

CANCER DE LA PROSTATA. ESTROGENOTERAPIA Y RESPUESTA INMUNOLOGICA

Dr. Muzio, A. - Dr. Solari, J. J. - Dr. Casal, J. M. - Dra. Prigoskin, N.

Conclusiones

- 1) En un estudio previo de quince pacientes con la técnica de cultivos de linfocitos más PHA se encontró un alto porcentaje (66 %) que tenía disminuida la respuesta a la PHA antes del tratamiento.
- 2) Con esa sola técnica, el tratamiento estrogénico no aparecía como inmunodepresor, ya que siete pacientes se mantuvieron en el mismo nivel de respuesta comparados con ocho que las modificaron en más o menos.
- 3) En el otro grupo de diez pacientes estudiados con prueba cutánea secundaria, test de rosetas, cultivo de linfocitos más fito-hemaglutininas, encontramos 80 % de inmunodeprimidos antes del tratamiento.
- 4) La diferencia entre los ID de la primera etapa (66 %) con los ID (inmunodeprimidos) de la segunda etapa (80 %) es porque el criterio que se aplica en el primer caso es sólo con respecto al cultivo más PHA; en cambio, en la segunda etapa, consideramos ID a pacientes que tienen disminuidas tres de las cuatro pruebas estudiadas.
- 5) Después del tratamiento, los inmunodeprimidos disminuyeron a 66 % y los normales pasaron de 20 a 33 %.
- 6) No hubo alteración en los tests cutáneos a bacterias y hongos ni al DNCB.
- 7) Tal como ocurre en algunos pacientes con cáncer tratados con BCG, 66 % de los pacientes con FB negativo se positivizaron después del tratamiento y al mismo tiempo aumentó la capacidad proliferativa de los linfocitos T en el cultivo más PHA, lo que indicaría reactivación inmunológica.
- 8) La naturaleza de los factores nucleantes antes y después del tratamiento parece ser distinta; en el primer caso aparecen vinculados a PCS, pudiendo tratarse de antígeno tumoral circulante o productos del tumor, y en el segundo caso al cultivo de linfocitos más PHA, o sea un aumento de la capacidad proliferativa de linfocitos T, es decir a reactividad inmunológica.
- 9) Finalmente, de nueve pacientes que recibieron tratamiento sólo dos empeoraron, uno se mantuvo igual y seis mejoraron. El décimo paciente falleció en forma súbita por causa interrecurrente.
- 10) No se puede afirmar, por lo tanto, que los estrógenos sean inmunodepresores, ya que en los dos pacientes que empeoraron se puede sospechar falta de respuesta al tratamiento.
- 11) No estamos en condiciones de afirmar que esta mejoría a la respuesta inmunológica se deba a una acción directa sobre el aparato inmunitario, o por vía indirecta al experimentar el paciente una mejoría clínica, alimentarse mejor y elevar su estado general al ser atacado eficazmente el tumor en forma local.
- 12) Creemos que los estudios inmunológicos son de gran utilidad para:
 - a) Medir la resistencia del huésped.
 - b) Controlar la respuesta a la inmunoterapia.
 - c) Controlar a los pacientes en supuesto estado de latencia tumoral (sin tratamiento estrogénico) y confirmar o descartar su paso a la evolutividad tumoral (en aquellos pacientes con tumor en estadio B).

Referencias

DNCB: Dinitroclorobenceno
PHA: Fitoheemaglutininas
FB: Factores Bloqueantes
PCS: Pruebas Cutáneas Secundarias
PCP: Pruebas Cutáneas Primarias
IC: Inmunidad Celular
ID: Inmunodeprimidos
TL: Test de Linfocitos

Hace varios años nos propusimos estudiar en el Hospital Español de Buenos Aires las modificaciones que la estrogénoterapia producía sobre algunos de sus órganos efectoros, en los pacientes con carcinoma de la próstata.

