

## La proliferación celular (fase S) en carcinomas escamosos de pulmón. Aspectos clínico-biológicos

Sr. Director:

La proliferación celular constituye una interesante característica de los tumores malignos y puede determinar la aplicación de ciertas terapias. En los carcinomas no microcíticos de pulmón (CNMP) la proliferación se correlaciona inversamente con la diferenciación celular y la supervivencia, así como con ciertos genes que intervienen activamente en el ciclo celular. También algunos componentes de este último tienen interés clínico. Así, se ha visto que la expresión de la ciclina E, uno de los elementos reguladores del paso de la fase G1 a S, se asocia significativamente con una menor supervivencia de los pacientes afectados de CNMP<sup>1</sup> y que la ciclina A se correlaciona directamente con la fase de síntesis celular (fase S; FS) e inversamente con la diferenciación histológica, reflejando un peor comportamiento y evolución en todos los tipos histológicos de cáncer pulmonar<sup>2</sup>. El interés clínico de la proliferación celular, está sujeto a controversia, pues si bien algunos grupos no han demostrado su valor como factor indicador de una peor evolución<sup>3</sup>, otros lo han comprobado en el subtipo escamoso y preferentemente en estadios iniciales<sup>4</sup>.

El objetivo del presente estudio ha sido analizar, en pacientes afectados de carcinomas escamosos de pulmón, las posibles correlaciones entre la proliferación celular, medida a través de la FS, y diferentes parámetros clínico-biológicos (clásicos y nuevos), con la finalidad de comprobar si alguno de ellos complementaba lo descrito hasta ahora en la literatura.

El grupo estudio incluyó 61 muestras de carcinomas escamosos de pulmón correspondientes a sendos pacientes (50 varones) de edades comprendidas entre 42 y 64 años (mediana 61). La ploidía y la FS se midieron mediante citometría de flujo (MVF, MTGM) (Becton Dickinson, Fascam. USA) en muestras en fresco y teñidas con yoduro de propidio. Otros parámetros analizados fueron las concentraciones citosólicas de catepsina D, activador del plasminógeno tipo

tisular (t-AP), cyfra 21.1, enolasa específica neuronal (NSE) y ácido hialurónico (AH), así como las de AH, receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR), oncoproteína erbB2, CD44s, CD44v5 y CD44v6 en las membranas celulares. Todos los resultados fueron expresados por mg de proteína, dosificada por el método de Bradford. También tuvimos presente el estadio clínico y grado histológico. El tratamiento de las muestras, así como los diferentes métodos empleados para la dosificación de los parámetros biológicos se han expuesto en otro estudio<sup>5</sup>. El análisis estadístico fue realizado con el programa BMDP3 y, dado que los diferentes parámetros no siguieron una distribución normal, hemos empleado pruebas estadísticas no paramétricas, así como la del chi cuadrado para la comparación de proporciones. Los resultados han sido expresados mediante el intervalo y la mediana. Un valor de  $p < 0.05$  se consideró estadísticamente significativo.

En los carcinomas escamosos los valores de la FS oscilaron entre 1.2 y 51.8% (mediana 15.4%, percentil 25: 9.9 y percentil 75: 25.4%) y se correlacionaron significativamente ( $p < 0.05$ ) con los del índice de DNA ( $r: 0.368$ ). Cuando los tumores fueron clasificados en función de la FS, tomando como dintel de positividad la mediana de todo el grupo ( $>15.4\%$ ), pudimos observar, tal como se expone en la TABLA, que los casos FS+ mostraron mayores valores de IDNA ( $p: 0.037$ ), siendo, asimismo, más frecuentemente CD44v6 positivos ( $p: 0.024$ ) y estadio clínico III ( $p: 0.031$ ); también tuvieron tendencia a ser más frecuentemente aneuploides ( $p: 0.069$ ). Cuando consideramos como dinteles de positividad los valores de la FS correspondientes a los percentiles 25 y 75, pudimos ver que los carcinomas escamosos más proliferativos ( $>25.4\%$ ) cursaron con mayores valores de IDNA (i: 1.5-1.9 ; 1.7+/-0.1; mediana 1.76 vs i: 1.0-1.67; 1.22+/-0.29 ; mediana 1.1;  $p < 0.0001$ ) y fueron más frecuentemente y aneuploides (13/15 vs 9/15 ;  $p: 0.0007$ ) que los menos ( $<9.9\%$ ) proliferativos.

