



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

MAESTRIA EN CIENCIAS MÉDICAS

INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO XXI
UMAE HOSPITAL DE ONCOLOGÍA

“Carga viral del Virus de Papiloma Humano y su relación con la respuesta al tratamiento en pacientes con CaCu”

PRESENTA:

DR RAFAEL ARIAS FLORES
MEDICO EPIDEMIOLOGO
ALUMNO DE MAESTRIA EN CIENCIAS MEDICA, UNAM

TUTOR:

DRA. DULCE MARIA HERNÁNDEZ HDZ.
DIRECCION DE PRESTACIONES MEDICAS
DIVISION DE INNOVACION
COORDINADOR DE PROGRAMA MEDICO
INVESTIGADOR ASOCIADO D

MÉXICO, D. F. ENERO 2013



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

INDICE

1. RESUMEN.....	3
2. ANTECEDENTES	4
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	11
4. PREGUNTA	11
5. JUSTIFICACIÓN	11
6. HIPOTESIS	12
7. OBJETIVOS	12
8. MATERIAL Y METODOS.....	12
8.1 TIPO DE ESTUDIO.....	12
8.2 POBLACIÓN Y LUGAR DEL ESTUDIO.....	12
8.3 CRITERIOS DE SELECCIÓN	13
8.4 VARIABLES	13
8.5 DESCRIPCIÓN GENERAL DEL ESTUDIO.....	17
8.6 TAMAÑO DE MUESTRA	19
8.7 ANÁLISIS ESTADÍSTICO	19
9. ASPECTOS ÉTICOS.....	20
10. FINANCIAMIENTO.....	22
11. CRONOGRAMA.....	23
12. RESULTADOS	24
13. DISCUSION	27
14. BIBLIOGRAFÍA.....	30
15. ANEXOS.....	35

1. RESUMEN

Introducción

El cáncer cérvico uterino (CaCu) es la segunda causa de muerte en mujeres de edad fértil en nuestro país. Es conocido en la literatura actual que ciertos tipos del Virus del Papiloma Humano (VPH) se encuentran asociados al desarrollo de CaCu. Diversos estudios han encontrado una asociación entre la presencia de VPH y una mejor respuesta al tratamiento y mantenida esta a largo plazo. Uno de los estudios más representativos fue el realizado por Kim JY *et al* quien observó que una menor carga viral está asociado a una peor respuesta al tratamiento para CaCu que en aquellos pacientes con mayores niveles. Resultados que solo puede ser validos a pacientes en radioterapia y sin diferenciar de los diferentes tipos de VPH o coinfecciones por otros tipos de VPH, variables que otros estudios han demostrado ser determinantes en el papel que desempeña el VPH en la génesis del CaCu.

Objetivo:

Determinar el efecto de la carga viral del VPH en la respuesta al tratamiento para CaCu en pacientes diagnosticadas de primera vez atendidas en el IMSS.

Material y Métodos:

Se realizó una cohorte retrolectiva de marzo del 2006 a noviembre del 2010 en pacientes con los siguientes criterios de selección: Mayor de 18 años; con diagnóstico definitivo de CaCu; etapa clínica II a III; pacientes sin tratamiento previo y que iniciaron tratamiento dentro del IMSS. Fueron eliminados aquellos que no completaron el seguimiento por 8 semanas excepto quienes fallecieron (pues fueron incluidos en el análisis), pacientes que se atendieron en nivel particular, con otra neoplasia simultánea, embarazadas o lactando y quienes tuvieron HIV. Fue definido como éxito a la respuesta al tratamiento inicial a la ausencia de evidencia clínica, radiológica, histológica o por colposcópica de enfermedad a los 8 semanas de finalizado el tratamiento primario. En el análisis se ajustaron potenciales variables confusoras como: Tipo de VPH, edad, etapa clínica y tratamiento.

Resultados: Se analizaron 178 casos, de los cuales 109 (61%) correspondían a etapa IIB, 139 (78%) eran de tipo epidermoide, el VPH 16 fue el más común con 66(37.5%) casos. Un total de 113 (63.5%) de los casos tuvieron respuesta al tratamiento estándar inicial, al dividir por grupos, aquellos que estuvieron por debajo de la mediana no tuvieron una respuesta el 56%, mientras que aquellos que tuvieron respuesta al tratamiento fueron el 46%, la OR observada fue de 1.49 (IC95% 0.80 - 2.76) y al ajustarse por las potenciales variables confusoras fue de 1.02 (IC95% 0.34 - 3.04).

Conclusión: No se observó una asociación entre la respuesta al tratamiento estándar inicial y la carga viral, posiblemente la respuesta observada en la literatura se deba más a un efecto a largo plazo que un efecto inmediato.

2. ANTECEDENTES

EPIDEMIOLOGÍA

La epidemiología del cáncer cervicouterino (CaCu) ha cambiado en los últimos 15 años debido a una tendencia hacia la disminución que lo ubica actualmente en el segundo cáncer más frecuente en la mujer con una incidencia de 15.3 casos por cada 100,000 mujeres y la tercer causa de muerte en la mujer por neoplasias malignas con una mortalidad de 7.8 casos por cada 100,000 mujeres a nivel mundial (1). Dividido por nivel socioeconómico se tiene que aquellos países desarrollados tienen una incidencia de 9.0 casos por cada 100,000 casos y una mortalidad de 3.2 casos por cada 100,000 casos convirtiendo el CaCu en la séptima causa más frecuente en morbilidad y mortalidad por cáncer en la mujer. En los países en vías de desarrollo se reporta una incidencia de 17.8 casos por cada 100,000 mujeres y una mortalidad de 9.8 casos por cada 100,000 mujeres convirtiendo el CaCu no solo en la segunda causa más frecuente de cáncer, sino también en la segunda causa de muerte por cáncer en población femenina (2). En México la perspectiva no difiere mucho a la mundial, teniendo una incidencia de 18.5 casos por cada 100,000 mujeres y una mortalidad de 7.6 casos por cada 100,000 habitantes (3), por otra parte en el Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) la mortalidad por CaCu se ha modificado, encontrando una tasa de mortalidad en el 2005 de 8.9 mujeres mayores de 24 años por cada 100,000 mujeres mayores de 24 años, convirtiendo esto en un severo problema en el instituto. (4)

Palacios-Mejía L.S. y *et. al.* hicieron un análisis de la diferencia que existe del CaCu entre los estados del país encontrando que las tasas más altas se encuentran en el sur mientras que para cáncer de mama son mayores en los estados del norte, lo cual concuerda con lo reportado en nivel internacional si tenemos en cuenta que en nuestro país el lado norte se encuentra más desarrollado económicamente que el lado sur (5).

