

M. Sánchez^a
G. Sáez^b
MC. Tormos^b
J.V. Torres^a

291

Metabolismo oxidativo en las neoplasias ováricas

^aSección de Ginecología Oncológica. Departamento de Pediatría, Obstetricia y Ginecología. Facultad de Medicina y Odontología de Valencia. Valencia. España. ^bSección de Toxicología Metabólica. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular. Facultad de Medicina y Odontología de Valencia. Valencia. España.

Correspondencia:

Dra. M. Sánchez Serrano.
Departamento de Pediatría, Obstetricia y Ginecología.
Facultad de Medicina y Odontología de Valencia.
Avda. Blasco Ibáñez, 17. 46010 Valencia. España.

Fecha de recepción: 7/2/02

Aceptado para su publicación: 5/9/02

Oxidative metabolism in ovarian neoplasms

M. Sánchez, G. Sáez, MC. Tormos y J.V. Torres. *Metabolismo oxidativo en las neoplasias ováricas.*

RESUMEN

Objetivo: Valorar el estatus oxidativo de las neoplasias ováricas mediante la determinación de las enzimas antioxidantes más importantes, los valores de glutatión reducido y oxidado, la formación de malondialdehído, como índice de peroxidación molecular, y el grado de oxidación del material genético mediante la cuantificación de la base mutagénica 8-oxo-deoxiguanosina.

Material y métodos: Estudio prospectivo de 52 casos de neoplasia ovárica: 43 casos de cáncer de ovario epitelial, de los que nueve habían recibido quimioterapia previa a la cirugía, y otros nueve con tumoraciones benignas.

Resultados: En el tejido tumoral, al compararlo con tejido sano de las mismas pacientes, se evidenció disminución de las enzimas antioxidantes catalasa y superóxido-dismutasa, así como un aumento del resto de los parámetros estudiados. La quimioterapia anuló las diferencias entre el ovario sano y el tumoral.

Conclusiones: El metabolismo oxidativo se encuentra alterado en el tejido tumoral ovárico si se compara con el tejido sano de las mismas pacientes. La quimioterapia ejerce efecto sobre dicho metabolismo.

PALABRAS CLAVE

Estrés oxidativo. Neoplasias ováricas.
Quimioterapia.

SUMMARY

Objective: To evaluate the oxidative status of ovarian tumors by determining the most important antioxidant enzymes, oxidized and reduced glutathione levels, the formation of malondialdehyde as an index of molecular peroxidation, and the degree of genetic oxidation by quantification of the mutagenic base 8-oxo-deoxiguanosine.

292 **Material and methods:** We performed a prospective study of 52 cases of ovarian tumors: 43 cases were epithelial ovarian carcinoma, 9 of which had been treated with chemotherapy prior to surgery, and 9 cases corresponded to benign tumors.

Results: Catalase and superoxide-dismutase were decreased, and the remaining parameters evaluated were increased in tumoral tissue compared with non-tumoral tissue from the same patients. Chemotherapy annulled differences between tumoral and non-tumoral ovarian tissue.

Conclusions: Oxidative metabolism is altered in tumoral ovarian tissue compared with non-tumoral tissue from the same patients. Chemotherapy has an effect on oxidative metabolism.

KEY WORDS

Oxidative stress. Ovarian neoplasms.
Chemotherapy.

INTRODUCCIÓN

El cáncer de ovario es la causa más frecuente de muerte por enfermedad ginecológica maligna, y ocupa el sexto lugar en frecuencia dentro de todas las neoplasias malignas a escala mundial¹. La dificultad para detectar esta enfermedad en estadios tempranos se ve condicionada porque el ovario es un órgano cuya hipofunción o disfunción unilateral suele suplirse por el ovario contralateral, por lo que pasa clínicamente inadvertida. Resulta excepcional que el subtipo histológico epitelial, en el que se centra el presente estudio, exprese hiperfunción; además, el ovario se halla situado intraperitonealmente, por lo que puede crecer «libremente», oculto dentro de la cavidad abdominopélvica, pudiendo aumentar de tamaño sin interferir inicialmente en los órganos vecinos y sin producir lo que podrían denominarse «síntomas de aviso». Por todo ello, la mayoría de las pacientes (entre el 60 y el 70%) continúan diagnosticándose con tumores avanzados. Así pues, el conocimiento de los acontecimientos que ocurren a escala molecular en el desarrollo de los tumores

ováricos sigue siendo importante en la investigación ginecológica².

