayuda para diferenciar los carcinomas primarios de los secundarios <sup>(15)</sup>.

## Tratamiento

El tratamiento clásico se basa en cirugía citorreductora seguida por quimioterapia con lo cual más del 80% de las pacientes responden de manera satisfactoria inicialmente <sup>(3, 5, 9, 17, 18)</sup>, sin embargo existe una tasa de recurrencia mayor al 78% entre el segundo y quinto año a partir del diagnóstico y las pacientes finalmente mueren de la enfermedad. <sup>(4, 17)</sup>. Aunque ha habido avances en ambos tratamientos: cirugía y quimioterapia, la sobrevida a 5 años continua siendo menor al 50% porque éstas técnicas y la radioterapia no dan resultados satisfactorios en los estadios avanzados de la enfermedad <sup>(13)</sup>.

Existen factores que mejoran el pronóstico de estas pacientes como el estadio temprano, el tipo histológico no seroso, el bajo grado, la cirugía óptima sin tumor residual <sup>(4, 13, 19)</sup>, así como la edad de la paciente y la respuesta al tratamiento <sup>(2)</sup>.

En varios estudios se ha analizado la influencia que tiene la inmunidad del huésped en el pronóstico de la enfermedad <sup>(4, 10, 20, 21, 22)</sup>. En los tumores de ovario, el único leucocito al que se le ha demostrado que juega un papel primordial en la respuesta del huésped contra la progresión tumoral es el linfocito T <sup>(9, 23)</sup>, principal responsable de coordinar la respuesta inmune celular. La infiltración de linfocitos al tumor se asocia con la respuesta inmune a los antígenos tumorales <sup>(24)</sup>. El linfocito T, a través de su receptor clonotípico, únicamente reconoce al antígeno cuando ésta se encuentra presente en la membrana de la célula presentadora de antígeno. Cuando tiene lugar el complejo antigénico y se forma el complejo TCR/CD3, se desencadena una cascada de reacciones bioquímicas en

el citoplasma de la célula T, dando así lugar al proceso de activación. CD3 es la porción invariante del complejo y está formado por al menos 3 monómeros unidos no covalentemente, denominados gamma, delta y épsilon. Y es el marcador de superficie característico de los linfocitos T. La fracción CD3 es la encargada de transmitir la señal de reconocimiento antigénico al interior celular<sup>(23,24)</sup>.

La presencia de linfocitos T CD3+ en el epitelio neoplásico se relaciona con un mejor pronóstico <sup>(11)</sup>, especialmente cuando estas células se encuentran en el epitelio tumoral <sup>(9, 16, 17, 23, 25, 26)</sup>. Estos hallazgos se han ampliado al estudio de las células T CD8+ en particular, sugiriendo que los linfocitos T citotóxicos juegan un papel importante en la respuesta inmune antitumoral <sup>(2, 4)</sup>. Estudios posteriores que confirman el importante papel que juegan los linfocitos T en el cáncer ovárico, sugieren que las células T CD4+, linfocitos cooperadores, realmente tienen un efecto adverso en el pronóstico, restringiéndose la respuesta antitumoral únicamente a las células T CD3+ <sup>(20, 23)</sup>. En la última década, muchos estudios han demostrado que el sistema inmunológico participa en la aparición clínica del cáncer epitelial de ovario de alto grado, lo que sugiere que estimulando la respuesta de los linfocitos T endógenos podría resultar beneficioso para las pacientes <sup>(9)</sup>. Estos hallazgos revelaron la necesidad de desarrollar la inmunoterapia basada en células T, la cual interviene directamente en el microambiente del tumor, como se ha demostrado en modelos animales al controlar el crecimiento tumoral. Sin embargo, en los humanos no se han obtenido los resultados esperados con la inmunización con antígenos tumorales específicos en la mayoría de los pacientes tratados <sup>(5)</sup>.

Varios estudios indican que la presencia de células CD25+FoxP3+ las cuales son células T reguladoras que disminuyen la proliferación de células T CD3+e inducen una inmunosupresión en el huésped, se asocian con una disminución en la sobrevida de estas pacientes <sup>(4)</sup>.

En México no se cuenta con datos que informen acerca de la relación que existe entre la infiltración del carcinoma epitelial primario del ovario con linfocitos T CD3+ y la evolución clínica de las pacientes diagnosticadas y tratadas de manera habitual.

## **OBJETIVOS**

### **OBJETIVO GENERAL:**

Determinar la correlación entre la sobrevida a 20 meses de las pacientes con carcinoma primario de ovario y el grado de infiltrado linfocítico de células T CD3 intratumoral.

### **OBJETIVOS ESPECÍFICOS:**

- Determinar el estadio del carcinoma primario de ovario más frecuente en la población atendida en el CMN 20 de Noviembre.
- Conocer la evolución clínica de las pacientes con carcinoma primario de ovario en el CMN 20 de Noviembre.



## **JUSTIFICACIÓN**

La literatura reporta que el tumor maligno epitelial primario de ovario es una neoplasia que se diagnostica tardíamente y por lo tanto el pronóstico es desfavorable en un porcentaje elevado. Diversos autores relacionan el pronóstico de esta enfermedad con el estado inmunológico de la paciente y específicamente con la presencia de linfocitos T CD3+ en el epitelio del tumor. Pero a la fecha no se ha establecido la relación de la cantidad de linfocitos T CD3 + en el tumor con la evolución clínica de las pacientes, por lo que proponemos en este estudio determinar dicha relación.

Por el impacto en la mortalidad en las pacientes ya señalado y analizado anteriormente se justifica la necesidad de obtener información útil en la determinación de un factor que podría pronosticar la evolución clínica de las pacientes con este tipo de cáncer y posiblemente incluir la inmunoterapia específica.

## **HIPÓTESIS**

La cantidad de linfocitos CD3 intratumoral tiene una relación importante y significativa con la sobrevida de los pacientes con carcinoma primario de ovario.

HIPOTESIS NULA: La cantidad de linfocitos CD3 intratumoral no tiene una relación importante y significativa con la sobrevida de los pacientes con carcinoma primario de ovario.

## **MATERIALES**

- 1.- Especímenes incluidos en bloques de parafina correspondientes a casos con el diagnóstico de tumor epitelial maligno primario de ovario.
  
- 2.- Reactivo y equipo automatizado para la realización de técnica de inmunohistoquímica para CD3 en los tejidos incluidos en parafina.
  
- 3.- Reactivos y equipo manual para tinción convencional de hematoxilina y eosina.
  
- 4.- Microscopio óptico con rejilla graduada en mm<sup>2</sup>.
  
- 5.- Fotomicroscopio.
  
- 6.- Computadora personal con paquetería básica (Office) y Paquete estadístico SPSS 17.0 para Windows.

## **METODO**

Se realizó un estudio transversal, observacional, descriptivo, y retrospectivo para lo cual:

- A) Se localizaron especímenes de pacientes con diagnóstico de carcinoma epitelial primario de ovario del archivo del servicio de Anatomía Patológica del CMN 20 de Noviembre y se buscaron.
- B) Se realizaron micro-cortes de 5 micras con *Leica RM 2255*.
- C) Se realizó el estudio inmunohistoquímico.

Técnica de Inmunohistoquímica para CD3.