HISTOPATOLOGIA

Existen diversos tipos histológicos de CaCu, sin embargo para su clasificación están divididos en 3 grandes grupos: los carcinomas de células escamosas, los adenocarcinomas y otros tumores epiteliales (ej. carcinoma de células pequeñas, carcinoma adenoescamoso). Esto tiene gran relevancia porque cada uno de estos tipos tiene su propia supervivencia, encontrando que los de células escamosas tienen un mejor pronóstico que el adenocarcinoma. La variedad más común es el carcinoma escamoso de células grandes no-queratinizantes. (6, 7) Lo cual concuerda con otro estudio realizado en México que reporta como la variante más común al carcinoma de células escamosas (91.5%), seguido del adenocarcinoma (3.7%) y del carcinoma adenoescamoso (1.7%). (8)

ESTADIFICACIÓN

La historia natural del cáncer es crecer y expandirse invadiendo órganos y aparatos tanto contiguos como a distancia, culminando con la vida del paciente, por lo que es comprensible que tiene de valor pronostico el uso de una clasificación que valore todas

!

estas variantes y que ha demostrado tener alto valor predictivo. Actualmente la estadificación internacionalmente usada para el CaCu es de la Federación Internacional de Ginecología y Obstetricia (FIGO por sus siglas en francés) basada en la exploración clínica del paciente. Esta clasificación evalúa el tamaño del tumor, la invasión a otros órganos y espacios circunscritos, como útero o vagina, pelvis, recto, que origine hidronefrosis o que tenga una metástasis a distancia, para hacer mas sencilla su clasificación, las etapas IA y IB se pueden referir como etapas localizadas y etapas II a III etapas localmente avanzadas. (9) (Véase Tabla 1 en Anexos)

TRATAMIENTO

El tratamiento del CaCu depende de la estadificación según FIGO, necesidades de la paciente (fertilidad) y de la respuesta esperada (remisión o paliación). Las guías actuales como la realizada por la National Comprehensive Cancer Network (NCCN), que es la más aceptada internacionalmente, sugiere múltiples opciones y combinaciones de acuerdo a las múltiples etapas para dar un mejor tratamiento primario y llegar a la remisión de la enfermedad o no tener evidencia de actividad tumoral, por ejemplo; En el caso de una etapa IA1 se está recomendando solo histerectomía o histerectomía más disección de nódulos linfáticos pélvicos o solo como biopsia (en caso de desear continuar fertilidad); En etapas IA2 las opciones pueden ser histerectomía radical más disección de nódulos linfáticos pélvicos y para aórticos o braquiterapia mas radioterapia; En etapas IB1 y IIA1 es la misma recomendación pero a dosis más altas de radiación; En etapas IIA2 y IB2 las opciones pueden ser histerectomía radical más disección de nódulos linfáticos pélvicos y para aórticos o radioterapia, braquiterapia con concurrente administración de quimioterapia (cisplatino). En este punto si existieran nódulos positivos, bordes con enfermedad o evidencia de lesión al terminar estas opciones terapéuticas primarias, se considera falla al tratamiento primario o falla en la remisión y se puede continuar con diversos tratamientos adyuvantes cuya piedra angular está basada en la radioterapia.

En etapas IB2 a IVA puede haber consideraciones especiales de acuerdo a la presencia de imágenes radiológicas sugerentes de afección ganglionar o ganglios para aórticos positivos en una biopsia linfática, sin embargo, todos los tratamientos se enfocan en una combinación de radioterapia, braquiterapia y quimioterapia con cisplatino concurrente (10). Sin embargo hay que aclarar que aunque el cisplatino es de los más recomendados por sus buenos resultados es de los medicamentos que mas efectos secundarios desencadenan, por lo que diversos estudios en fase II se han desarrollado con distintas alternativas como son gemcitabine, paclitaxel, vinorelbine y camptothecines. (11)

En el Hospital de Oncología del Centro Médico Nacional Siglo XXI el algoritmo del tratamiento estándar inicial no difiere mucho del presentado (Ver ANEXO 3), iniciando primero con las citologías en sus unidades de medicina familiar (UMF), las cuales si salen alteradas se mandan a las clínicas de displasias, las cuales se ubican en el Hospital de Ginecología y Obstetricia 3 y 4 en el caso del distrito federal, en provincia esto puede variar ubicándose en sus Hospitales Generales de Zona (HGZ), los casos que requieran un tratamiento más avanzado o métodos diagnósticos más completos, son enviados al Hospital de Oncología, como por ejemplo etapas II a IV (ej. Radioterapia).

!

El manejo se puede desglosar en 4 grandes grupos: El primero con etapas localizadas no visibles (1A1 a la 1A2), en los cuales el tratamiento primario es quirúrgico con cono o bien histerectomía si la paridad está satisfecha; Etapas localizadas visibles (1B1 a 1B2) cuya recomendación es con histerectomía, dejando al médico tratante la opción de utilizar o no radioterapia; Etapas localmente avanzadas (Etapas II y III), cuya recomendaciones se centra en radioterapia (25 sesiones en 5 semanas), para reducir la lesión y ser más efectivo posteriormente con la braquiterapia (3 o 4 sesiones en 4 semanas) y/o quimioterapia, es 8 semanas después de terminada la braquiterapia con la quimioterapia que se tiene el mayor nivel de respuesta para este tratamiento, a diferencia de los tratamientos quirúrgicos en los que la respuesta esperada puede ser valorada entre el primer y segundo mes del postquirúrgico, cuando la inflamación ha cedido, en caso de que en estas mediciones se observe aun por clínica, histopatología o estudios de imagen evidencia de la persistencia de una lesión tumoral, se tomara en cuenta que no hubo respuesta al tratamiento estándar inicial y se iniciara tratamiento de segunda línea.

El tratamiento de las etapas IV, por otra parte ya no tiene como respuesta esperada la remisión de la enfermedad como en las previas, si no únicamente la paliación, requiriendo radioterapia, braquiterapia o quimioterapia individualizado a la paciente y a la localización de las metástasis, para mejorar el curso de la enfermedad, pero no para eliminar la evidencia de lesión (12).

La NCCN recomienda que posterior al tratamiento primario de las pacientes con buena respuesta (remisión de la enfermedad o sin evidencia de actividad tumoral) de la etapa I a la III se dé un seguimiento los primeros 2 años cada 3 o 6 meses, los subsecuentes 3 a 5 años de forma semestral y posteriormente anual. Esta guía considera que aquellas pacientes que tuvieran una buena respuesta al tratamiento primario (remisión) y tuvieran nuevamente en su seguimiento la evidencia de enfermedad, se considera esto como una recurrencia y en caso que no tuvieran buena respuesta al tratamiento primario y continuaran con la enfermedad en su seguimiento se hablaría de una persistencia de la enfermedad, para cuyos casos existen diversos tratamientos adyuvantes. (10). En el caso del Hospital de Oncología del Centro Médico Nacional Siglo XXI el seguimiento recomendado a estas pacientes terminando el tratamiento primario es a las 8 semanas con la intención de acortar tiempos en los tratamientos adyuvantes. (12).

RESPUESTA AL TRATAMIENTO

La respuesta al tratamiento primario esperado en toda paciente con diagnóstico de CaCu es la remisión de la enfermedad al termino del tratamiento primario (de la cirugía o del primer ciclo de radioterapia, braquiterapia y/o quimioterapia), esta valoración esta sugerida a ser según las guías de práctica clínica de la CNNC al tercer mes de terminado el tratamiento, esto debido a que de 3 a 4 después de terminado el tratamiento se observa el máximo efecto terapéutico por la radioterapia y la quimioterapia y otras 3 a 4 semanas de espera para que los tejidos se desinflanen. El motivo por el cual la valoración para verificar que se tiene respuesta al tratamiento o ya no hay evidencia de actividad tumoral por la CNNC a las 6 semanas y en el hospital de Oncología de CMN SXXI a las 8 semanas, es por la teoría que

!

es entre este periodo en el cual los tejidos han disminuido su inflamación y se encuentran en una fase final de cicatrización, tanto para un proceso quirúrgico como un proceso de radio y quimioterapia. (10,12). En México la mayor proporción los casos diagnosticados de primera vez son cánceres *in situ* por lo que el tratamiento se centra de forma primaria en el quirúrgico, ya sea cono o histerectomía (13), esperando encontrar bordes quirúrgicos libres de enfermedad (correspondientes a etapas 1A a 1B) y Papanicolaou de control entre las 8 semanas sin evidencia de células displásicas. En las etapas II a III la respuesta esperada es la ausencia de evidencia de lesión posterior al primer ciclo de radioterapia con braquiterapia y/o quimioterapia. En etapas IVA y IVB la respuesta esperada ya no es la remisión, si no el efecto paliativo de las complicaciones de invasión a otros órganos y espacios o metástasis a distancia, mediante el tratamiento individualizado con radioterapia, braquiterapia o quimioterapia (10, 12).