La carcinogénesis y la progresión de la enfermedad ocurren como resultado de una serie de cambios genéticos que involucran tanto a oncogenes como a genes supresores de tumores y que conducen a una pérdida de control del crecimiento celular. Es posible que el mecanismo de iniciación y progresión en el desarrollo tumoral consista en la lesión producida o inducida por radicales oxigenados sobre el ADN^{3,4}; estos radicales son capaces de oxidar las bases nucleotídicas del ADN, produciendo errores en la replicación y/o transcripción, que constituyen un mecanismo evidente de mutaciones genéticas. Hasta la fecha, los estudios realizados acerca del papel de estas bases modificadas en el cáncer humano son escasos. Se sabe que la formación de la base modificada 8-oxo-2'-deoxiguanosina en el ADN es mutagénica y que suele ocurrir en condiciones basales o de normalidad⁵. La cuantificación de dicha base modificada por cromatografía líquida de alta resolución en el ADN de células cancerosas y de tejido sano ofrece un sistema experimental para el estudio de su repercusión en la génesis y desarrollo tumoral.

Las hipótesis aceptadas hasta ahora sobre las causas de cáncer de ovario han atribuido el riesgo a un exceso del número de ovulaciones a lo largo de la vida o a elevaciones en las hormonas esteroideas; durante estos procesos de ovulación se produce una reacción inflamatoria. Otros factores adicionales de riesgo, como la exposición a asbestos y talco, la endometriosis y la enfermedad pélvica inflamatoria no pueden ser directamente relacionados con la ovulación ni con las hormonas; sin embargo, causan inflamación pélvica local. Por otro lado, tanto la ligadura tubárica como la hysterectomía actúan como factores protectores, tal vez disminuyendo la posibilidad de exposición del epitelio ovárico a iniciadores ambientales de inflamación, que conlleva daño celular, estrés oxidativo y elevación de citocinas y prostaglandinas⁶. De todas estas hipótesis del daño celular determinante en la carcinogénesis, el menos estudiado es el estrés oxidativo, debido probablemente a la dificultad que supone la determinación de enzimas y metabolitos implicados en el mismo y a la dificultad de obtención de muestras suficientes de esta enfermedad.

El objetivo de este trabajo es valorar el estatus oxidativo (balance antioxidante/prooxidante) del

carcino ovárico mediante la determinación de las actividades de las enzimas antioxidantes más importantes (superóxido dismutasa [SOD], catalasa [CAT] y glutatión peroxidasa [GPx]); los valores de glutatión reducido (GSH) y oxidado (GSSG); la formación de malondialdehido (MDA) como índice de peroxidación molecular, y el grado de oxidación del material genético mediante la cuantificación de la base mutagénica 8-oxo-deoxiguanosina (8-oxo-dG); para, así, deducir el grado de alteración del metabolismo oxidativo en los cánceres de ovario, comparando dichas alteraciones con las que ocurren sincrónicamente en tejido sano, tanto ovárico como miometrial; cuantificar el efecto de la quimioterapia previa a la cirugía sobre este metabolismo oxidativo, y comparar las anteriores circunstancias con las que se dan en tumores benignos ováricos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Estudiamos, de modo prospectivo, 52 casos correspondientes a pacientes diagnosticadas de tumoción pélvica sospechosa de neoplasia ovárica, obteniendo muestras en el mismo momento de la laparotomía.

La media de edad de las pacientes fue de 65,44 años, con una mediana de 69 (límites: 23-93). Según el diagnóstico anatomico-patológico (AP) se distribuyó a las pacientes en dos grupos: un primero en que se incluyeron nueve tumores ováricos benignos que correspondían fundamentalmente a fibromas ováricos (seis fibromas, dos teratomas y un tumor mucinoso benigno), y un segundo en que se incluyeron las enfermedades malignas y en que todos los casos fueron subtipos de cáncer epitelial, con la siguiente distribución: un 60,5% seroso, un 14% endometriode, un 14% mucinoso y un 11,5% de células claras. Respecto a la estadificación tumoral posquirúrgica de los tumores malignos, los resultados fueron los siguientes: un 7% IA, un 2,3% IIB, un 9,3% IIC, un 2,3% IIIA, un 14% IIIB, un 46,5% IIIC y un 18% IV. De las 43 pacientes con diagnóstico AP de cáncer de ovario epitelial (COE), nueve habían recibido quimioterapia (QT) antes de la cirugía. Ninguna de las pacientes con enfermedad benigna había sido tratada previamente con QT. Por otro lado, ninguna de las pacientes incluidas en el estudio pertenece a la categoría diagnóstica de cáncer de ovario familiar.