1. Desenmascaramiento de epítomos con buffer de citratos a un pH de 7.0 en olla de presión pascal Dako Cytomation a 121 °C por 10 minutos.
2. Estabilización por 20 minutos a temperatura ambiente.
3. Bloqueo de inmunoperoxidasa endógena con peróxido solución acuosa al 3% por 10 minutos.
4. Incubación del anticuerpo CD3 policlonal(DAKO) a una dilución 1:200 por 30 minutos.
5. Sistema de visualización polímero a base de una columna de dextran por 30 minutos.
6. Revelación con diaminobenzidina por 10 minutos.
7. Contrastar con hematoxilina de Harris.
8. Deshidratar y cubrir la muestra.

Nota: El procedimiento anterior se lleva a cabo en cada laminilla, la cual tiene un corte del tejido problema y un corte de tejido control (en el presente estudio, se trata de un corte de ganglio linfático)

#### D) Evaluación de Muestras

Las muestras con tinción de H.E. y las correspondientes a inmunohistoquímica se evaluaron por patólogo experto en microscopio óptico convencional marca Carl Zeiss, modelo Axioskop, con rejilla graduada en  $\text{mm}^2$  de manera independiente para determinar el número de linfocitos T CD3 x  $\text{mm}^2$  en 50 mm. En caso de existir diferencia en la interpretación, las muestras se analizaron nuevamente hasta llegar a un resultado por consenso. Se elaboró una lista de los resultados asignando una escala: de 0-19 linfocitos x  $\text{mm}^2$  = grado 1; 20 ó más linfocitos x  $\text{mm}^2$  = grado 2

E) La evolución clínica a 20 meses se buscó en el expediente clínico de cada paciente registrando las siguientes variables:

- a) Viva sin recaída
- b) Viva con recaída
- c) Muerta

F) Determinación del tamaño de la muestra:

Considerando que no encontramos estudios en donde se establezca la correlación de la infiltración intratumoral de linfocitos CD3 con la evolución clínica, asumiendo una correlación mínima del 50%, para un poder del 0.80 y un error tipo I de 0.05, utilizando la fórmula para correlación se requiere un población de estudio de 25 pacientes.

$$n = \left[ \frac{Z_{1-\alpha} + Z_{1-\beta}}{\frac{1}{2} \left( \frac{1+r}{1-r} \right)} \right]^2 + 3$$

Donde

$$Z_{1-\alpha} = 1.96$$

$$Z_{1-\beta} = 0.84$$

$$r = 0.50$$

G) DEFINICIÓN DE VARIABLES Y UNIDADES DE MEDIDA:

- VARIABLE INDEPENDIENTE:

Carcinoma primario de ovario: Tumor maligno derivado del epitelio superficial ovárico.

- VARIABLES DEPENDIENTES:
  - a) Numero de linfocitos T CD3 + en el epitelio tumoral: Es el número de linfocitos positivos a inmunoreacción con anticuerpo CD3 por mm<sup>2</sup> que se encuentren dentro del tumor.
  - b) Estadio Clínico al momento del diagnóstico según la clasificación de la FIGO:

Estadio I: **Tumor limitado a los ovarios.**

Ia: **El tumor afecta a *un solo ovario* y no hay ascitis. No existe tumor en la superficie externa, cápsula íntegra.**

Ib: **El tumor afecta a *ambos ovarios* y no hay ascitis. No existe tumor en la superficie externa, cápsula íntegra.**

Ic: **El tumor afecta a uno o ambos ovarios, con *tumor en la superficie*, o con *cápsula rota*, o con *ascitis conteniendo células malignas* o con *lavado peritoneal positivo*.**

Estadio II: **Tumor en uno o ambos ovarios con *extensión pélvica*.**

Ila: **Extensión y/o metástasis al *útero y/o trompas*.**

IIb: **Extensión a *otros tejidos pélvicos*.**

IIc: **Tumor Ila o IIb con *tumor en la superficie*, o con *cápsula rota* o con *ascitis conteniendo células malignas* o con *lavado peritoneal positivo*.**

**Estadio III: Tumor en uno o ambos ovarios con *implantes fuera de la pelvis y/o ganglios retroperitoneales o inguinales positivos. Metástasis superficiales hepáticas.* Tumor limitado a la pelvis menor, pero con *extensión histológicamente comprobada al intestino delgado o epiplon.***

**IIIa: Tumor limitado a la pelvis menor con ganglios negativos, pero con *afectación microscópica de las superficies peritoneales abdominales.***

**IIIb: Tumor en uno o ambos ovarios con *implantes neoplásicos en la superficie peritoneal que no excedan de 2 cm.* Ganglios negativos.**

**IIIc: *Implantes en abdomen de más de 2 cm y/o ganglios retroperitoneales o inguinales positivos.***

**Estadio IV: Tumor en uno o ambos ovarios con *metastasis a distancia.* Si existe derrame pleural debe ser citológicamente positivo. Metástasis hepáticas intraparenquimatosas.**

H) Procesamiento y presentación de la información:

1. Validación de la información contenida en los Expedientes Clínicos del Archivo clínico de las pacientes con diagnóstico de Carcinoma epitelial primario de ovario.



2. Captura de la información en la base de datos en Excel.
3. Obtención de la información a través de análisis simple de cada una de las variables que contempla medidas de tendencia central y de dispersión.
4. Distribución de frecuencias de todas las variables bajo estudio.
5. Utilización del paquete estadístico SPSS 17.0 para Windows. Para el análisis descriptivo se utilizaron medidas de tendencia central y de dispersión. Para el análisis de correlación se utilizó la correlación de Pearson y Spearman de acuerdo al tipo de variables. Para la determinación de sobrevida se empleó Kaplan Meier. Se consideró significancia estadística con  $p < 0.05$ .
6. Presentación de los datos obtenidos en tablas y gráficas para su análisis.