Así fue como en 1975⁽¹⁾ publicamos nuestra primera experiencia que consistió en la observación y descripción de los efectos que ésta producía a nivel histológico en la neoplasia prostática.

Decíamos entonces que los estrógenos actúan lesionando el epitelio prostático neoplásico modificando el tejido conjuntivo. Dentro de éste, las modificaciones se producen

en la sustancia amorfa fundamental. Recordaremos que en el cáncer no tratado, el estroma es más laxo que el normal, se colorea menos intensamente con el PAS y no se visualiza membrana basal subyacente al epitelio. En los enfermos tratados con estrógenos y que evidencian mejoría clínica se observa refuerzo del estroma, que se hace más denso, con mayor abundancia de fibras colágenas, coloreándose más intensamente con el PAS, lo cual indica un aumento de glucoproteínas y mucopolisacáridos neutros polimerizados. Aparecen después las membranas basales rodeando a los acúmulos de células tumorales.

En la interpretación de estos últimos hechos nace el estudio que, luego de algunos años, concluye hoy con esta comunicación.

Dado que las lesiones del epitelio se producen precozmente —comprobadas ya a los 10 días de iniciado el tratamiento— y las de la sustancia fundamental son más tardías —recién es dable observarlas a los 3 meses—, hemos creído que éstas constituirían una reacción fibrosa secundaria de la destrucción que sufre el epitelio por los estrógenos. Pero aquí nos encontramos con algo que aparentemente sería un error nuestro, tal vez una interpretación muy simplista.

Hospital Español de Buenos Aires. Servicio de Urología.
Jefe: Prof. Dr. Gabino González Martín.

En la bibliografía, por cierto muy escasa, encontramos observaciones de Nicol⁽²⁾ que datan de 1952, donde este investigador afirma que las modificaciones encontradas en la sustancia fundamental de la próstata son producidas por la movilización que los estrógenos producen de los macrófagos del sistema reticuloendotelial en el bazo, hígado y ganglios linfáticos, hacia los órganos sexuales secundarios donde producen su acumulación. La fibrosis que encontramos en la próstata se debería a la llegada de macrófagos al órgano, su transformación en fibroblastos y más tarde en tejido fibroso.

Basados en estos hallazgos de Nicol, comenzamos a vislumbrar la influencia que la estrogenoterapia podría tener sobre el aparato inmunitario.

En realidad nos hemos encontrado en aquel momento estimulados por la inquietud de conocer este aspecto del importante agente terapéutico que teníamos en nuestras manos desde 1943.⁽³⁾

Conocíamos el efecto depresor de la quimioterapia anti-neoplásica sobre el aparato inmunológico.

¿Estaríamos entonces frente a una terapia ideal para luchar contra el cáncer, que por un lado actuaría destruyendo el epitelio tumoral y, por el otro, aumentando la respuesta inmune?

Como apoyo a esta hipótesis, encontramos en la bibliografía que en 1971, Robinson⁽⁴⁾ en Londres, estudiando el estado inmunológico celular de los pacientes con cáncer de la próstata, cita a Magarey y Baum,⁽⁵⁾ quienes aseguran que los estrógenos pueden estimular la actividad fagocitaria del sistema reticuloendotelial en el hombre, y ratificaron este efecto estrogénico comprobando que los estrógenos suministrados simultáneamente con radioterapia, disminuyeron la depresión de la actividad fagocitaria que habitualmente produce ésta. También observaron que los estrógenos son menos tóxicos que otros estimulantes reticuloendoteliales sugeridos para la inmunoterapia en el cáncer, tales como la BCG y el *Corynebacterium Parvum*.

Por otro lado, Ablin, en 1974,⁽⁶⁾ estudió el efecto de los estrógenos sobre el cultivo de linfocitos *in vitro*, concluyendo que aquellos disminuían la transformación blástica de linfocitos.

Con todos estos antecedentes, a partir de 1977, comenzamos a estudiar el efecto de la estrogenoterapia en la inmunidad celular.