Las muestras se extrajeron inmediatamente tras la exéresis de la pieza quirúrgica en un área adyacente al quirófano. Para el estudio se seccionó el tumor ovárico por la zona de mayor consistencia y menor necrosis tumoral, extrayendo una muestra y conservando el resto de tumor para su posterior examen anatomico-patológico. La muestra de tejido no tumoral se obtiene del miometrio y, en caso de identificar tejido macroscópicamente normal en el ovario contralateral, se obtiene un fragmento del mismo; posteriormente, se obtiene confirmación histopatológica de dicha estructura. Las muestras se introducen en tubos estériles tipo Nunc y se almacenan en un congelador a -70 °C hasta el momento de su procesamiento.

Para la determinación de MDA, cuantificación de proteínas, determinación de GSH, GSSG, SOD, CAT y glutatión peroxidasa, las muestras se procesan según los procedimientos de Clairbone et al^{7,8}, y el procesamiento de las muestras para la determinación de 8-oxo-dG se hace de la misma manera, previa extracción de ADN⁹⁻¹².

La cuantificación de proteínas es un paso previo necesario para poder expresar los resultados de forma cuantitativa y se lleva a cabo siguiendo la técnica de Markwell et al¹³. La CAT se determinó mediante espectrofotometría siguiendo el método de Clairbone⁸ y se expresa en U/g de proteína. Para la cuantificación de SOD se siguió el método de Fridovich¹⁴; una unidad de esta enzima se define como la concentración de proteína capaz de disminuir en un 50% la velocidad de reducción del citocromo C oxidado¹⁵. Para la determinación de glutatión peroxidasa se siguió el método de Gunzler y Flohé⁷ y se mide también espectrofotométricamente; la cantidad de glutatión peroxidasa en la muestra se expresa en U/g de proteína. El glutatión reducido se cuantificó según el método de la glutatión-S-transferasa (GS-T) descrito por Brigelius en 1983¹⁶ y se determinó espectrofotométricamente (se expresa en µmol/g de proteína). Para la determinación de glutatión oxidado se utiliza el método de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), descrito por Asensi en 1994¹⁷. El análisis de 8-oxo-dG en el ADN también se lleva a cabo mediante la HPLC, previa digestión del ADN. El estudio de la peroxidación lipídica se efectuó mediante la determinación de uno de sus intermediarios, el MDA, por HPLC¹⁸.

Los resultados de este trabajo se expresan mediante estadísticos descriptivos: número de observa-

294 ciones, valores mínimo y máximo, valor medio y desviación típica. El análisis estadístico de los resultados obtenidos se ha llevado a cabo mediante pruebas no paramétricas, la U de Mann-Whitney para la comparación de muestras independientes y la Z de Wilcoxon para muestras relacionadas, mediante la utilización del programa estadístico SPSS, considerando como significativos valores de $p < 0,05$, calculados mediante significación asintótica.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados de las determinaciones se exponen en las tablas 1-5. Teniendo en cuenta que no existen diferencias estadísticamente significativas entre el tejido ovárico sano y el miometrial, en ninguno de los tres grupos creados para comparar los resultados de las determinaciones ni en ninguna de las determinaciones (tablas 3-5) se puede considerar

Tabla 1 Enzimas implicadas en el estrés oxidativo

		Tumor	Ovario sano	Miometrio
CAT	COE	74,45 ± 39,35 (43)	99,30 ± 10,33 (12)*	105,08 ± 27,73 (40)***
	COE QT	73,76 ± 39,86 (9)	86,93 ± 5,56 (2)	112,92 ± 46,57 (9)
	TB	61,57 ± 23,48 (8)	89,71 ± 2,06 (3)	95,45 ± 39,90 (9)*
SOD	COE	9,37 ± 3,86 (43)	20,08 ± 5,75 (12)**	22,42 ± 8,96 (42)***
	COE QT	9,77 ± 5,14 (9)	23,50 ± 9,19 (2)	16,72 ± 6,50 (9)**
	TB	8,56 ± 3,92 (9)	16,09 ± 0,18 (3)	21,22 ± 11,62 (9)*
GPx	COE	53,20 ± 21,77 (43)	29,05 ± 3,35 (12)**	24,20 ± 9,23 (42)***
	COE QT	31,76 ± 21,97 (9)	31,76 ± 1,90 (2)	20,02 ± 10,53 (9)**
	TB	43,15 ± 19,91 (9)	33,68 ± 0,37 (3)	23,87 ± 3,70 (9)*

CAT: catalasa (U/g proteína); SOD: superóxido-dismutasa (U/mg proteína); GPx: glutatión peroxidasa (U/g proteína); COE: cáncer de ovario epitelial; COE QT: cáncer de ovario epitelial con quimioterapia previa; TB: tumores benignos.