Diversos estudios dan poca información sobre la respuesta a tratamiento inicial, enfocándose solo a dar el seguimiento a 5 años, ya sea sobrevivida (14) o al periodo libre de la enfermedad. (15)

FACTORES PRONOSTICOS

Actualmente existen varios factores pronósticos que ayudan en la toma de decisiones y a la consejería a la paciente con CaCu, entre los más estudiados y de mayor plausibilidad destaca la etapa clínica del cáncer, presencia de nódulos linfáticos, el tamaño del tumor y los márgenes libres de enfermedad de la muestra tomada, así como otros involucrados en la invasión del estroma basal, la obstrucción uretral o renal, edades más jóvenes (menores de 40 años), tabaquismo y hasta los niveles tisulares de receptores de estrógeno citosólicos, y receptores de progesterona (16-21). Sin embargo poca es la información que existe sobre lo relacionado al virus del papiloma como factor pronóstico. a la respuesta primaria del tratamiento.

VIRUS DE PAPILOMA HUMANO Y CÁNCER CERVICO UTERINO

El Virus del Papiloma Humano (VPH) tiene un DNA de doble cadena de aproximadamente 8000 pares de bases, con una variedad aproximada de casi 100 diferentes sub tipos que expresan características en el tropismo, algunos teniendo afinidad por tejido cutáneo (tipo 6 y 11) y otros por tejido mucoso (tipo 16 y 18 entre estos). Son los mucosotrópicos los relacionados al desarrollo de cáncer tanto en hombres como en mujeres en diversas aéreas, como la cavidad oral, orofaringe, laringe y hasta esófago (22). Se sabe que en México la prevalencia de los distintos tipos de VPH varia siendo el más frecuente el tipo 16 con una prevalencia del 54.2% , del 37.3% para el 18, del 9.6% para el 31, del 9.6% para el tipo 6, del 4.8% para el 11 con variaciones geográficas de la prevaecía del tipo 18 a lo largo del país. (23, 24)

Actualmente se conoce que las células blanco del VPH son las células inmaduras basales del estroma epitelial, una vez infectada esta célula puede ocurrir una infección latente, esto

!

quiere decir que la replicación del virus se mantiene ligada a la replicación celular, con una baja producción de proteínas virales, lo que hace al virus indetectable a nivel histopatológico. Cuando la célula inmadura infectada se diferencia, es cuando el genoma del VPH se incrementa, aumentando la cantidad de síntesis de oncoproteínas. La proteína E2 codificada por el VPH, funciona como iniciador de la traducción de los genes E6, E7 y L1/E1. La proteína E6 es la encargada de inhibir la apoptosis celular de la célula infectada, mientras que la E7 se encarga de reactivar la replicación celular y con esto, la replicación viral. Estos procesos con el paso de tiempo van generando daño en el genoma de la célula hasta producir una total alteración de su ciclo vital, inmortalizándola y generando por consiguiente una célula cancerígena. (25, 26)

Es por esto que en diversos estudios que buscan factores de riesgo siempre encuentran la presencia de valores altos de carga viral con el riesgo de desarrollar CaCu, conjunto con otros factores como mayor edad, bajo nivel socioeconómico y menor edad de la primer relación sexual, sin embargo, el cómo genera la enfermedad no es la mayor incógnita que existe, pues esta información está muy bien estudiada y es amplia en la literatura, lo que se desconoce es si es posterior a una cirugía o quimioterapia o radioterapia aún existe alguna relación del VPH con la evolución de la enfermedad posterior a un tratamiento. (27)

Algunos autores han reportado que uno de los más grandes hallazgos en la etiología del cáncer fue el describir que la infección persistente del VPH jugaba un papel crucial para el desarrollo de la enfermedad (28). Actualmente la detección del VPH puede encontrarse a través de diversas técnicas, entre estas la hecha por histopatología, por PCR y de reciente creación la técnica de captura por híbridos (técnica de identificación semicuantitativa), esta técnica es la única aprobada por la FDA para el tamizaje del VPH en las muestras, proponiéndose preliminarmente como una nueva técnica, teniendo una alta sensibilidad aunque una reducida especificidad, principalmente porque solo detecta tipos de alto riesgo. (29)

Diversos estudios han encontrado en un alto porcentaje la presencia del DNA del VPH en el 70% al 90% de todas las lesiones precursoras o lesiones de alto riesgo y en menor proporción (20% al 50%) en lesiones de bajo riesgo, se estima que acumulando la prevalencia de los 4 tipos más frecuentes (tipo 16, 18, 45 y 31) se alcanzaría a explicar el 80% de los casos de cáncer cervical aproximadamente (30,31).

Sin embargo es Walboomers J.M. *al.* quien es uno de los primeros autores en demostrar que en el 93% de los CaCu invasores se encontraba el VPH y que al volver a procesar las muestras y excluir aquellas inadecuadas, este porcentaje subió hasta el 99.7% por lo tanto demostró el importante papel que juega el VPH como una causa necesaria pero no suficiente para el CaCu. (32)

Es de este concepto que parte la generación de la vacuna del virus del papiloma humano como una alternativa en la prevención del CaCu, basándose en la prevención de la integración de los genes E6 y E7 del VPH al DNA de la célula huésped y con esto prevención del desarrollo de la enfermedad. La única recomendación es ser aplicadas antes del inicio de la vida sexual activa o de la infección del virus, por lo que las pacientes que hayan recibido la vacuna después del inicio de la vida sexual activa, esta ya no sería de utilidad, en México se inicio el programa de vacunación en el 2009, por lo que aún no se

espera resultados en las pacientes que durante los próximos 5 años desarrollen la enfermedad. (33)

CARGA VIRAL Y RESPUESTA AL TRATAMIENTO

El papel que juega el VPH en la causalidad del CaCu está firmemente establecido. Sin embargo, la asociación o valor pronostico que tiene la infección por VPH antes del tratamiento en pacientes con CaCu no está claro, pues bien, si su presencia aumenta el riesgo de desarrollar CaCu, se entendería que a mayor carga viral mayor probabilidad de tener una enfermedad más agresiva y menor probabilidad de tener una respuesta al tratamiento (33), sin embargo la bibliografía muestra resultados contradictorios, por lo que hasta el momento no hay una pauta clara de lo que hay que esperar o alguna modificación que hay que realizar en el tratamiento de acuerdo a la carga viral del VPH. (34)