Material y método

Se estudiaron veinticinco pacientes con cáncer de la próstata clínicamente demostrados y confirmados por punción biopsia. Por lo tanto fueron descartados los cánceres ocultos; y dentro de los detectables clínicamente no hemos considerado a los confinados en la glándula, puesto que para ellos estamos reservando dos opciones: a) terapia radiante externa, y b) la abstención del tratamiento bajo estrictos controles. Se han descartado también los tumores diseminados a distancia; o sea que hemos tratado de limitar nuestro estudio a un grupo homogéneo de pacientes, de modo de obtener resultados comparables en base a un conjunto de características semejantes. Se trataba entonces de tumores con extensión local y/o regional sin demostración de diseminación a distancia. Todos ellos dentro de la clasificación TNM en T4. En cuanto al compromiso ganglionar, los llamamos Nx, puesto que se reunieron las condiciones básicas para su clasificación, dado que hemos dejado de hacer la linfografía por su poca confiabilidad y en nuestro servicio no se ha iniciado aún la búsqueda quirúrgica de los ganglios.

Finalmente M0, pues no tenían metástasis a distancia demostrables.

En una primera etapa estudiamos quince pacientes con la técnica de cultivos de linfocitos PHA y los resultados obtenidos nos indujeron a realizar un estudio más profundo de la inmunidad celular en otro grupo de diez pacientes vírgenes de todo tratamiento oncológico antes y después del tratamiento estrogénico.

Tratamiento estrogénico dietilestilbestrol, 25 mg diarios durante 3 meses.

Edad promedio de los pacientes: 69 años.

El estudio inmunológico consistió en la valorización de los siguientes parámetros:

CUADRO 1 Pruebas inmunológicas

Test cutáneos a bacterias y hongos

Test cutáneos al DNCB

Test de rosetas E para linfocitos T

Cultivo de linfocitos más PHA

Factores bloqueantes

A) *Pruebas cutáneas de hipersensibilidad tardía.* Se efectuaron pruebas cutáneas secundarias (PCS) mediante intradermorreacciones en el antebrazo 0,1 ml de: PPD 2 UI *Escherichia coli* (1/1.000) y *Tricophyton* (1/1.000). Con esta técnica se valora la inmunidad celular de memoria.

Se efectuó prueba cutánea al dinitroclorobenceno (DNCB); para ello se sensibilizaron los pacientes con 2.000 mg de DNCB disueltos en 0,05 ml de acetona aplicado sobre la piel del antebrazo; 20 días después se depositaron 100 mg del mismo modo y se observó la reacción a las 48 horas. Esta prueba mide la capacidad de responder a antígenos nuevos.

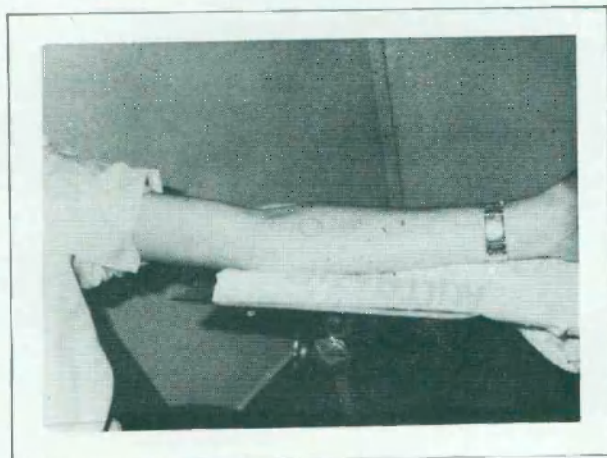


Figura 1



Figura 2

Todas estas pruebas se informaron negativas si el halo cutáneo fue menor de 5 mm de diámetro; positivos débiles con un halo entre 5 y 15 mm, y positivos con un halo mayor de 15 mm con pápula cutánea.