Todos los valores se presentan como media ± DE, con el n.º de muestras entre paréntesis.

Comparando valores de tumor con ovario sano y miometrio: ***p < 0,001; **p < 0,01; *p < 0,05.

No hay diferencias estadísticamente significativas entre los dos tejidos no tumorales.

Tabla 2 Marcadores de estrés oxidativo

		Tumor	Ovario sano	Miometrio
GSH	COE	67,34 ± 16,96 (42)	27,62 ± 7,09 (12)**	45,34 ± 21,42 (42)***
	COE QT	69,41 ± 15,03 (9)	32,69 ± 2,62 (2)	52,34 ± 27,41 (9)
	TB	70,00 ± 16,12 (9)	31,22 ± 2,06 (3)	43,53 ± 23,48 (9)*
GSSG	COE	0,80 ± 0,25 (42)	0,55 ± 0,14 (12)**	0,44 ± 0,19 (42)***
	COE QT	0,66 ± 0,18 (9)	0,63 ± 0,18 (2)	0,36 ± 0,22 (9)**
	TB	0,80 ± 0,30 (9)	0,64 ± 0,31 (3)	0,53 ± 0,22 (9)
8-oxo-dG	COE	10,87 ± 4,53 (43)	5,34 ± 1,36 (12)*	4,52 ± 0,82 (43)***
	COE QT	9,19 ± 3,89 (9)	7,33 ± 2,81 (2)	4,60 ± 1,23 (9)**
	TB	11,56 ± 4,36 (9)	4,72 ± 0,34 (3)	4,30 ± 0,81 (9)**
MDA	COE	0,94 ± 0,33 (43)	0,62 ± 0,18 (12)	0,47 ± 0,20 (42)***
	COE QT	1,09 ± 0,39 (9)	0,41 ± 0,14 (2)	0,47 ± 0,17 (9)**
	TB	0,95 ± 0,44 (9)	0,45 ± 0,19 (3)	0,41 ± 0,16 (9)**

GSH: glutatión reducido (nmol/mg proteína); GSSG: glutatión oxidado (nmol/mg proteína); 8-oxo-dG: 8-oxo-deoxiguanosina (8-oxo-deoxiguanosina/ 10^5 deoxiguanosina); MDA: malondialdehido (nmol/mg proteína); COE: cáncer de ovario epitelial; COE QT: cáncer de ovario epitelial con quimioterapia previa; TB: tumores benignos.

Todos los valores se presentan como media ± DE, con el n.º de muestras entre paréntesis.

Comparando valores de tumor con ovario sano y miometrio: ***p < 0,001; **p < 0,01; *p < 0,05.

No hay diferencias estadísticamente significativas entre los dos tejidos no tumorales.

Tabla 3 Estadísticas de contraste COE sin QT previa^c

	Z	Significación asintomática (bilateral)
Catalasa-O - Catalasa-T	-2,497 ^a	0,013
Catalasa-M - Catalasa-T	-3,260 ^a	0,001
Catalasa-O - Catalasa-M	-1,362 ^a	0,173
SOD-O - SOD-T	-2,803 ^a	0,005
SOD-M - SOD-T	-4,923 ^a	0,000
SOD-O - SOD-M	-1,244 ^a	0,214
SODMn-O - SODMn-T	-2,803 ^a	0,005
SODMn-M - SODMn-T	-3,087 ^a	0,002
SODMn-O - SODMn-M	-1,260 ^a	0,208
GPX-O - GPX-T	-2,701 ^b	0,007
GPX-M - GPX-T	-4,726 ^b	0,000
GPX-O - GPX-M	-1,599 ^a	0,110
GSH-O - GSH-T	-2,701 ^b	0,007
GSH-M - GSH-T	-3,871 ^b	0,000
GSH-O - GSH-M	-1,481 ^b	0,139
GSSG-O - GSSG-T	-2,601 ^b	0,009
GSSG-M - GSSG-T	-4,430 ^b	0,000
GSSG-O - GSSG-M	-1,188 ^a	0,235
Relación-O - Relación-Tt	-1,988 ^a	0,047
Relación-M - Relación-Tt	-0,729 ^b	0,466
Relación-O - Relación-M	-2,666 ^a	0,008
8-OH-dG-O - 8-OH-dG-T	-2,803 ^b	0,005
8-OH-dG-M - 8-OH-dG-T	-5,086 ^b	0,000
8-OH-dG-O - 8-OH-dG-M	-0,968 ^a	0,333
MDA-O - MDA-T	-0,459 ^b	0,646
MDA-M - MDA-T	-4,548 ^b	0,000
MDA-O - MDA-M	-1,601 ^a	0,109