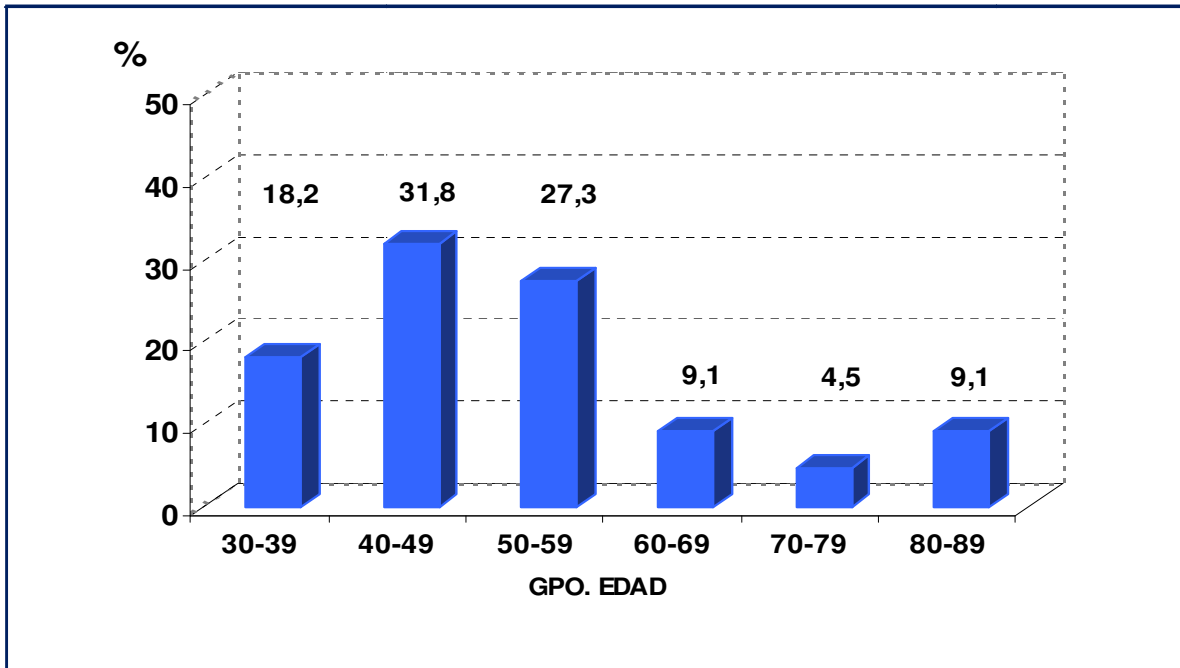
## RESULTADOS

La edad más frecuentemente observada fue entre 40-59 años de edad (Grafica 1). Con relación a las 22 pacientes estudiadas el diagnóstico que predominó es Seroso poco diferenciado con el 40.90% (9), seguido de Seroso moderadamente diferenciado con 36.36% (8), y el de menor porcentaje fue el mucinoso moderadamente diferenciado con el 9.09% (2) (Grafica 2). El estadio clínico predominante fue el IIIC (47.6%) y con distribución similar en el resto de estadios (Grafica 3) la mayoría de las muestras exhibieron cuenta leucocitaria mayor de 20 por mm<sup>2</sup> (54%) (Grafica 4).

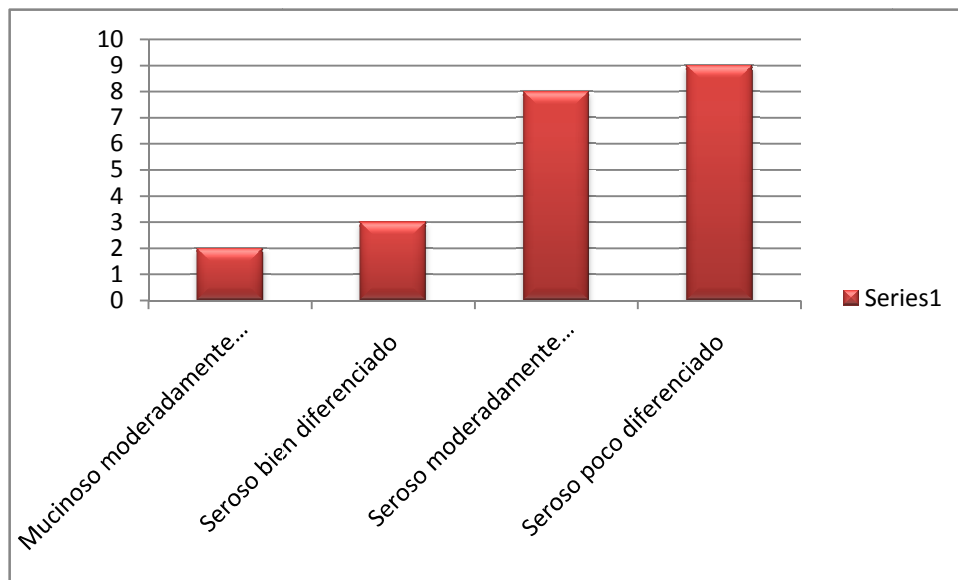
De las 22 pacientes analizadas en el periodo de seguimiento a 20 meses solo seis fallecieron y de las sobrevivientes cinco presentaron recaída y 10 no la presentaron. En las pacientes sin recaída todas tuvieron una cuenta linfocítica mayor de 10 células por mm<sup>2</sup>, contrastando con las que tuvieron recidiva y fallecieron en las cuales la cuenta linfocítica fue menor de 10 células por mm<sup>2</sup>. La distribución proporcional de las pacientes fue similar en todos los estadios clínicos (Grafica 5). La cuenta linfocítica mayor de 20 por mm<sup>2</sup> mostró una sensibilidad del 85% y una especificidad del 45% para predecir sobrevida (Grafica 6)

La sobrevida a 20 meses y la presencia de recurrencia de la enfermedad mostró una correlación importante y significativa (0.67 y 0.57 p 0.001 y 0.006) respectivamente (Tabla 2).

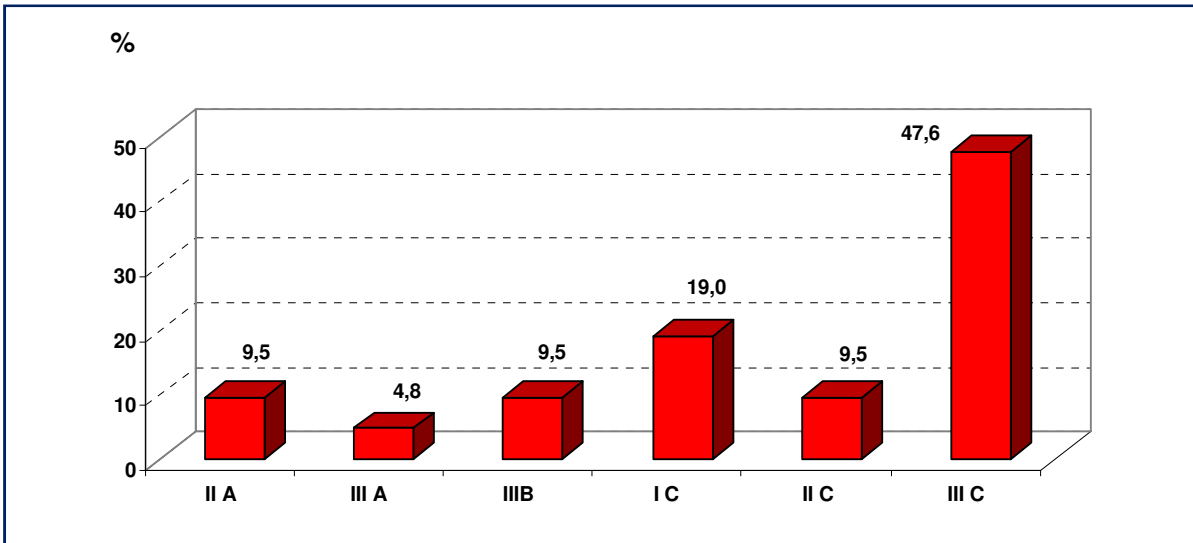
**Grafica 1 DISTRIBUCIÓN POR GRUPOS DE EDAD**