Algunos estudios han demostrado que aquellos pacientes con detección del VPH al inicio del tratamiento tienen un menor tiempo libre de la enfermedad que aquellas sin su detección (56% vs 100%, $p = 0.02$) a 4 años en etapas Ib (35). El estudio realizado por Riou G *et al* en el 1990 en Francia reporto en 106 pacientes que aquellos que se encontraban sin VPH tenían a los 5 años una supervivencia inferior (40%) en comparación a aquellos que tenían la infección por VPH (70%), sugiriendo un rol importante de la presencia del VPH como factor benéfico (36). Por otro lado Harima Y *et al* en 84 pacientes con cáncer cervicouterino (6 en etapa I, 10 en etapa II, 49 en etapa III y 19 en etapa IV) a través de un estudio longitudinal posterior a la radioterapia en Japón en el 2002 reporto resultados similares, encontrando que aquellos pacientes sin VPH sobrevivieron menos que aquellos con VPH, de igual forma el tiempo de supervivencia libre de la enfermedad fue superior en aquellos que tenían el virus a comparación de aquellos que no tenían el virus (37). Lombard I *et al* en una cohorte en 1998 realizada en Francia encontró en 246 pacientes con cáncer invasivo que a los 5 años del seguimiento, aquellos que se encontraban con infección por VPH de bajo riesgo tenían una supervivencia a los 5 años del 100%, mientras que aquellos que con VPH-16 del 58%, y para aquellos con infección por VPH-18 del 38%, siendo este resultado de gran relevancia, pues hace la diferencia entre los distintos tipos, la presencia del virus y la supervivencia, información que otros estudios no ofrecen y que podría explicar del porque de los contradictorios resultados que ofrecen los previos estudios. (38)

Los estudios que han analizado directamente la carga viral en la enfermedad son pocos, uno de estos es el realizado por Kim JY *et al* quien en un seguimiento de 169 pacientes con CaCu (el 22% en etapa Ib, 55% en etapas IIa-IIb, 17% en etapas IIIa, IIIb, IVa y 6% en etapas IVb) en tratamiento con radioterapia encontró a través del método de captura de híbridos para identificación de carga viral que aquellos pacientes con cargas virales bajas mostraron menor supervivencia libre de la enfermedad, ajustando por distintas potenciales variables confusoras, a excepción de los distintos tipos del VPH o diversos tratamientos empleados. Una característica peculiar de este estudio es que no utilizo presencia o ausencia de carga viral, si un punto de corte de la mediana, esto debido a que solo el 7.8% de los pacientes mostraron cargas virales negativas. (39)

El único estudio que analiza el papel que juega la presencia del virus directamente en el resultado de un tratamiento es el realizado por Nagai Y *et al*, en donde analizo en 97 pacientes, comparando aquellos que persistían con el VPH vs aquellos sin su persistencia,

!

demostrando que aquellos pacientes que tenían persistencia del VPH predecían también la supervivencia libre de la enfermedad y mejor supervivencia a los 5 años, sugiriendo el papel pronóstico de VPH en toda paciente que se sometería a radioterapia (40).

Otro estudio analiza únicamente la presencia de solo el VPH 18, en 181 pacientes de etapas IIA a IVB, encontrando que efectivamente este tipo de VPH 18 estaba asociado a una peor supervivencia libre de la enfermedad comparándole con otros tipos (RR 2.38, $p=0.01$), disminuyendo este riesgo si se encontraba presente conjuntamente o co-infectando con otros tipos, es por esto la importancia de no solo medir presencia o ausencia de VPH si no también el tipo o las coinfecciones. (41)

Sin embargo no todos los estudios han demostrado un papel relevante del VPH como valor pronóstico de la enfermedad, De Boer M.A. et. al. en un estudio realizado en 75 pacientes con etapa clínica IB1 a II, encontró que la carga viral del VPH no mostro relación con la supervivencia a 5 años, sin embargo la desventaja de este estudio es que solo analizo los tipos 16 y 18. (42)

Por lo tanto aunque existe información que relaciona la carga viral del VPH con el desarrollo de la enfermedad, supervivencia y respuesta a tratamiento, no es constante en todos los estudios como un papel predictor de la respuesta a tratamiento, por otro lado también podría no ser solo la carga viral, sino también el tipo de VPH o la coinfección por otros tipos de VPH. Entre las posibles teorías que podrían explicar esta relación, se encuentra que posiblemente la propia infección en el tejido estimule la traducción de genes protectores como lo son la TP53 y la p16, esto en evidencia de una correlación positiva entre el la cantidad de VPH y la expresión de estos genes, también menor pérdida de heterogeneidad de ciertas regiones cromosomales como las 3p, 9p, y la 17p. También es conocido que la incorporación de las oncoproteínas E6 y E7 son particularmente inmunogénicas, lo que ocasiona mayor estimulación de respuesta inmune humoral y celular, lo que se concluye con un favorable pronóstico por disminuir la incidencia de segundos tumores, sin embargo estas teorías nunca se han confirmado con evidencia clínica ajustada por etapa clínica, tratamiento, coinfecciones o tipo virales que ayudaría a aclarar presentes incógnitas. (43)

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

- Alta prevalencia de la enfermedad y baja sobrevida en poblaciones en desarrollo.
- Existe poca información sobre las características de la infección por VPH de acuerdo a las etapas clínicas en que se diagnóstica a las pacientes
- La mayor parte de los estudios encontrados fueron de etapas II-III para medir periodo libre de la enfermedad y sobrevida pero no la respuesta estándar inicial a las 8 semanas de terminado el tratamiento
- Se han identificado distintos predictores de respuesta al tratamiento, sin embargo la información es escasa para la posible asociación entre la carga viral por VPH y la evolución de la paciente posterior al inicio del tratamiento, cuando ya es bien conocido el papel que juega el VPH en la génesis de la enfermedad.
- Hasta el momento no existe información suficiente de la conducta a seguir en el tratamiento para CaCu de acuerdo a la carga viral del VPH.
- Existe referencias recientes que mencionan que el VPH no tiene un papel predictor en la respuesta al tratamiento
- El tipo de VPH puede ser diferencial y estar relacionado con la respuesta al tratamiento primario.

4. PREGUNTA

¿Cuál es la asociación de la carga viral del VPH en la respuesta al tratamiento estándar inicial (A las 8 semanas de finalizar el tratamiento) en pacientes con CaCu diagnosticadas de primera vez, atendidas en el IMSS ajustado por tipo viral, tratamiento, edad, etapa clínica, tabaquismo, tipo histológico?

5. JUSTIFICACIÓN

El presente estudio ofrece al paciente y al médico tratante información sobre la respuesta que pueda tener al tratamiento oncológico a las 8 semanas, ofreciendo mejores tomas de decisión. Además no solo se limita este valor pronóstico al CaCu, sino que debido a que el VPH se ha identificado en otros tipos de cáncer como el orofaríngeo, los resultados de esta información podrían generar nuevas hipótesis en otras aéreas.

De igual forma ofrece al IMSS evidencia para la generación de una línea de investigación del costo beneficio de los tratamientos basados en este caso de la carga viral inicial y por último, también ofrecerá información en la literatura sobre el papel que juega el VPH no solo en la evolución a la enfermedad, si no hasta la propia respuesta al tratamiento, ajustando esta información por otros factores involucrados en la respuesta al tratamiento en pacientes con CaCu como el tipo viral.

!