^aBasado en los rangos negativos; ^bbasado en los rangos positivos; ^cprueba de los rangos con signo de Wilcoxon. COE: cáncer de ovario epitelial; QT: quimioterapia.

rar que ambos tejidos tienen características oxidativas similares para ser comparados con el tejido tumoral.

La actividad de la CAT y la SOD están disminuidas en el tumor, al compararlas con el tejido sano, tanto en tumoraciones benignas como en el COE, ya sea con QT previa o sin ella. Así pues, y teniendo en cuenta que tanto la CAT como la SOD suponen mecanismos de defensa celular antioxidante, el tejido tumoral ovárico se encontraría menos protegido ante el estrés oxidativo que el tejido ovárico sano y el miometrio de los mismos casos, en la población estudiada y para estas enzimas.

Los valores de glutatión peroxidasa, GSSG y GSH, 8-oxo-dG y MDA están elevados en el tumor, al compararlos con los del tejido sano, en los tres grupos creados. La GPx complementa la actividad de la

Tabla 4 Estadísticas de contraste COE con QT previa^c

	Z	Significación asintomática (bilateral)
Catalasa-O - Catalasa-T	-1,342 ^a	0,180
Catalasa-M - Catalasa-T	-1,599 ^a	0,110
Catalasa-O - Catalasa-M	-1,342 ^b	0,180
SOD-O - SOD-T	-1,342 ^a	0,180
SOD-M - SOD-T	-2,666 ^a	0,008
SOD-O - SOD-M	-0,447 ^a	0,655
SODMn-O - SODMn-T	-0,447 ^a	0,655
SODMn-M - SODMn-T	-2,240 ^a	0,025
SODMn-O - SODMn-M	-0,447 ^a	0,655
GPX-O - GPX-T	-1,342 ^b	0,180
GPX-M - GPX-T	-2,666 ^b	0,008
GPX-O - GPX-M	-1,342 ^a	0,180
GSH-O - GSH-T	-1,342 ^b	0,180
GSH-M - GSH-T	-1,481 ^b	0,139
GSH-O - GSH-M	-0,447 ^b	0,655
GSSG-O - GSSG-T	-1,342 ^b	0,180
GSSG-M - GSSG-T	-2,668 ^b	0,008
GSSG-O - GSSG-M	-1,342 ^a	0,180
Relación-O - Relación-Tt	-1,342 ^a	0,180
Relación-M - Relación-Tt	-1,125 ^b	0,260
Relación-O - Relación-M	-1,342 ^a	0,180
8-OH-dG-O - 8-OH-dG-T	-1,342 ^b	0,180
8-OH-dG-M - 8-OH-dG-T	-2,666 ^b	0,008
8-OH-dG-O - 8-OH-dG-M	-1,342 ^a	0,180
MDA-O - MDA-T	-1,342 ^b	0,180
MDA-M - MDA-T	-2,547 ^b	0,011
MDA-O - MDA-M	-0,447 ^a	0,655

^aBasado en los rangos negativos; ^bbasado en los rangos positivos; ^cprueba de los rangos con signo de Wilcoxon. COE: cáncer de ovario epitelial; QT: quimioterapia.