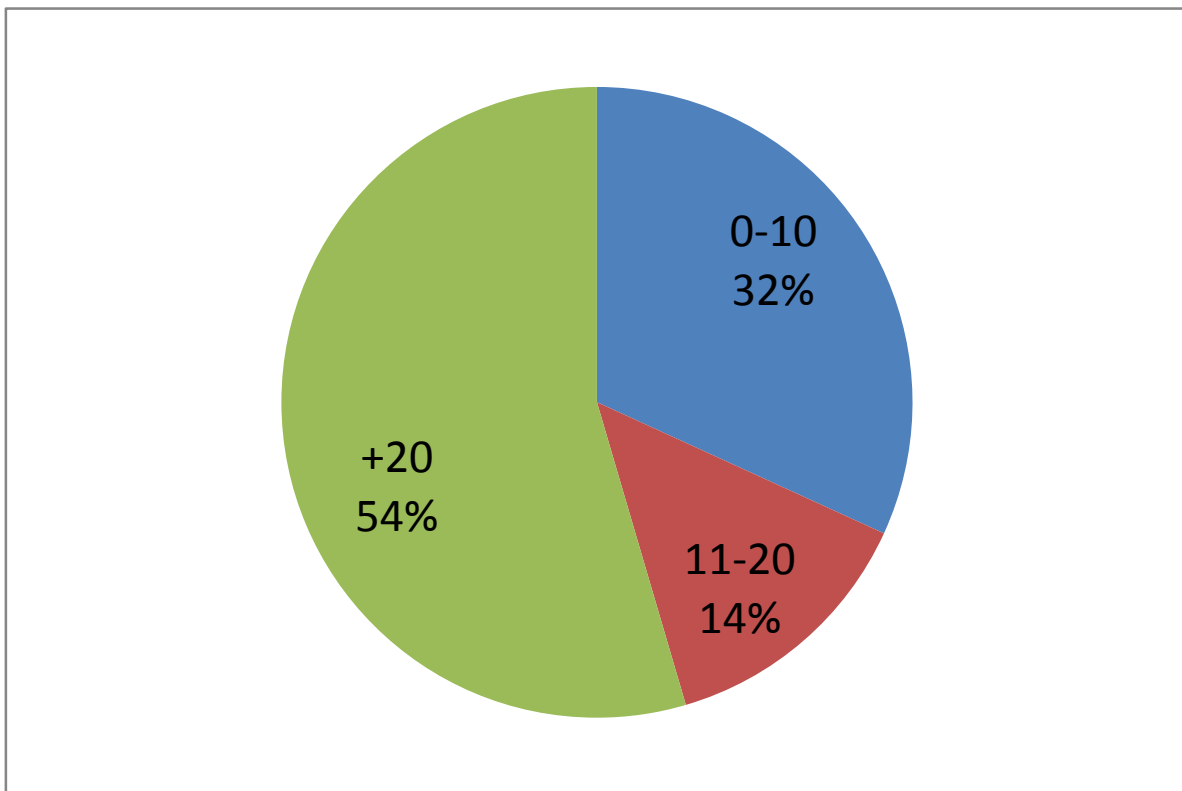
**Grafica 2 DISTRIBUCIÓN POR DIAGNÓSTICO**



**Grafica 3 DISTRIBUCIÓN POR ESTADIO CLINICO**



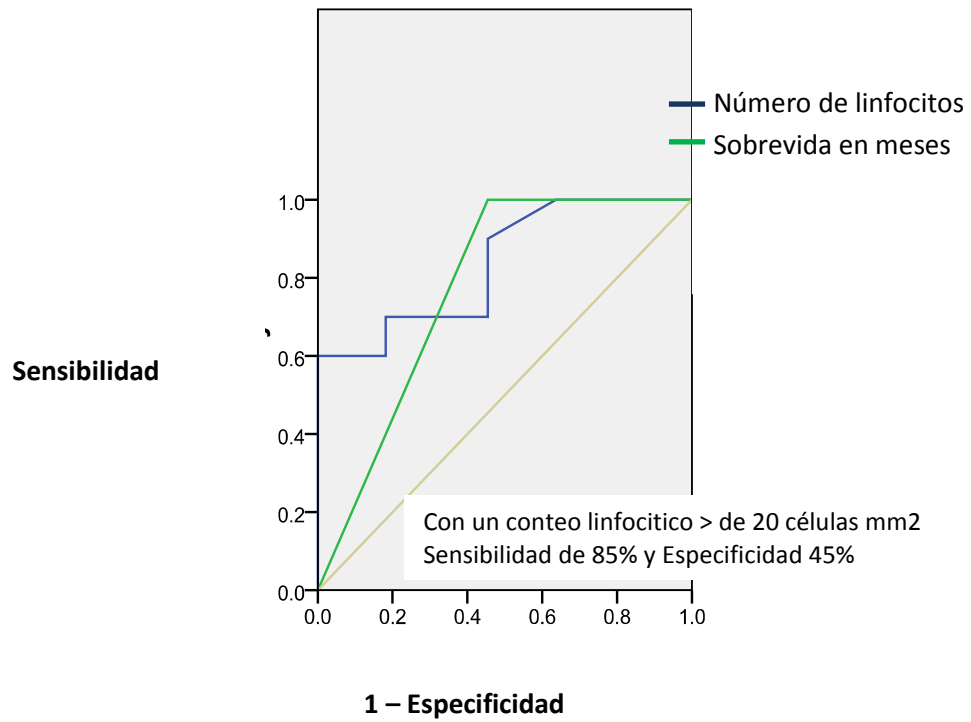
**Grafica 4 NÚMERO DE LINFOCITOS INTRATUMORALES POR mm<sup>2</sup>**



**TABLA 1. COMPARATIVO DE LA EVOLUCIÓN CON NÚMERO DE LINFOCITOS Y ESTADIO**

Variables		Viva sin recaída	Viva con recaída	Muerta	Total	%
Total	Nº	10	5	6	21	
	%	47,6	23,8	28,6	100	
Nº linfocitos	< 10	0	1	3	4	19,0
	%	0,0	25,0	75,0	100,0	
Nº linfocitos	> 10	10	4	3	17	81,0
	%	58,8	23,5	17,6	100,0	
Estadio	II A	1	0	1	2	9,5
	%	50,0	0,0	50,0	100,0	
	III A	0	0	1	1	4,8
	%	0,0	0,0	100,0	100,0	
	III B	2	0	0	2	9,5
	%	100,0	0,0	0,0	100,0	
I C	2	1	1	4	19,0	
%	50,0	25,0	25,0	100,0		
II C	1	1	0	2	9,5	
%	50,0	50,0	50,0	100,0		
III C	4	3	3	10	47,6	
%	40,0	30,0	30,0	100,0		

**Grafica 6**  
**CURVA DE ROC**



**TABLA 2. Correlación de variables**

VARIABLE	r	p
Categoría sobrevida	<b>0.57</b>	<b>0.006</b>
Sobrevida en meses	<b>0.67</b>	<b>0.001</b>
Edad	<b>0.03</b>	<b>0.87</b>
Etapa	<b>0.11</b>	<b>0.61</b>
Tipo Histológico	<b>0.04</b>	<b>0.85</b>

## DISCUSIÓN

Los resultados de este estudio indican que la presencia de Linfocitos T CD3+ mayor de 20 células mm<sup>2</sup> en el tejido tumoral de pacientes con diagnóstico de carcinoma epitelial de ovario tiene una relación importante y significativa (Tabla 1) con el pronóstico, de sobrevida y presencia de recidiva.

Los resultados de este trabajo son similares a los obtenidos por Zhang et al y Clark et al quienes encontraron que la infiltración con linfocitos T de los carcinomas ováricos en estadio avanzado estaba relacionada con la evolución clínica de las pacientes y la respuesta al tratamiento, lo que sugiere que existe una actividad citolítica antitumoral aumentada en estos casos.

Zhang et al reportaron que de acuerdo a estos hallazgos, el carcinoma de ovario corresponde al grupo de aquellos tumores en los que la interacción huésped-tumor está relacionada con la evolución clínica, tal como se ha observado en los carcinomas mamarios, de próstata, de células renales, de esófago y colorrectales.