6. HIPOTESIS

La hipótesis propuesta fue que en pacientes con carga viral del VPH (técnica de captura de híbridos) mayor a la mediana existe una mayor frecuencia de respuesta al tratamiento primario inicial a las 8 semanas de finalizarlo (60%) comparado con aquellas pacientes con una menor carga viral del VPH (24%, $RR \geq 2.5$) diagnosticadas de primera vez para CaCu y atendidas en el IMSS ajustado por tipo viral (PCR), tratamiento, edad, etapa clínica, tabaquismo, tipo histológico

7. OBJETIVOS

Objetivos:

En pacientes con diagnóstico de primera vez de CaCu atendidas en el IMSS:

- Medir la carga viral del VPH (técnica de captura de híbridos) previo al inicio del tratamiento primario estándar inicial.
- Identificar a las 8 semanas de terminado el tratamiento la respuesta al tratamiento estándar inicial (ausencia de evidencia de la enfermedad contado 8 semanas a partir del último día de finalizado el tratamiento).
- Comparar a las 8 semanas de terminado el tratamiento la respuesta al tratamiento estándar inicial (ausencia de la enfermedad contado 8 semanas a partir del último día de finalizado el tratamiento) entre las pacientes con carga viral (por técnica de captura de híbridos) por arriba de la mediana contra aquellas por debajo de la mediana de la población estudiada ajustado por tipo viral (por PCR), coinfecciones de distintos tipos de VPH (por PCR), tratamiento, edad, etapa clínica, tabaquismo, tipo histológico

8. MATERIAL Y METODOS

!

8.1 TIPO DE ESTUDIO

Estudio de cohorte retrolectiva. Los expuestos fueron aquellos cuya carga viral se encontraba por debajo de la mediana, mientras que los no expuestos fueron aquellos cuyos valores de la carga viral se encontraron por arriba de la mediana, esto debido a que en estudios realizados con medición de carga viral, la cantidad de pacientes sin carga viral fue solo del 8% con tendencia a una distribución no normal (39), mientras que la variable efecto o dependiente fue la respuesta al tratamiento a las 8 semanas.

8.2 POBLACIÓN Y LUGAR DEL ESTUDIO !

!

La población de estudio fueron mujeres con diagnóstico definitivo de cáncer de cérvix, de primera vez, que no hayan recibido tratamiento previo.

La cohorte se inicio en la consulta externa de radioterapia, donde llegan las pacientes con diagnóstico definitivo para la valoración de iniciar o no tratamiento. Posterior a esta identificación se les invito a participar en el estudio para iniciar un seguimiento del tratamiento y la toma de un cepillado cervical para la medición de la captura de híbridos en el Hospital de Oncología del CMN Siglo XXI.

8.3 CRITERIOS DE SELECCIÓN

Criterios de Inclusión

- Pacientes de 18 años o más que aceptaron participar en el estudio bajo previa firma de consentimiento informado.
- Diagnostico de CaCu con confirmación por biopsia de cualquier tipo histológico de CaCu
- Etapa clínica de CaCu de la II a la III
- Pacientes sin tratamiento previo que inicien tratamiento para CaCu dentro de las instalaciones del IMSS.

Criterios de Exclusión

- Pacientes que se atiendan en otra institución o a nivel particular posterior a su diagnostico
- Pacientes que hayan tenido otra neoplasia previamente
- Pacientes con otra neoplasia simultanea (sincrónica)
- Que estén embarazadas o lactando.
- Infecciones serias concurrentes que afecten el estado de inmunidad de la paciente (HIV)

Criterios de Eliminación.

- Pacientes cuya muestra no sea adecuada para la realización de la carga viral.

8.4 VARIABLES

Variable Independiente:

Carga viral por VPH

Variable Dependiente:

Respuesta a tratamiento primario

Confusoras

Tipo Viral

Edad

Tratamiento

Etapa Clínica

Tipo Histologico

Tabaquismo

VARIABLES

!

VARIABLES INDEPENDIENTES:

Variable:

Carga Viral del VPH

Definición Conceptual:

Presencia del DNA contenido en las muestras hibridiza con el RNA específico de VPH dentro de células del cérvix de pacientes con diagnóstico de CaCu antes y después de su tratamiento por arriba de la mediana de la carga viral en la población estudiada o por debajo de la mediana en la población estudiada.

Definición Operativa:

Valor dado por la técnica de captura de híbridos (descrita más adelante) con resultado semi cuantitativo que detecta los tipos 6/11/42/43/44/16/18/31/33/35/39/45/51/52/56/58/59/68, creándose la división de estos valores en dos grupos: Aquellos con valores por arriba de la mediana de la carga viral en la población estudiada y aquellos que tengan valores por debajo de la mediana en la población estudiada.

Tipo de variable:

Cualitativa nominal

Categorías:

Por arriba de la mediana y por debajo de la mediana

VARIABLE DEPENDIENTE:

Variable:

Respuesta a Tratamiento

Definición Conceptual:

Ausencia de evidencia clínica, colposcópica, quirúrgica, citológica o por tomografía de actividad tumoral o presencia de tumor a las 8 semanas posteriores al término del tratamiento primario.

Definición Operativa:

Lo plasmado en el expediente clínico por su médico tratante basado en la valoración por clínica, colposcópica, quirúrgica, citológica o por tomografía.

Tipo de variable:

Cualitativa nominal

Categorías:

Respuesta, No respuesta

VARIABLES CONFUSORAS:

Variable:

Tipo de VPH

Definición Conceptual:

Variedad de tipo de VPH causante de infección en la paciente.

Definición Operativa:

Mediante identificación por PCR se identificara a qué tipo de virus pertenece el aislado, esta técnica permite la detección de los tipos: 6, 11, 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 40, 42, 45, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 58, 59, 61, 62, 64, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 81, 82, 83, 84, IS39 y Cp6108.

Tipo de variable:

Cualitativa nominal

Categorías:

!

6, 11, 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 40, 42, 45, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 58, 59, 61, 62, 64, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 81, 82, 83, 84, IS39 y Cp6108.

Variable:

Tratamiento

Definición Conceptual:

Tipo de tratamiento recomendado para la remisión de la enfermedad de acuerdo a las recomendaciones dadas por la NCCN o las Guías de atención del Hospital de Oncología del CMN Siglo XXI

Definición Operativa:

Tipo de tratamiento plasmado en el expediente clínico

Tipo de variable:

Cualitativa nominal

Categorías:

Quirúrgico, quirúrgico mas radioterapia, radioterapia mas braquiterapia, radioterapia mas braquiterapia mas quimioterapia.

Variable:

Edad

Definición Conceptual:

Tiempo que transcurre de la persona desde que ha nacido hasta el momento de su inclusión en el estudio

Definición Operativa:

Edad referida en el expediente clínico en el momento de su inclusión en el estudio

Tipo de variable:

Cuantitativa continua

Categorías:

0 - ∞ años

Variable:

Etapa Clínica

Definición Conceptual:

Etapificación de acuerdo a la valoración medica del progreso de la enfermedad en la paciente estudiada.

Definición Operativa:

La otorgada y expresado en el expediente clínico

Tipo de variable:

Cualitativa Ordinal

Categorías:

IIA, IIB, III, IIIA, IIIB.

Variable:

Tabaquismo

Definición Conceptual:

Acto de fumar alguna vez en la vida

Definición Operativa:

!