CAT como sistema reductor del peróxido de hidrógeno, pero tiene otras funciones antioxidantes que superan las de esta enzima. Al encontrarse más elevada en el tumor que en el tejido sano, se podría inferir que en este se lleva a cabo una actividad antioxidante a cargo de la GPx mayor que en aquel. Sin embargo, esta actividad no es suficiente para reducir el estrés, ya que las moléculas se siguen peroxidando; muestra de ello es la disminución de la CAT y la SOD. El GSH es uno de los sistemas antioxidantes más eficaces de la célula, y existe un equilibrio entre este y el GSSG, ya que el primero se oxida para formar el segundo, y este a su vez se puede regenerar el primero, gracias a la acción de la glutatión reductasa. La elevación en el tejido tumoral de ambos sugiere una mayor actividad antioxidante en este tejido que en el sano. La 8-oxo-dG es

Tabla 5 Estadísticas de contraste en tumores benignos^d

	Z	Significación asintomática (bilateral)
Catalasa-O - Catalasa-T	-0,447 ^a	0,655
Catalasa-M - Catalasa-T	-2,100 ^a	0,036
Catalasa-O - Catalasa-M	-1,604 ^a	0,109
SOD-O - SOD-T	-1,069 ^a	0,285
SOD-M - SOD-T	-2,310 ^a	0,020
SOD-O - SOD-M	-1,604 ^a	0,109
SODMn-O - SODMn-T	-1,342 ^a	0,180
SODMn-M - SODMn-T	-0,507 ^a	0,612
SODMn-O - SODMn-M	-1,342 ^a	0,180
GPX-O - GPX-T	-0,535 ^b	0,593
GPX-M - GPX-T	-2,310 ^b	0,021
GPX-O - GPX-M	-1,604 ^a	0,109
GSH-O - GSH-T	-1,604 ^b	0,109
GSH-M - GSH-T	-2,310 ^b	0,021
GSH-O - GSH-M	-0,000 ^c	1,000
GSSG-O - GSSG-T	-0,535 ^b	0,593
GSSG-M - GSSG-T	-1,779 ^b	0,075
GSSG-O - GSSG-M	-0,000 ^c	1,000
Relación-O - Relación-Tt	-1,604 ^a	0,109
Relación-M - Relación-Tt	-0,178 ^a	0,859
Relación-O - Relación-M	-0,535 ^b	0,593
8-OH-dG-O - 8-OH-dG-T	-1,604 ^b	0,109
8-OH-dG-M - 8-OH-dG-T	-2,666 ^b	0,008
8-OH-dG-O - 8-OH-dG-M	-1,604 ^a	0,109
MDA-O - MDA-T	-1,069 ^b	0,285
MDA-M - MDA-T	-2,666 ^b	0,008
MDA-O - MDA-M	-0,535 ^b	0,593

^aBasado en los rangos negativos; ^bbasado en los rangos positivos; ^cla suma de rangos negativos es igual a la suma de rangos positivos; ^dprueba de los rangos con signo de Wilcoxon.

una expresión de ADN dañado por un mecanismo oxidativo¹⁹; así, sus valores, más elevados en el tumor que en el tejido sano, expresan una mayor modificación oxidativa del ADN, en el tejido tumoral que en los tejidos sanos. El MDA es uno de los productos resultantes de la peroxidación lipídica; por tanto, valores del mismo más elevados en el tejido tumoral que en el sano significan mayor peroxidación lipídica en el tumor. Sin embargo, dadas las características de esta molécula, no pueden descartar-

se otras moléculas afectadas que interfieran en los resultados¹⁸.

El estudio del estrés oxidativo en el carcinoma colorrectal²⁰, comparando tumor con mucosa sana, revela un aumento de GPx, GSH, 8-oxo-dG y MDA en el tumor al comparar con la mucosa sana. La SOD y la actividad CAT se encuentran, sin embargo, más elevadas en la mucosa sana que en el tumor. Estos resultados son ampliamente coincidentes con los obtenidos en el presente estudio, así como en estudios más recientes en leucemias²¹, y parece ser una norma general en los distintos procesos neoplásicos²²⁻³⁹.

Llama la atención la gran similitud de los resultados, en la comparación de tejidos, entre los tumores benignos y los malignos tratados con quimioterapia previa a la cirugía. En ambos grupos, las diferencias estadísticamente significativas que existen se dan entre tumor y miometrio, y en ambos grupos no existe ninguna diferencia estadísticamente significativa entre ovario sano y tumoral, ni entre miometrio y ovario sano. Por el contrario, en los casos de COE sin quimioterapia previa, existen diferencias estadísticamente significativas en todas las determinaciones (excepto MDA) al comparar los resultados entre el tejido tumoral y cada uno de los dos tejidos sanos. Estos hallazgos sugieren un efecto «benignizante» de la QT sobre los tejidos estudiados, en lo que a estrés oxidativo se refiere o, al menos, una «homogenización oxidativa» del tejido ovárico por efecto de la misma.