Estos hallazgos revelan la necesidad de desarrollar la inmunoterapia basada en células T, la cual interviene directamente en el microambiente del tumor, como se ha demostrado en modelos animales al controlar el crecimiento tumoral.

Aunque la población estudiada fue pequeña, con los hallazgos de nuestro estudio podemos inferir que es importante incluir la determinación del número de linfocitos CD3 en el protocolo de estudio de pacientes con carcinoma primario de ovario, puesto que de esta puede depender la sobrevida y eventos de recaída.

## **CONCLUSIONES**

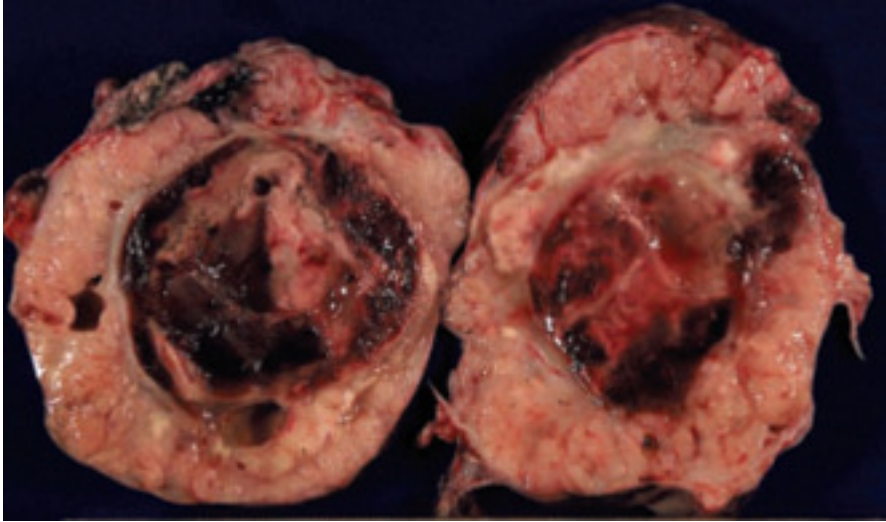
La infiltración intratumoral de linfocitos T CD3 en carcinoma primario de ovario mostró una correlación importante y significativa con la sobrevida a 20 meses (0.67  $p < 0.001$ ).

La infiltración intratumoral de linfocitos T CD3 en carcinoma primario de ovario mostró una correlación importante y significativa con la presencia de recaída (0.57  $p < 0.006$ ).

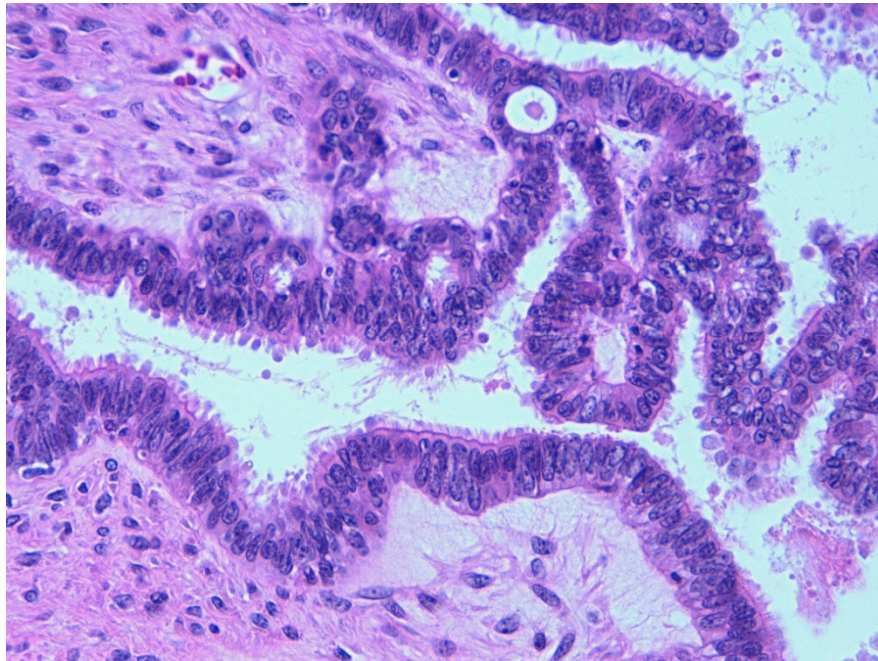
La presencia de Linfocitos T CD3+ en el tejido tumoral está relacionada con un mejor pronóstico y una mayor sobrevida en pacientes con diagnóstico de carcinoma epitelial de ovario, lo que sugiere que a nivel molecular hay activación de los mecanismos antitumorales.