Se interrogara en el cuestionario la presencia de fumar alguna vez en la vida y la cantidad de cigarrillos promedio en el último año

Tipo de variable:

Cualitativa nominal

Categorías:

Presente o ausente

Variable:

Tipo Histologico

Definición Conceptual:

Variedad histologica identificada mediante estudio patologico de la muestra

Definición Operativa:

Resultado del estudio de histopatologia de la pieza de la paciente identificada

Tipo de variable:

Cualitativa nominal

Categorías:

Carcinoma de células escamosas, adenocarcinoma y carcinoma adenoescamoso

8.5 DESCRIPCIÓN GENERAL DEL ESTUDIO

1.- Captura y seguimiento de Pacientes:

- a) En una cohorte Retrolectiva se invitó a participar a toda paciente que cumpliera los criterios de inclusión en la consulta externa del servicio de radioterapia de mayo del 2006 a noviembre del 2010 del Hospital de Oncología de centro Médico Siglo XXI.
- b) Posterior a la aceptación de participar en el estudio y la firma del consentimiento informado se procedió al llenado del cuestionario basado en el interrogatorio y en el expediente clínico según sea la necesidad y se tomó un cepillado cervical para la toma de la muestra de la técnica de la captura de híbridos y PCR del VPH. Esta muestra fue conservada de 2 a 8°C en el laboratorio de investigación hasta su procesamiento.
- c) Las muestras fueron procesadas para la tipificación del VPH y carga viral en el laboratorio de investigación en enfermedades oncológicas del CMN siglo XXI.
- d) Se captó la fecha de inicio del tratamiento para medir el tipo y la duración del mismo, independientemente del esquema propuesto y se revisó el expediente hasta identificar la última fecha del tratamiento estándar inicial para contar este momento como día 0 y al llegar a la semana 8, es momento cuando se determinó la respuesta que se obtuvo del tratamiento inicial. Esta evidencia fue medida mediante la conclusión que hizo el médico clínico basado en su interrogatorio, exploración física y de gabinete en cada consulta.
- e) Ante cualquier inasistencia a las citas programadas se investigó directamente a la paciente de forma personal mediante sus datos obtenidos en el interrogatorio inicial, para descartar fallecimiento, cambio de residencia, abandono de tratamiento, cambio de médico tratante o pérdida de vigencia, estos datos fueron considerados en el análisis.

3.- Carga viral y tipos de VPH

- a) Toma de muestra y medio de transporte.
La toma y transporte de las muestras para carga viral y tipificación del VPH se fue a través del hc2 DNA collection Device del laboratorio Digene, el cual contiene un cepillo previamente muescado y un tubo que contiene 1ml de medio de transporte de muestras de hidróxido de sodio.
La muestra se tomó con el cepillo contenido en el kit de transporte, insertando el cepillo en el orificio cervical en una profundidad de 1-1.5cm, hasta que las cerdas externas más largas del cepillo toquen el ectocervix, se hicieron 3 vueltas girar el cepillo en sentido anti horario sin insertar el cepillo completamente en el canal cervical. Una vez tomada la muestra se inserto el cepillo en el fondo del tubo y se rompió el exceso de varilla. Los especímenes se podían mantener hasta 2 semanas a temperatura ambiente, en el laboratorio se podían almacenar a 2-8°C una semana más o hasta por 2 meses en caso de ser guardadas hasta -20°C.
- b) Carga viral.
La técnica de captura de híbridos tiene una sensibilidad y especificidad del 73% y del 89% respectivamente, esta técnica se realiza a través de las células cervicales obtenidas con el cepillado se mantendrán en el tubo que contiene el medio de transporte (0.05% de ácido de sodio). La prueba de Digene para VPH, usa la tecnología de captura de híbridos II, la cual consiste en un ensayo en microplaca de señal amplificadas de hibridación, usando

quimioluminiscencia para la detección semicuantitativa de 18 tipos de DNA de papilomavirus humano en muestras cervicales. Esta prueba puede diferenciar entre dos grupos de DNA-VPH: los tipos VPH de bajo riesgo 6/11/42/43/44; y los tipos de VPH de intermedio y alto riesgo 16/18/31/33/35/39/45/51/52/56/58/59/68. Antes de iniciar el proceso se deja al tubo de transporte a temperatura ambiente durante 30'. Se prepara el agente de desnaturalización agregando 5 gotas de *Indicator Dye* y se mezcla vigorosamente hasta alcanzar un color homogéneo púrpura. Se agrega 500µl de ésta solución de *Hidróxido de Sodio (NaOH)* diluida, al tubo colector de la muestra. Se deja durante 45' a 65°C. Se prepara la prueba cocktail para VPH, centrifugando el vial, se determina la cantidad de *Probe Mix* requerida (25µl/test). Se realiza una dilución 1:25 de la prueba de VPH A y el *Probe Diluent* para preparar el *Probe Mix*. Se colocan 25µl de la solución en cada microtubo, se coloca en el vortex por 5'', se colocan 75µl de cada muestra en un microtubo de hibridización, se cubren y se centrifuga a $1\ 100 \pm 100$ rpm por 3 ± 2 min. Los tubos deben tornar a un color amarillo, en caso de mantenerse color púrpura deberá volver a repetirse la prueba. Incubar a $65 \pm 2^\circ\text{C}$, durante una hora ± 5 min. Se transfiere las muestras a los micropozos de captura correspondiente al número asignado de la muestra y/o calibradores, usando un set de pipetas a 8 canales de 100µl, se cubren las microplacas y se agitan en un *Rotary Shaker* a 1100 ± 100 rpm, a $20\text{-}25^\circ\text{C}$ durante una hora. Se vacían 75µl del reactivo de Detección 1 (anticuerpo fosfatasa alcalina) en cada pozo de la microplaca de captura, usando una pipeta de 8 canales. Se cubren las placas y se incuban a $20\text{-}25^\circ\text{C}$ durante 30 ± 3 minutos. En la fase de lavado se usa el Digene's Wash Apparatus el cual realiza el lavado empezando en A1 y continúa en forma de S hacia la derecha y abajo, en 2 ciclos, después inicia en forma inversa y así hasta completar 6 ciclos. Se colocan 75µl del Reactivo de Detección 2 (CDP-star smerald, sustrato quimioluminiscente) en cada pozo de la microplaca de captura, los pozos deben adquirir un color amarillo, se cubren y se incuban a $20\text{-}25^\circ\text{C}$ durante 15 min. La lectura se realiza en el Luminómetro DML 2000 el cual dara un resultado cuantitativo, esta valor es dicotomizado generalmente en presencia o ausencia, para fines de este protocolo serán utilizados estos valores como un valor semi cuantitativo. El DNA contenido en las muestras hibridiza con el RNA específico de VPH en una prueba cocktail. Los híbridos resultantes de RNA:DNA son capturados en la superficie de una microplaca cubierta con anticuerpos específicos para los Híbridos RNA:DNA. Los híbridos inmovilizados reaccionan entonces con anticuerpos específicos para híbridos de RNA:DNA, conjugados con fosfatasa alcalina y detectados con sustrato quimioluminiscente. Algunas de las moléculas de fosfatasa alcalina son conjugadas a cada anticuerpo. Múltiples anticuerpos conjugados unen a cada híbrido capturado resultando en una señal substancial de amplificación. Como el sustrato es dividido por la unión de la fosfatasa alcalina, la luz emitida es medida como unidades de luz relativas (RLUs) en un luminómetro. La intensidad de la luz emitida denota la presencia o ausencia de DNA en la muestra. Con lo cual de manera semicuantitativa se medirá la carga viral. Una medición de RLU igual o mayor que el valor de punto de corte indica la presencia de secuencias de DNA de HPV en la muestra. Una medición de RLU menor del punto de corte indica la ausencia de secuencias probadas de niveles de DNA-HPV específico por abajo del límite del ensayo. (44-48)

c) Tipificación.