B) *Test de roseta E para cuantificación de linfocitos T*: se separan linfocitos en gradiente de Ficoll-Hypaque y se enfrentan con glóbulos rojos de carnero, según la técnica de Ross modificada. Se cuentan los linfocitos que forman rosetas con los glóbulos rojos de carnero en comparación con los que no lo hicieron y se establece el porcentaje. La lectura se realiza con el microscopio. Se consideraron normales valores de 50 a 70 %. Mide el número de linfocitos T circulantes.

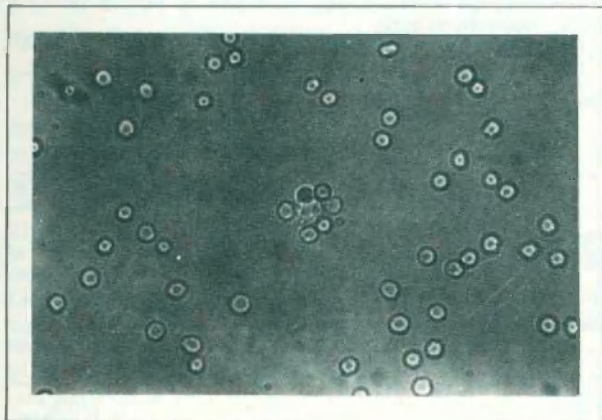


Figura 3

C) *Cultivos de linfocitos con PHA*: se cultivan linfocitos de pacientes con o sin PHA en medio de cultivo RPM 1640 más 20 % de suero bovino fetal. Se agrega timidina tritiada 24 horas antes de finalizar el cultivo. Se mide en contador de centelleo líquido. Se mide la capacidad de los linfocitos T para responder a un mitógeno, la PHA, proliferando a formas básicas. Valores normales: Índice entre 8,5-11,5.

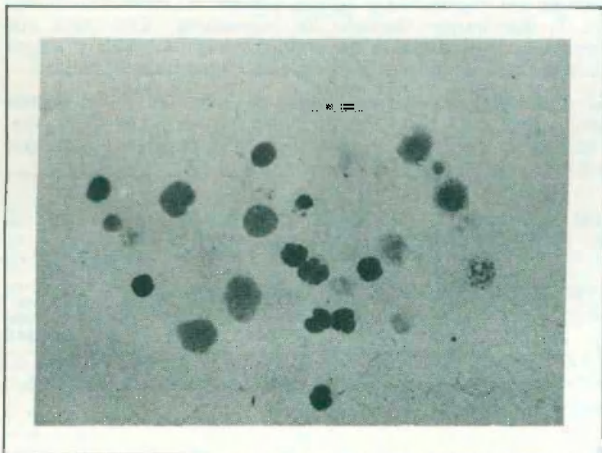


Figura 4

D) *Factores bloqueantes (FB)*: se cultivaron linfocitos normales con suero del paciente más PHA en triplicado en medio del cultivo RPM 1640.

Se determinó por comparación si la presencia del suero del paciente disminuía la estimulación del mitógeno en los cultivos realizados en las mismas condiciones con linfocitos normales, suero normal y PHA. Se cuantificó con timidina tritiada en contador de centelleo en medio líquido. Se informó el resultado como positivo o negativo, según se obtuviera o no disminución de por lo menos un 30 % de las cuentas por minuto del cultivo con suero normal. Pue-

den ser complejos antígeno-anticuerpo, antígeno tumoral circulante o sustancias inmunodepresoras producidas por el tumor.