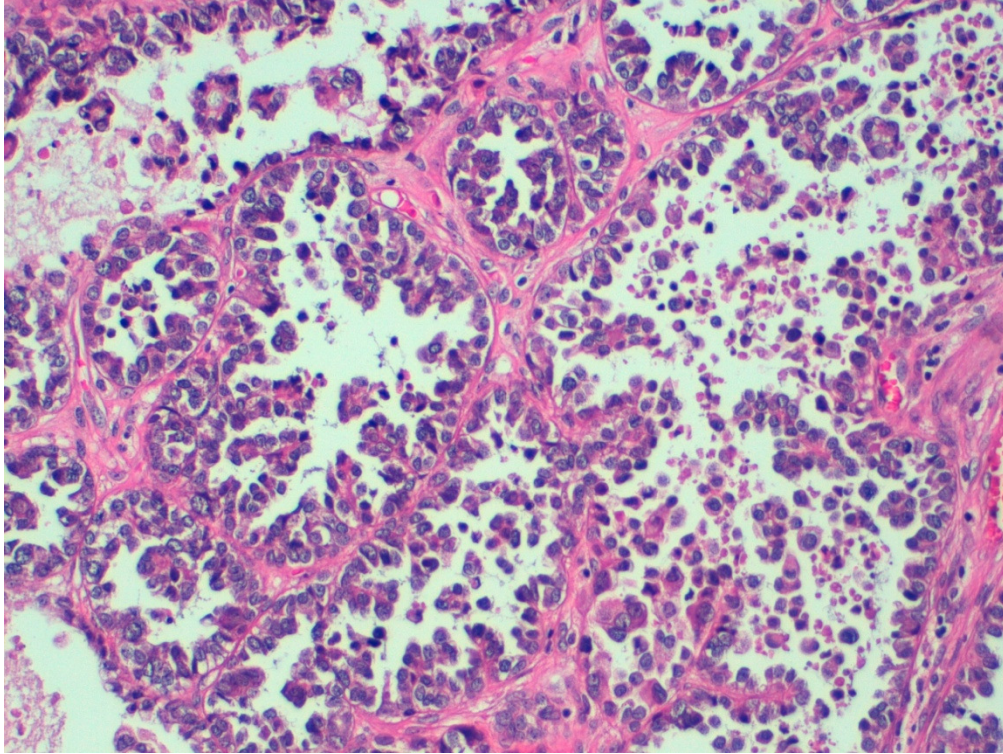
## APÉNDICE



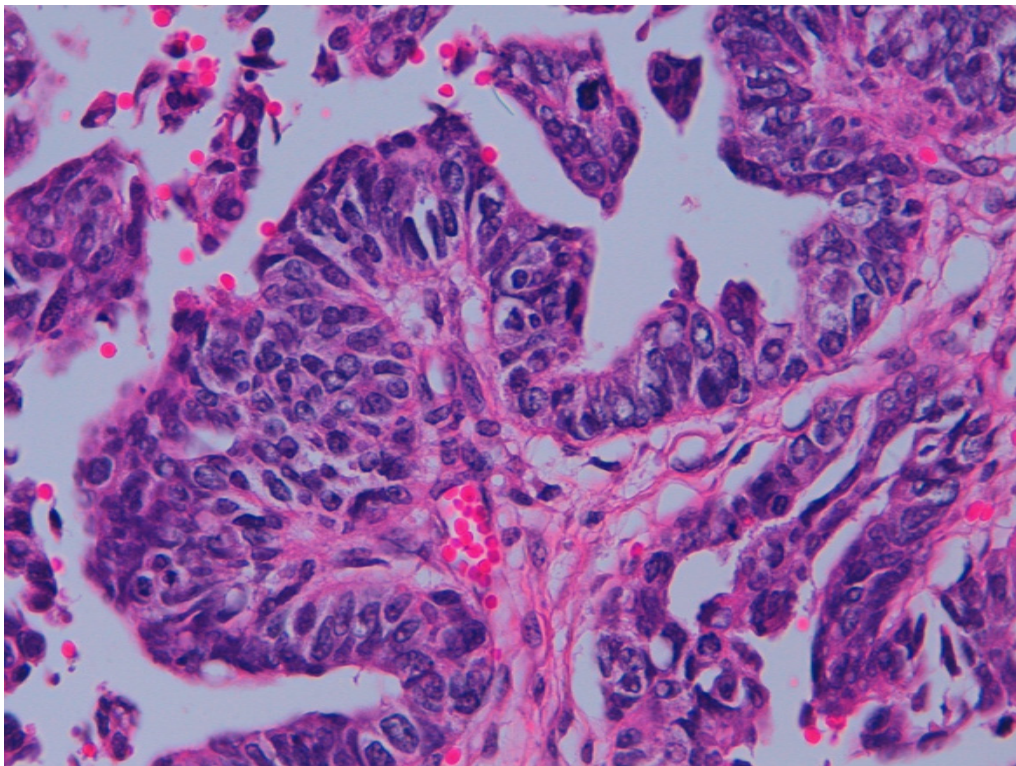
**Figura 1. Cistadenocarcinoma Papilar Seroso de Ovario**



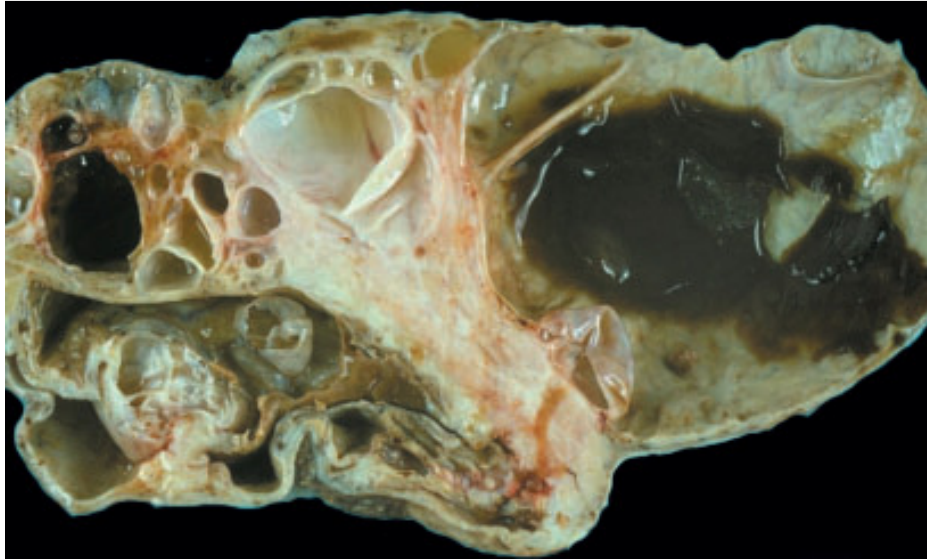
**Figura 2. Cistadenocarcinoma Papilar Seroso de Ovario**



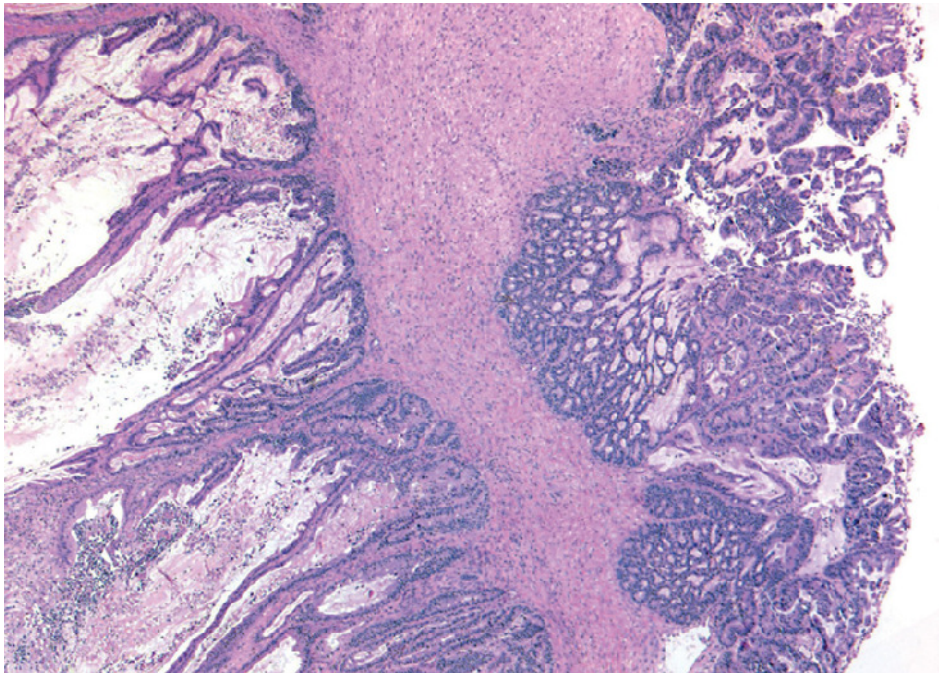
**Figura 3. Cistadenocarcinoma papilar seroso de ovario**