En la concepción de presente trabajo, el objetivo primario era valorar el estrés oxidativo en el cáncer epitelial de ovario, haciendo especial hincapié en las posibles diferencias entre tejido tumoral y sano. Debido a la posterior disponibilidad de tumores benignos (fibromas en su mayoría), ha sido posible hacer una aproximación al estudio de los mismos y a su comparación con los tumores malignos. Asimismo, disponiendo de un número reducido, aunque suficiente, de casos de tumores previamente sometidos a quimioterapia, ha sido también posible valorar el efecto de la QT sobre los tejidos. Estas circunstancias pueden suponer un punto de partida para futuras investigaciones.

BIBLIOGRAFÍA

1. Boyle P, Leake RE. Epidemiology of ovarian cancer. En: Sharp F, Blacket T, Leake R, Berek J, editors. *Ovarian cancer*. London: Chapman & Hall, 1996.
2. Shih Y, Kerr J, Hurst TG, Khoo S, Ward BG, Chenevix-Trench G. No evidence for microsatellite instability from allelotype analysis of benign and low malignant potential ovarian neoplasms. *Gynecol Oncol* 1998;69:210-3.
3. Guyton KZ, Kensler TW. Oxidative mechanisms in carcinogenesis. *Br Med Bull* 1993;43:523-43.
4. Cerutti PA. Prooxidant states and tumor promotion. *Science* 1985;233:375-80.
5. Floyd RA. The role of 8-hydroxyguanine in carcinogenesis. *Carcinogenesis* 1990;11:1447-50.
6. Ness RB, Cottreau C. Possible role of ovarian epithelial inflammation in ovarian cancer. *J Natl Cancer Inst* 1999;91:1459-67.
7. Gunzler WA, Flohé L, Clairbone A. En: Green-Wald RA, editor. *Handbook of method for oxygen radical research*. Boca Raton: CRC Press Inc., 1986; p 285.
8. Clairbone A. (1986) En: Green-Wald RA, editor. *Handbook of method for oxygen radical research*. Boca Raton: CRC Press Inc., 1986; p 283.
9. Gupta RC. No-random binding of the carcinogen end-hydroxy-2-acetylaminofluorene to repetitive sequences of rat liver DNA in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA* 1984;81:6943-7.
10. Muñiz P, Valls V, Pérez-Broseta C, Iradi A, Climent J V, Oliva R, et al. The role of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine in rifamycin-induced DNA damage. *Free Radic Biol Med* 1995;18:747-55.
11. Frenkel K, Zong Z, Wei H, Karkiszka J, Patel U, Rashid K, et al. Quantitative high performance liquid chromatography analysis of DNA oxidased in vitro and in vivo. *Anal Biochem* 1991;196:126-36.
12. Wei H, Frenkel K. (1992) Suppression of tumor promoter-induced oxidative events and DNA damage in vivo by saponin A: a possible mechanism of antipromotion. *Cancer Res* 1992;52:2298-303.
13. Lowry OH, Rosenbrough NJ, Farr AE, Randall RJ. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951; 193:265-75.
14. McCord JM, Fridovich I. The reduction of cytochrome C by xanthine oxidase. *J Biol Chem* 1968;243:5753-60.
15. Fridovich I. Superoxide dismutase. *Adv Enzymol* 1974;41:35-97.
16. Brigelius R, Merckel C, Akerboom T, Sies H. Identification and quantitation of glutathione in hepatic protein disulfides and its relationship to glutathione disulfide. *Biochem Pharmacol* 1983; 32:2529-34.
17. Asensi M, Sastre J, Pallardó FV, Estrela JM, Viña J. Determination of oxidized glutathione in blood by high performance liquid chromatography. *Methods Enzymol* 1994;251:237-43.
18. Wong SH, Knight JA, Hopfer SM, Zaharia O, Leach ChN Jr, Sunderman W Jr. Lipoperoxides in plasma as measured by liquid-chromatographic separation of malondialdehyde-thiobarbituric acid adduct. *Clin Chem* 1987;33:214-20.
19. Wood ML, Dizdaroglu M, Gajewski E, Essignmann JM. Mechanistic studies of ionizing radiation and oxidative mutagenesis: genetic effects of a single 8-hydroxyguanine (7-hydro-8-oxoguanine) residue inserted at a unique site in a viral genome. *Biochemistry* 1990;29:7024-32.
20. Oliva MR, Ripoll F, Muñiz P, Iradi A, Trullenque R, Valls V, et al. Genetic alterations and oxidative metabolism in sporadic colorectal tumors from a Spanish community. *Mol Carcinog* 1997;18:232-43.
21. Oltra AM, Carbonell F, Tormos C, Iradi A, Saez GT. Antioxidant enzyme activities and the production of MDA and 8-oxo-dG in chronic lymphocytic leukaemia. *Free Radic Biol Med* 2001;30:1286-92.
22. Gonzales R, Auclair C, Voisin E, Gauteero H, Dhermy D, Boivin P. Superoxido dismutase, catalase and glutathione peroxidase in red blood cells from patients with malignant diseases. *Cancer Res* 1984;44:4137-9.
23. Su Y, Sun CM, Chuang HH, Chang PT. Studies on the cytotoxic mechanisms of ginkgetin in a human ovarian adenocarcinoma cell line. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 2000;362:82-90.
24. Slivinskii GG, Tsvetkova TV, Tsokur EV. The antioxidant properties of tumor cell subpopulations *Tsitologija* 1992;34:82-7.
25. Djuric Z, Malviya VK, Deppe G, Malone JM Jr, McGunagle DL, Heilbrun LK, et al. Detoxifying enzymes in human ovarian tissues: comparison of normal and tumor tissues and effects of chemotherapy. *Cancer Res Clin Oncol* 1990;116:379-83.
26. Poka R, Szucs S, Adany R, Szikszay E. Stage-related superoxide anion production of granulocytes of gynecologic cancer patients. *J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2000;89:55-7.
27. Ishikawa M, Nakata T, Shimizu T, Taniguchi N. Induction of manganese superoxide dismutase in ovarian carcinoma. *Rinsho Byori* 1992;40:359-62.
28. Ishikawa M, Hayashi H, Saitoh S, Shimizu L, Yamashita K, Saitoh Y, et al. Clinical significance of manganese superoxide dismutase in ovarian carcinoma. *Nippon Sanka Fujinka Gakkai Zasshi* 1991;43:509-15.
29. Abou Ghala AH, Fouad IM. Glutathione and its metabolizing enzymes in patients with different benign and malignant diseases. *Clin Biochem* 2000;33:657-62.
30. Sieja K. Selenium deficiency in women with ovarian cancer undergoing chemotherapy and the influence of supplementation with this micro-element on biochemical parameters. *Pharmazie* 1988;53:473-6.
31. Wasowicz W, Gromadzinska J, Skłodowska M, Popadiuk S. Selenium concentration and glutathione peroxidase activity in