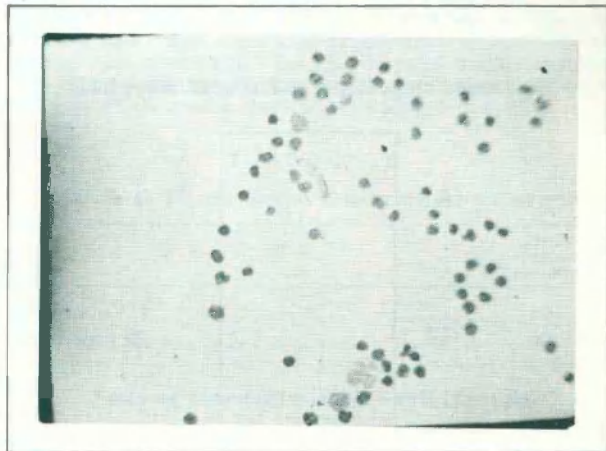


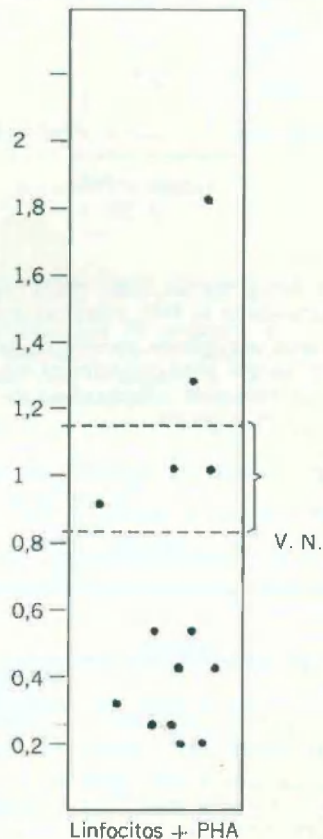
Figura 5

Primera etapa

Se estudiaron quince pacientes con la técnica de cultivo de linfocitos más PHA. La respuesta antes del tratamiento fue baja en diez pacientes, aumentada en dos y normal en tres.

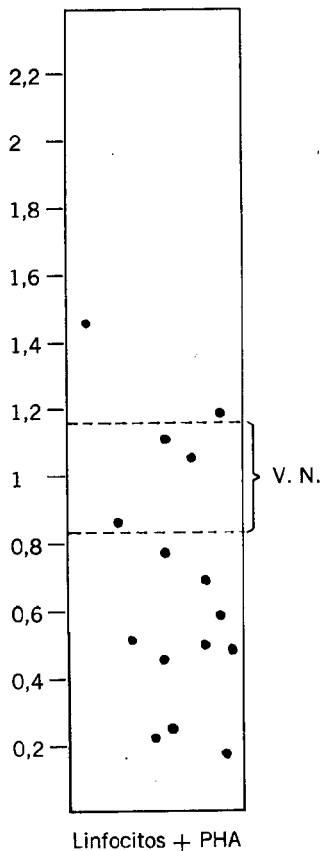
	Deprimidos	Estimulados	Normales
Antes	10 (66 %)	2 (13 %)	3 (20 %)

CUADRO 2
Resultados antes del tratamiento



Después del tratamiento la transformación blástica en presencia de PHA aumentó en cuatro, bajó para normalizarse en dos, se mantuvo igual en siete y disminuyó en dos.

CUADRO 3
Resultados después del tratamiento estrogénico



Se puede señalar:

- 1) El alto porcentaje de pacientes (66 %) que tenían disminuida la respuesta a la PHA antes del tratamiento.
- 2) El tratamiento estrogénico parecía no tener acción inmunodepresora, ya que siete pacientes se mantuvieron en el mismo nivel de respuesta comparado con ocho que las modificaron en más o menos.

Segunda etapa

Como consideramos que el estudio del test de transformación blástica era insuficiente para calificar inmunológicamente a un individuo, resolvimos estudiar otro grupo de diez pacientes, todos en estadio C con el conjunto de las pruebas antes mencionadas.

Resultados antes del tratamiento estrogénico

- 1) Los tests cutáneos a bacterias y hongos (PCS) dieron negativos sólo en 10 %, pero difíciles en 55 % y positivos en 35 %. En normales, 100 % deben ser positivos.
- 2) En el test del DNCB sólo 10 % son negativos, pero a diferencia de los normales hay 20 % de débiles y 70 % de positivos. En los normales, 96 % son positivos.