Nuestros resultados constatan la asociación entre una alta proliferación celular y la desdiferenciación celular reflejada por la aneuploidía y el IDNA, tal como ha sido descrito en la literatura. Este hecho adquirió mayor valor cuando se analizaron los grupos extremos en cuanto a fase S (percentiles 25 y 75), pues fueron las únicas diferencias observadas. Sabemos que, en los carcinomas no microcíticos de pulmón, la desdiferenciación celular es considerada como un indicador de peor comportamiento y evolución<sup>6</sup>, así como también en los estadios II y III de los carcinomas escamosos, mientras que en los otros subtipos histológicos su valor pronóstico es sustituido por la fase S<sup>7</sup>. Nosotros hemos observado también una relación entre los valores de la FS y el estadio clínico más avanzado (III) y sabemos que este último sigue siendo, a pesar de los numerosos parámetros biológicos analizados en los últimos años, el factor pronóstico más importante en la mayoría de los tumores, incluidos los no microcíticos pulmonares<sup>7-8</sup>. Todo lo anterior permite explicar el va-

lor práctico de la proliferación celular en la clínica diaria.

Otro hecho relevante fue la relación observada entre proliferación celular y la positividad para el CD44v6. Esta variante del CD44 está involucrada en la capacidad metastática de ciertos tumores, su expresión es mayor en los carcinomas escamoso que en los adenocarcinomas<sup>9</sup>, correlacionándose con la invasión linfática<sup>10</sup>, pero no con el grado histológico y estadio clínico<sup>11</sup>. En relación con su posible valor como factor pronóstico, existen discrepancias en la literatura, pues, si bien ciertos grupos no lo constatan<sup>11</sup>, otros señalan una relación directa<sup>10</sup>, incluso en el estadio I<sup>12</sup> o indirecta<sup>13</sup> con un peor comportamiento y evolución. La relación entre CD44v6 y la proliferación celular ha sido descrita con el PCNA<sup>11</sup> y nosotros también la hemos constatado con la fase S, lo cual permite sugerir el posible interés fisiopatológico de esta molécula de adhesión y su/sus ligandos,

Nuestros resultados sugieren que la proliferación celular, en los carcinomas escamosos de pulmón, tiene

TABLA

**Distribución de las concentraciones y porcentajes de positivities de los diferentes parametros clínico-biológicos estudiados en los carcinomas escamosos de pulmón clasificados en función de la positividad para la fase S (>15.4%)**

Parámetro	>15.4%		</=15.4%		p
	Intervalo	Mediana	Intervalo	Mediana	
CATD	7.7-173	38.6	11.2-567	47.8	ns
EGFR	3.1-325	48.5	1-394	31.7	ns
ErbB2	262-16072	1596	505-9505	2442	ns
AHc	817-13951	4781	1583-17576	4162	ns
AHm	50-7076	1036	50-7848	1186	ns
Cyfra 21.1	16.5-3817	207	24.4-2988	327	ns
NSE	58-618	290	4.5-731	259	ns
IDNA	1.0-1.9	1.64	1.0-2.5	1.53	0.037
Tamaño	2.0-12	4.5	2.0-9.0	4.0	ns
pS2>1		2/31		4/30	ns
estadio I		20/31		22/30	ns
estadio II		2/31		4/30	ns
estadio III		9/31		4/30	0.031
GH1		4/31		2/30	ns
GH3		14/31		11/30	ns
Aneuploides		26/31		19/30	0.069
CD44s>80		22/30		26/29	ns
CD44v5>3		26/31		27/30	ns
CD44v6>5		28/31		20/30	0.024

CATD: catepsina D (pmol/mg prot.); EGFR: receptor del factor de crecimiento epidérmico (fmol/mg prot.); ErbB2 oncoproteína: NHI/mg prot.; AHc: ácido hialurónico citosólico (ng/mg prot.); AHm: ácido hialurónico de membrana (ng/mg prot.); Cyfra 21.1 (ng/mg prot.); NSE: enolasa específica neuronal (ng/mg prot.); IDNA: índice de DNA; Tamaño: cm; pS2: ng/mg prot.; GH: gradop histológico; CD44s, CD44v5 and CD44v6: ng/mg prot. (dinteles de positividad); ns: no significativo.

poca repercusión sobre muchos parámetros clínico-biológicos, clásicos y modernos, estando asociada preferentemente y tal como han descrito otros grupos, a la desdiferenciación celular, estadio avanzado y la positividad para el CD44v6.