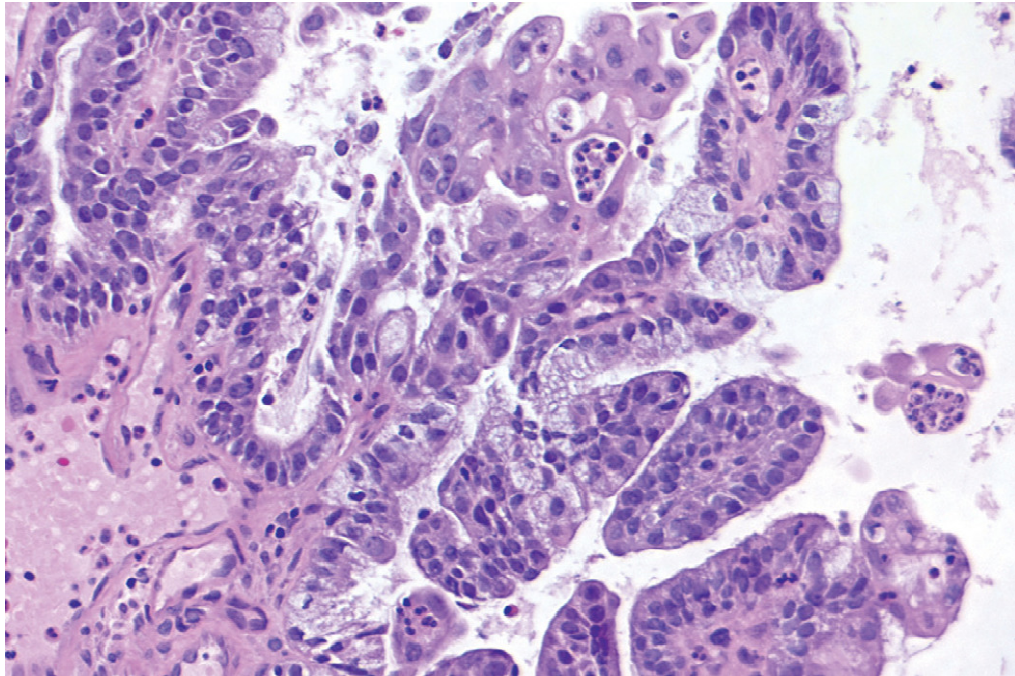
**Figura 4. Cistadenocarcinoma papilar seroso de ovario**



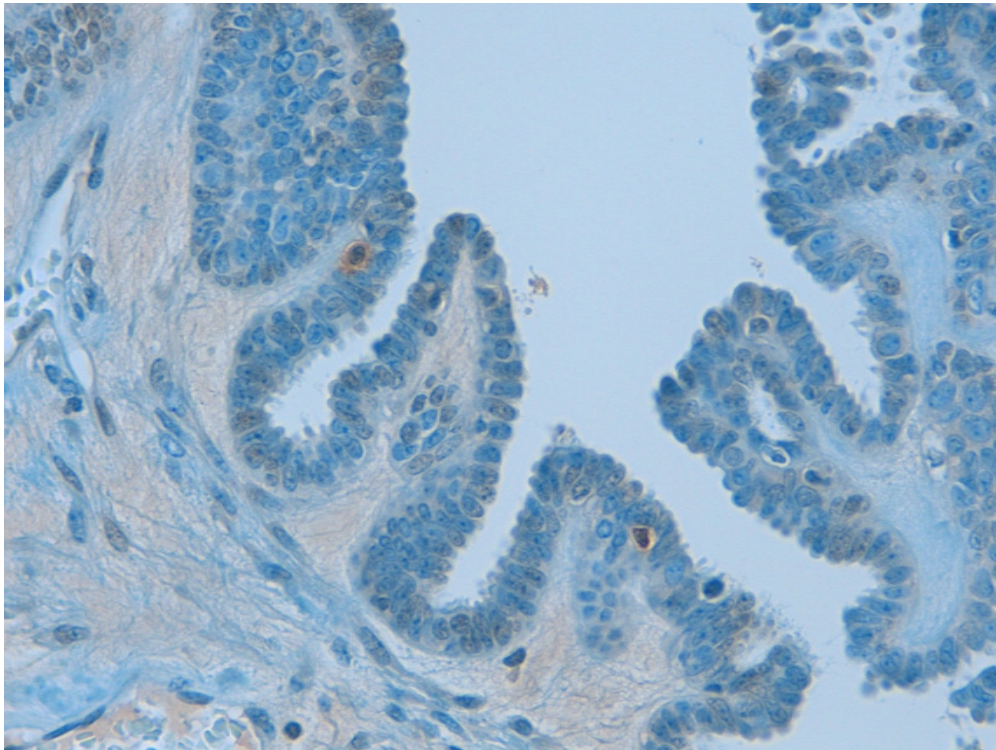
**Figura 5. Cistadenocarcinoma mucinoso de ovario**



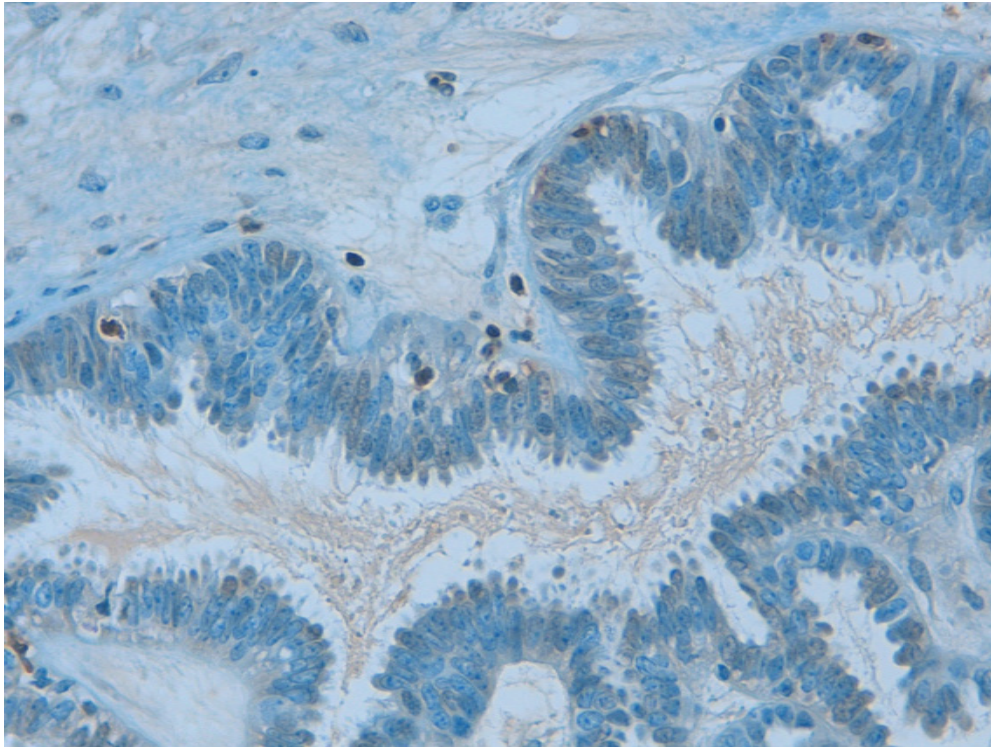
**Figura 6. Cistadenocarcinoma mucinoso de ovario**



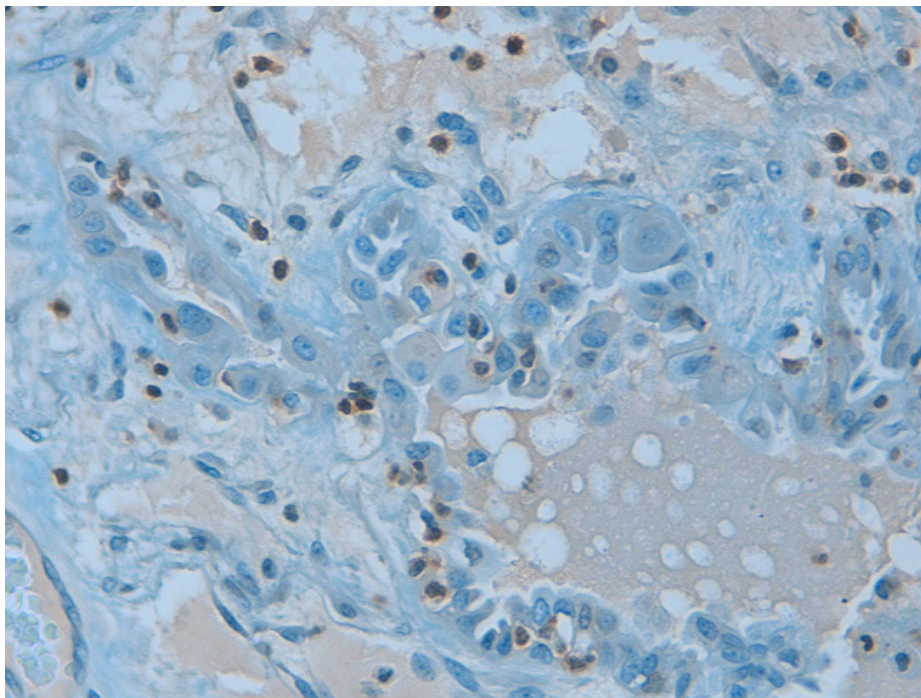
**Figura 7. Cistadenocarcinoma mucinoso de ovario**