CUADRO 4
Resultados antes del tratamiento

Positivo	Positivo débil	Negativo
PCS 4 (35 %)	6 (55 %)	1 (10 %)
DNCB 7 (70 %)	2 (20 %)	1 (10 %)

PCS: pruebas cutáneas secundarias.
DNCB: dinitroclorobenceno.

- 3) El test de rosetas E que mide el número de linfocitos T y el cultivo de linfocitos con PHA sólo es normal en 17 y 20 %, respectivamente.
- 4) Los FB son positivos en 28 % de los pacientes.

CUADRO 5
Resultados antes del tratamiento

	Deprimidos (< 50 %)	Normales (50-70 %)
Rosetas E	83 %	17 %
Media: 39 %		
Linfocitos + PHA	80 %	20 %
Media: 6,3 %		

	Positivos	Negativos
F-B	3 (28 %)	8 (72 %)
Factores bloqueantes		

5) Interesó conocer la naturaleza de los FB, pues cuando se trata de complejos antígeno-anticuerpo, están relacionados a una disminución en el número (roseta E) y función (respuesta a la PHA) de los linfocitos T formando una familia de células que comprenden: linfocitos T reguladores y linfocitos T efectores o Killer. Los linfocitos T reguladores pueden ser represores o colaboradores. Cuando disminuyen los T, disminuyen también los represores. Esto hace que haya mayor producción de anticuerpos circulantes y mayor probabilidad para formar complejos antígeno-anticuerpo.

6) Relacionamos el valor medio de linfocitos T con la presencia o no de FB y no encontramos ninguna diferencia. Hicimos lo mismo con la respuesta a la PHA y tampoco encontramos ninguna diferencia.

CUADRO 6
Relación de FB con rosetas E antes del tratamiento

FB	Media del porcentaje de rosetas E
Positivos (3)	40 %
Negativos (8)	37 %

Factores bloqueantes y L + PHA antes del tratamiento

FB	Media del Índice de L + PHA
Positivos (3)	6,3
Negativos (8)	6,3

7) Relacionamos FB con PCS y encontramos que en los que tenían FB positivos los tests eran sólo débiles y en cambio en los que no los tenían eran 50 % positivos.

CUADRO 7

FB y PCS antes del tratamiento

FB	Positivo	Débil	Negativo
Positivo		3 (100 %)	
Negativo (8) ...	4 (50 %)	3 (37,5 %)	1 (12,5 %)

FB y DNCB antes del tratamiento

Positivo	2 (66 %)		1 (33 %)
Negativo	5 (71 %)	2 (29 %)	

Resumiendo

Antes del tratamiento:

- 1) En los pacientes estudiados, 80 % tenía un compromiso de la respuesta inmune celular.
- 2) No hay alteración significativa en la PCP (DNCB), lo que sugiere que estos pacientes conservan la capacidad de reaccionar frente a nuevos antígenos.
- 3) La presencia de FB no está vinculada a disminución de la IC, pero está relacionada con el grado de positividad de las PCS.

Esto sugiere que no se trata de complejos antígeno-anticuerpo, sino tal vez de sustancias circulantes que podrían ser productos del tumor o antígeno tumoral circulante.

- 4) Estos pacientes tenían una edad promedio de 69 años, una etapa de la vida en que el sistema inmune comienza a decaer.

Algunos autores sostienen que el estado de inmunodepresión en la edad avanzada puede ser una de las causas etiológicas del cáncer a esa edad.

Resultados después del tratamiento

- 1) Los tests cutáneos a bacterias y hongos (pruebas cutáneas secundarias) y al DNCB (pruebas cutáneas primarias) no variaron.