298

- blood of children with cancer. *J Trace Elem Electrolytes Health Dis* 1994;8:53-7.
32. Pendyala L, Velagapudi S, Toth K, Zdanowicz J, Glaves D, Slocum H, et al. Translational studies of glutathione in bladder cancer cell lines and human specimens. *Clin Cancer Res* 1997;3:793-8.
 33. Romano G, Sgambato A, Mancini R, Capelli G, Giovagnoli MR, Flamini G, et al. 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine in cervical cells: correlation with grade of dysplasia and human papillomavirus infection. *Carcinogenesis* 2000;21:1143-7.
 34. Kondo S, Toyokuni S, Tanaka T, Hiai H, Onodera H, Kasai H, et al. Overexpression of the hOGGI gene and high 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) lyase activity in human colorectal carcinoma: regulation mechanism of the 8-OHdG level in DNA. *Clin Cancer Res* 2000;6:1394-400.
 35. Kondo S, Toyokuni S, Iwasa Y, Tanaka T, Onodera H, Hiai H, Farinati F, Cardin R, Degan P, Rugge M, Mario FD, Bonvicini P, et al. Oxidative DNA damage accumulation in gastric carcinogenesis. *Gut* 1998;42:351-6.
 37. Yamamoto T, Hosokawa K, Tamura T, Kanno H, Urabe M, Honjo H. Urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) levels in women with or without gynecologic cancer. *J Obstet Gynecol Res* 1996;22:359-63.
 38. Musarrat J, Arezina-Wilson J, Wani AA. Prognostic and aetiological relevance of 8-hydroxyguanosine in human breast carcinogenesis. *Eur J Cancer* 1996;32A:1209-14.
 39. Nagashima M, Tsuda H, Takenoshita S, Nagamachi Y, Hirohashi S, Yokota J, et al. 8-hydroxydeoxyguanosine levels in DNA of human breast cancer are not significantly different from those of non-cancerous breast tissues by the HPLC-ECD method. *Cancer Lett* 1995;90:157-62.