## Bibliografía

1. Mishina T, Dosaka-Akita H, Hommura F, Nishi M, Kojima T, Ogura S, et al. Cyclin E expression, a potential prognostic marker for non-small cell lung cancers. *Clin Cancer Res* 2000; 6:11-6.
2. Dobashi Y, Jiang SX, Shoji M, Morinaga S, Kameya T: Diversity in expression and prognostic significance of G1/S cyclins in human primary lung carcinomas. *J Pathol* 2003; 199:208-20.
3. Ikonen JT, Ojala A, Salenius JP, Mattila J, Riekkinen H, Wigren T: DNA flow cytometry in surgically treated lung cancer- prognostic significance. *Scand Cardiovasc J* 1999; 33:228-33.
4. Visakorpi T, Holli K, Hakana M: High cell proliferation activity determined by DNA flow cytometry and prognosis in epidermoid lung carcinoma. *Acta Oncol* 1995; 34:605-609.
5. Ruibal A, Arias JI, del Rio MC, Lapeña G, Schneider J, Tejerina A: Histological grade in breast cancer: association with clinical and biological features in a series of 229 patients. *Int J Biol Markers* 2001; 16:56-61.
6. Dyszkiewicz W, Kasprzyk M, Piwkowski C, Gasiorowski L: Prognostic significance of DNA ploidy in squamous cell lung carcinoma. Really worth it ?. *Ann Thorac Surg* 2000; 70:1629-33.
7. Pelletier MP, Edwardes MD, Michel RP, Halwani F, Morin JE: Prognostic markers in resectable non-small cell lung cancer: a multivariate analysis. *Can J Surg* 2001; 44:180-8.
8. Volm M, Kayser K, Mattern J: Demonstration of independent cellular prognostic factors in squamous cell carcinoma of the lung. *Strahlenther Onkol* 1989; 165:687-92.
9. Fasano M, Sabatini MT, Wiecezorek R, Sidhu G, Goswami S, Jagirdar J: CD44 and its spliced variant in lung tumors: a role in histogenesis ?. *Cancer* 1997; 80:34-41.
10. Miyoshi T, Kondo K, Hino N, Uyama T, Monden Y: The expression of CD44 variant exon 6 is associated with lymph node metastasis in non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res* 1997; 28:809-14.
11. Carbognani P, Spaggiari L, Romani A, Solli P, Corradi A, Cantoni AM, et al.: Expression of human CD44v6 in non-small cell lung cancer. *Eur Surg Res* 1998; 30:403-8.
12. Hirata T, Fukuse T, Naiki H, Hitomi S, Wada H: Expression of CD44 variant exon 6 in stage I non-small cell lung carcinoma as a prognostic factor. *Cancer Res* 1998; 58:1108-10.
13. Pirinen R, Hirvikoski P, Bohn J, Kellokoski J, Moisio K, Viren M, et al.: Reduced expression of CD44v3 variant isoform is associated with unfavorable outcome in non-small cell lung carcinoma. *Hum Pathol* 2000; 31:1088-95.

---

Correspondencia:  
 Dr. A. Ruibal Morell  
 Hospital Clínico  
 Servicio de Medicina Nuclear  
 Complejo Hospitalario Universitario  
 Bloque D  
 E-15706 Santiago de Compostela

**A. Sánchez Salmón, J. Rodríguez\*,  
 M.V. Folgueras\*\*, M.T. García Miralles\*\*, A. Ruibal**  
 Servicio de Medicina Nuclear  
 Hospital Clínico Universitario  
 Complejo Hospitalario Universitario  
 Santiago de Compostela  
 Servicios de Cirugía Torácica\*  
 Anatomía Patológica II\*\*  
 Hospital Central de Asturias  
 Oviedo