CUADRO 8

Resultados después del tratamiento

	Positivo	Positivo débil	Negativo
PCS 3 (33 %)	5 (55 %)		1 (12 %)
DNCB 7 (25 %)	2 (25 %)		

- 2) Aumentó el número de normales en relación al test de rosetas E y al cultivo de linfocitos con PHA (33 % en ambos casos).

- 3) Los FB resultaron positivos en 45 % de los casos, pero con la siguiente característica: tres pacientes con FB positivos se negativizaron después del tratamiento.

De seis pacientes con FB negativos, cuatro se hicieron positivos después del tratamiento y continuaron negativos.

CUADRO 9

Resultados después del tratamiento

	Deprimidos (< 50 %)	Normales (50-70 %)
Rosetas E	6 (66 %)	3 (33 %)
Media 41 %		
Linfocitos + PHA ...	6 (66 %)	3 (33 %)
Media 6,25 %		
	Positivo	Negativo
F-B	4 (45 %)	5 (55 %)
Factores bloqueantes		

- 4) Interesó entonces conocer la naturaleza de esos FB. Relacionamos el valor medio de rosetas con FB positivo y negativo y no se encontró diferencia. En cambio sí se encontró diferencia con respecto al cultivo con PHA. En los positivos la media fue 7,5 y en los negativos 5. Esto demuestra una mayor capacidad proliferativa en aquellos pacientes que posibilitaron los FB, después del tratamiento. Esto es algo que hemos visto también en algunos pacientes con cáncer de mama que fueron tratados con BCG.

CUADRO 10

Relación de FB con rosetas E después del tratamiento

FB	Media del porcentaje de rosetas E
Positivos (45)	39 %
Negativos (55)	38,2 %

Factores bloqueantes de L + PHA después del tratamiento

FB	Media del índice de L + PHA
Positivos (45 %)	7,5
Negativos (55 %)	5

- 5) No hubo relación entre FB y PCS y tampoco entre FB y DNCB.

CUADRO 11

FB y PCS después del tratamiento

FB	Positivo	Débil	Negativo
Positivos	1 (25 %)	2 (50 %)	1 (25 %)
Negativos	2 (40 %)	3 (60 %)	

FB y DNCB después del tratamiento

Positivos	3 (75 %)	1 (25 %)
Negativos	4 (80 %)	1 (20 %)

- 6) Por último interesó saber qué pasó con la IC después del tratamiento.

En cuatro pacientes con FB negativo antes y FB positivo después del tratamiento, uno disminuyó y tres mejoraron.

En dos pacientes con FB negativo antes y después del tratamiento, los dos mejoraron.

Los tres pacientes con FB positivo antes y FB negativo después, uno empeoró, uno se mantuvo igual y otro mejoró. En total, de nueve pacientes estudiados dos empeoraron, uno se mantuvo igual y seis mejoraron.

CUADRO 12

Inmunidad celular después del tratamiento

FB	Nº de pacientes	Inmunidad celular		
Negativos-Positivos	4	↓	↑↑↑	
Negativos-Negativos	2		↑↑	
Positivos-Negativos	3	↓	=	↑
TOTAL	9	2	1	6

Bibliografía

1. Muzio, A.; Solari, J. J., y Monserrat, J. M.: "Cáncer de la próstata: correlación clínica-histológica de la acción de la estrogénoterapia". Premio Luis Pagliere, año 1975. Rev. Arg. Urol., XLIV, 47, 1975.
2. Nicol, T.; Helmy, I. D., y Abou-Zikry, A.: "A histological explanation for beneficial action of endocrine therapy in carcinoma of the prostate". Brit. J. Surg., 40:166, 1952.
3. Huggins, C.: "The treatment of cancer of the prostate". Canad. M. A. J., 50:301, 1944.
4. Robinson.
5. Magarey y Baum.
6. Ablin, R. J.; Bruns, G. R.; Guinan, P., y col.: "The effect of estrogen on the incorporation of 3 H. thymidine by PHA. Stimulated human peripheral blood lymphocytes". J. Immunol., 113:705, 1974.