La genotipificación del VPH se realizará a partir de ADN de células provenientes de los cepillados cervicales, esta técnica tiene una sensibilidad y especificidad del 73% y del 90% respectivamente. Las células se colectan para su preservación en el medio de transporte "PreservCyt" y el ADN será extraído posteriormente mediante el kit de extracción

“AmpliLute Liquid Media” (Roche). El ADN obtenido se someterá a PCR en punto final amplificando paralelamente tanto el gen constitutivo β -globina, como secuencias de VPH mediante el “Linear Array HPV genotyping Test” (Roche). Este kit ha sido aprobado por la Comunidad Europea para el diagnóstico y puede detectar 37 tipos virales, incluyendo a los 13 tipos de alto riesgo (6, 11, 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 40, 42, 45, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 58, 59, 61, 62, 64, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 81, 82, 83, 84, IS39 y Cp6108). Esta técnica consiste en amplificar por PCR en punto final con oligonucleótidos biotinilados un amplio espectro de tipos virales, el producto amplificado se hibrida con sondas oligonucleotídicas fijadas a membranas de nylon, las cuales se lavan y posteriormente son reveladas mediante métodos colorimétricos. (44-48)

8.6 TAMAÑO DE MUESTRA

Se realizó el cálculo del tamaño mínimo de muestra para riesgo relativo calculado en EPIDAT V 3.1. Como referencia se utilizaron las incidencias acumuladas observadas de sobrevida a cinco años para pacientes con CaCu reportadas para países desarrollados (39), este estudio fue elegido por ser el más cercano en su metodología al presente protocolo al dividir a las pacientes en carga viral por arriba y por abajo a la mediana, a pesar de que su variable desenlace es distinta en su tiempo de seguimiento.

Los valores tomados fueron las prevalencias encontradas que se encontraron de P1=24% y P2=59.6%. Se tomó un nivel de confianza del 95%, y un valor delta de 36% (P1 – P2). La relación de expuestos con no expuestos fue 1:1.

P1 = 24%

P2 = 60%

RR =2.50

Nivel de confianza = 95%

Delta = 36%

Relación = 1:1

N1 = 74; N2 = 74 N Total= 148 + 20% de posibles pérdidas = 177 pacientes.

8.7 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

- a) Se realizó para el análisis descriptivo frecuencias absolutas y relativas para variables cualitativas y en el caso de las cuantitativas media y desviación estándar en caso de tener distribución normal y en caso de una distribución no normal, mediana e intercuartiles 25 y 75
- b) Para el análisis bivariado se realizó razón de momios con intervalos de confianza al 95% y chi cuadrada de razón de riesgos
- c) Para el análisis multivariado se realizó con regresión logística binaria para el ajuste de variables confusoras

9. ASPECTOS ÉTICOS

Riesgo de la Investigación

El presente estudio aunque medirá el efecto pronóstico que tiene una característica basal del paciente que inicia un tratamiento oncológico, no tiene en su metodología la modificación de la elección del tratamiento por parte del médico tratante, de hecho en ninguna guía o recomendación científica existe evidencia de hacer modificaciones el tratamiento debido a la carga viral, por lo tanto la paciente no tendrá riesgo de que se modifique su tratamiento por este resultado y únicamente su tratamiento será en base a las recomendaciones científicas internacionales descritas previamente. El único riesgo al cual será sometido la paciente será la toma de muestras para tipificación y medición de carga viral a través de un cepillado cervical.

El paciente y su médico tratante si así lo requieren tendrán acceso a la información del resultado cuando lo consideren necesario, esta información será entregada únicamente a la paciente en privado, con la siguiente explicación: “El virus del papiloma humano es un virus que se contagia muchas veces por vía sexual, pero este virus pudo haberse contagiado hace muchos años por algún contacto sexual de ella o su pareja, pero puede ser de tanto tiempo atrás, incluso mucho antes de haberse conocido.”, esta última aclaración con la intención de no generar conflictos a la paciente con la idea de que se infectó por una relación extramarital que ponga en riesgo su confianza de pareja.

Contribuciones y beneficios del estudio

El paciente ante el diagnóstico de CaCu espera una respuesta clara con respecto a su sobrevivida y el resultado esperado al tratamiento al igual que el médico tratante y el equipo de salud. En la actualidad existen múltiples factores pronósticos que podrían orientar al paciente, médico tratante y a la comunidad científica, sin embargo, aunque es claro el papel causal que tiene el VPH en la génesis de la enfermedad, no existe una evidencia pronóstica en relación a la carga viral, por lo que el presente estudio ofrecerá información de la relación carga viral y respuesta al tratamiento en mujeres con CaCu.

Confidencialidad

Se mantendrá en todo momento el anonimato del paciente, únicamente los autores manejarán el nombre con fines de identificación para el seguimiento.

Condiciones de solicitud del consentimiento

Una vez aprobado el protocolo se realizará el ingreso de las pacientes a cada una se le invitara a participar en el proyecto antes de que ingrese a su consulta, el personal que invite a participar al paciente no pertenece al grupo de médicos que atenderán a la paciente, será personal capacitado y seleccionará a las pacientes que cumplan con los criterios mencionados, posteriormente se les entregará la carta de consentimiento informado (en el caso de pacientes analfabetas se les leerá clara y detenidamente para que la paciente decida o no su participación en el estudio). Al momento en que la ingrese a su consulta ya habrá tomado la libre opción de participar o no en el estudio.

Forma de selección de los participantes:

Se invitara a participar a todo paciente que se cumpla los criterios de inclusión previamente establecidos.

El tipo de estudio a realizar es descriptivo, por lo que no realizaremos manipulación de alguna variable que perjudique la autonomía del paciente ni que afecte el principio de beneficencia-no maleficencia del individuo. Este protocolo estará regido por los principios especificados en la Declaración de Ginebra con su corrección más reciente en la 46ª Asamblea General de la

!

Asociación Médica Mundial, en Estocolmo, Suecia, realizada en septiembre del 2004 y la Declaración de Helsinki enmendada en la 52ª Asamblea General, Edimburgo, Escocia en octubre del 2000, con nota de clarificación del párrafo 30 realizada por la Asamblea General de la Asociación Médica Mundial realizada en Tokio del 2004.

La realización del presente estudio se encuentra también dentro de la Ley General de Salud de la República Mexicana bajo los siguientes artículos del Reglamento De La Ley General De Salud En Materia De Investigacion Para La Salud.

TITULO PRIMERO de Disposiciones Generales:

ARTICULO 3o.- La investigación para la salud comprende el desarrollo de acciones que contribuyan:

- I. Al conocimiento de los procesos biológicos y psicológicos en los seres humanos;
- II. Al conocimiento de los vínculos entre las causas de enfermedad, la práctica médica y la estructura social
- V. Al estudio de las técnicas y métodos que se recomienden o empleen para la prestación de servicios de salud

TITULO SEGUNDO De los Aspectos Eticos de la Investigación en Seres Humanos: CAPITULO I

ARTICULO 14.- La Investigación que se realice en seres humanos deberá desarrollarse conforme a las siguientes bases:

- IV.- Deberán prevalecer siempre las probabilidades de los beneficiados esperados sobre los riesgos predesibles;
- V.- Contará con el consentimiento informado y por escrito del sujeto de investigación o su representante legal, con las excepciones que este Reglamento señala;
- VI.- Deberá ser realizada por profesionales de la salud a que se refiere el artículo 114 de este Reglamento

ARTICULO 16.- En las investigaciones en seres humanos se protegerá la privacidad del individuo sujeto de investigación, identificándolo sólo cuando los resultados lo requieran y éste lo autorice.