**Figura 8. Carcinoma seroso papilar de ovario con inmunoreacción para CD3**



**Figura 9. Carcinoma seroso papilar de ovario con inmunoreacción para CD3**



**Figura 10. Carcinoma seroso papilar de ovario con inmunoreacción para CD3**

## BIBLIOGRAFÍA

1. Adams SF, Douglas AL, Cadungog MG, et al. Intraepithelial T cells and tumor proliferation. Impact on the benefit from surgical cytoreduction in advanced serous ovarian cancer. *Cancer* 2009; 2891-2902.
2. Clarke B, Tinker AV, Lee CH, et al. Intraepithelial T cells and prognosis in ovarian carcinoma: novel associations with stage, tumor type, and BRCA1 loss. *Modern Pathology* 2009; 22: 393-402.
3. Milne K, Barnes R O, Grardin A, et al. Tumor-infiltrating T cells correlated with NY-ESO-1-specific autoantibodies in ovarian cancer. *PLoS ONE* 2008; 3(10): e3409. Doi:10.1371/journal.pone.0003409
4. Milne K, Köbel M, Kalloger SE, et al. Systematic analysis of immune infiltrates in high-grade serous ovarian cancer reveals CD20, FoxP3 and TIA-1 as positive prognostic factors. *PLoS ONE* 2009; 4(7): e6412. Doi:10.1371/journal.pone.0006412
5. Han LY, Fletcher, MS, Urbauer DL, et al. HLA class I antigen processing machinery component expression and intratumoral T-cell infiltrate as independent prognostic markers in ovarian carcinoma. *Clinical Cancer Research* 2008; 14(11): 3372-3379.
6. Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Oisani P. Global cancer statistics 2002. *CA Cancer Journal Clinics* 2005; 55: 74-108.
7. Scarlett UK, Cubillos-Ruiz JR, Nesbeth YC, et al. In situ stimulation of CD40 and toll-like receptor 3 transforms ovarian cancer-infiltrating dendritic cells from immunosuppressive to immunostimulatory cells. *Cancer Research* 2009; 69(18): 7329-7337.
8. Zaloudek CF. Tumors of the female genital tract, Part A: ovary, fallopian tube, and broad and round ligaments. En Fletcher, C.D.M. 3<sup>rd</sup> ed. Diagnostic Histopathology of tumors. China: Churchill Livingstone Elsevier; 2007: 567-651.
9. Cubillos-Ruiz JR, Rutkowski M, Conejo-García JR. Blocking ovarian cancer progression by targeting tumor microenvironmental leukocytes. *Cell Cycle* 2010; 9(2): 260-268.
10. Jernal A, Siegel R, Ward E, et al. Cancer statistics, 2007. *CA Cancer J Clin* 2007; 57: 43-66.
11. Zhang L, Cornejo-García JR, Katsaros D, et al. Intratumoral T cells, recurrence, and survival in epithelial ovarian cancer. *New England Journal of Medicine* 2003; 348: 203-213.
12. Registro Histopatológico de Neoplasias Malignas. Dirección Nacional de Epidemiología, Secretaría de Salud, México; 2003.

13. Zhang Y, Tsai Y, Monie A, Wu TC, Hung C. Enhancing the therapeutic effect against ovarian cancer through a combination of viral oncolysis and antigen-specific immunotherapy. *Molecular Therapy* 2010; 18(4): 692-699.
14. Rosai J. Rosai and Ackerman's Surgical Pathology. 9<sup>th</sup> ed. China: Elsevier; 2004: 1649-1736.
15. Prat J. Ovarian serous and mucinous epithelial-stromal tumors pp 611-654. En Robboy SJ & Mutter GL. 2<sup>nd</sup> ed. Robboy's Pathology of the female reproductive tract. China: Churchill Livingstone Elsevier, 2009: 611-654.
16. Raspollini MR, Castiglione F, Rossi Degl'innocenti D, et al. Tumour-infiltrating gamma/delta T lymphocytes are correlated with a brief disease-free interval in advanced ovarian serous carcinoma. *Annals of Oncology* 2005; 16: 590-596.
17. Zhang L, Conejo-García JR, Katsaros D, et al. Intratumoral T cells, recurrence, and survival in epithelial ovarian cancer. *N Engl J Med* 2003; 348: 203-213.
18. Bookman MA. Standard treatment in advanced ovarian cancer in 2005: the state of the art. *Int J Gynecol Cancer* 2005; 15(3): 212-220.
19. Holschneider CH, Berek JS. Ovarian cancer: epidemiology, biology, and prognostic factors. *Seminars of Surgical Oncology* 2000; 19: 3-10.
20. Callahan MJ, Nagymanyoki Z, Bonome T, et al. Increased HLA-DMB expression in the tumor epithelium is associated with increased CTL infiltration and improved prognosis in advanced-stage serous ovarian cancer. *Clin Cancer Res* 2008; 14: 7667-7673.
21. Carlsten M, Norell H, Bryceson Y, et al. Primary human tumor cells expressing CD155 impair tumor targeting by down-regulation DNAM-1 on NK cells. *J Immunology* 2009; 183: 1421-1430.
22. Tomihara K, Guo M, Shin T, et al. Antigen-specific immunity and cross-priming by epithelial ovarian carcinoma-induced CD11b<sup>+</sup> Gr-1<sup>+</sup> cells. *Journal of Immunology* 2010; 184(11): 6151-6160.
23. Nesbeth YC, Martínez DG, Toraya S, et al. CD4<sup>+</sup> T cells elicit host immune responses to MHC class II ovarian cancer through CCL5 secretion and CD40-mediated licensing of dendritic cells. *Journal of Immunology* 2010; 184: 5654-5662.
24. Matsuzaki J, Gnjatic S, Mhawech-Fauceglia P, et al. Tumor-infiltrating NY-ESO-1-specific CD8<sup>+</sup> T cells are negatively regulated by LAG-3 and PD-1 in human ovarian cancer. *Immunology* 2010; 107(17): 7875-7880.
25. Tomsova M, Melichar B, Sedlakova I, Steiner I. Prognostic significance of CD3<sup>+</sup> tumor-infiltrating lymphocytes and a high CD8 T lymphocytes in ovarian carcinoma. *Gynecology Oncology* 2008; 108: 415-420.
26. Nelson BH. The impact of T-cell immunity in ovarian cancer outcomes. *Immunology Review* 2008; 222: 101-116.