ARTICULO 18.- El investigador principal suspenderá la investigación de inmediato, al advertir algún riesgo o daño a la salud

CAPITULO IV De la investigación en Mujeres en Edad Fértil.

ARTICULO 40.- Para los efectos de este Reglamento se entiende por:

- I. Mujeres en edad fértil.- Desde el inicio de la pubertad hasta el inicio de la menopausia;

TITULO CUARTO. De la Bioseguridad de las Investigaciones. CAPITULO I. De la Investigación con Microorganismos Patógenos o Material Biológico que pueda Contenerlos

TITULO QUINTO. De las Comisiones Internas en las Instituciones de Salud

ARTICULO 99.- En toda institución de salud en donde se realice investigación para la salud, bajo la responsabilidad de los directores o titulares respectivos y de conformidad con las disposiciones aplicables, se continuarán:

- I. Una Comisión de Ética
- II. Una Comisión de Bioseguridad
- III. Una comisión de investigación

10. FINANCIAMIENTO

En el Hospital de Oncología de CMN S-XXI se cuentan con los recursos de infraestructura para realizar todos los procedimientos terapéuticos y de diagnóstico antes mencionados, desde el personal específicamente capacitado, así como con 3 aceleradores lineales y un equipo de braquiterapia. También se cuenta con el fármaco de forma suficiente para poderle ofrecer a todas las pacientes el esquema terapéutico completo que así lo requiera. Los reactivos para el proceso de detección de DNA viral del VPH mediante técnica de de PCR fueron obtenidos por los recursos solicitados para el protocolo eje “evaluación de recurrencia en pacientes con carcinoma cervicouterino en etapas clínicas IIB a IIIB posterior al tratamiento con quimio-radiación o radioterapia sola”, ya aprobados por financiamiento de CONACYT. Las técnicas de proceso se encuentran bien estandarizadas y en función actual en la Unidad de Investigación de Enfermedades Oncológicas del Hospital de Oncología y en centros de referencia de investigación dentro de las instalaciones del IMSS.

No habrá remuneración económica para las pacientes, la valoración clínica y recolección de información cuando así lo permita se llevará a cabo en la misma consulta de sus citas programadas. Cuando no sea así se le dará una cita extra para llevar su seguimiento.

11. CRONOGRAMA

<i>Actividad</i>	1er semestre Marzo a Julio del 2011	2do y 3er semestre Agosto del 2011 a Agosto del 2012	Septiembre a Octubre del 2012	Noviembre a Enero del 2013	Febrero del 2013
Elaboración de protocolo de investigación y modificaciones al mismo y aprobación del protocolo	X	X			
Análisis de los casos obtenidos.			X		
Presentación de la tesis				X	X
publicación					X

12. RESULTADOS

Un total de 185 sujetos cumplieron los criterios de inclusión, de los cuales 8 (4%) se perdieron durante el seguimiento, por lo que 178 pacientes continuaron en el análisis.

Análisis Descriptivo

El promedio de edad fue de 51.9 ± 10 año, el 65% se dedicaban al hogar, 33.1% eran empleadas y el 1.7% profesionistas. El 14.6% refirió tener antecedentes heredofamiliares de CaCu y el 27% de otros tipos de cáncer, el 24.7% se encontraba en peso normal, el 14% en sobrepeso y el 60.7% en

VARIABLES SOCIODEMOGRÁFICAS	n	%
Edad		
27 a 30	5	2.8%
31 a 40	24	13.5%
41 a 50	39	21.9%
51 a 60	72	40.4%
61 a 70	31	17.4%
71 o mas	7	3.9%
Ocupacion		
Hogar	116	65.2%
Empleada	59	33.1%
Profesionista	3	1.7%
Familiares con cáncer		
CaCu	26	14.6%
Otros Cánceres	48	27.0%
Sin antecedentes	104	58.4%
IMC		
<18.5	1	0.6%
18.5 - 24.9	44	24.7%
25 - 26.9	25	14.0%
27 - 29.9	45	25.3%
30 - 34.9	46	25.8%
35 - 39.9	17	9.6%
Nivel socioeconómico		
Bueno	125	70.2%
Regular	32	18.0%
Malo	21	11.8%

obesidad. En cuanto a los antecedentes ginecoobstétricos el 70.2% tuvo su menarca entre los 12 y 14 años, el 59.6% de la población tuvo su primer relación entre los 16 y 20 años de edad, el 52% refiere haber tenido solo una pareja sexual, el 44.5% refirió tener de 3 a 5 embarazos, el 50% refirió tener su primer embarazo entre los 16 y 20 años, el 44% no había reglado en los últimos 12 meses y el 62% de la población refirió haberse realizado entre 1 y 5 Papanicolaou.

En cuanto al tabaquismo el 66.3% refirió nunca haber fumado antes y entre los que fumaron el 65% refirió haberlo iniciado entre los 11 y los 20 años de edad y solo el 31% continuaba fumando.

El 61.2% se encontraba en estadio IIB y el 38% en estadio IIIB, el tipo histológico más frecuente fue el epidermoide en el 78% de los casos, seguido del adenocarcinoma con el 16% y por último el adenoescamoso con el 5.1%. El 46% no recibió radio terapia, el 45% no recibió quimioterapia y solo 15.7% no recibió braquiterapia. Solo 113 de los pacientes estudiados tuvieron respuesta a

Tabla 3. Analisis bivariado de la respuesta al tratamiento estandar a las 8 semanas

Diagnostico y Tratamiento	n	%
Reporte Histopatológico rec.		
Epidermoide	139	78.1%
Adenocarcinoma	30	16.9%
Adenoescamoso	9	5.1%
Etapa Clínica Recodificada		
IIB	109	61.2%
IIIB	69	38.8%
No de ciclos de RT recibidos		
No recibio RT	83	46.6%
1	2	1.1%
2	4	2.2%
3	11	6.2%
4	8	4.5%
5	48	27.0%
6	22	12.4%
No de ciclos de QT recibidos		
No recibio QT	81	45.5%
1	3	1.7%
2	5	2.8%
3	12	6.7%
4	5	2.8%
5	51	28.7%
6	19	10.7%
7	2	1.1%
No. de sesiones de Braquiterapia		
No recibio BQTX	28	15.7%
1	1	0.6%
2	1	0.6%
3	107	60.1%
4	39	21.9%
5	2	1.1%

tratamiento, al dividirse por etapa, en la etapa IIB la respuesta al tratamiento fue del 70.6% y en la etapa IIIB fue del 52.2%. En cuanto a los resultados del VPH, se observó positivo en PCR solo a 77 (43%) de las muestras, del tipo 16 en el 36%, 18 en el 6.2%, el 33 en el 2.2%. La media de la carga viral por técnica de captura de híbridos fue de 77.09 por lo que fue tomado como valor de corte 85. El porcentaje observado por debajo de la mediana fue de 49.7%

Análisis Bivariado

En el análisis bivariado no se observó asociación entre la respuesta o no al tratamiento inicial con el tipo de VPH, haber fumado alguna vez en la vida, el tipo histológico, o la carga viral, sin

!

embargo si se observó asociación con la etapa clínica, observando un mayor riesgo a no responder al tratamiento en pacientes con etapa IIIB en comparación con las etapas IIB (OR 2.20 IC 95% 1.17 - 4.12, $p = 0.01$), un papel protector a quienes recibieron radio terapia (OR 0.38 IC 95% 0.20 - 0.70, $p = 0.001$), quimioterapia (OR 0.35 IC 95% 0.19 - 0.66, $p = 0.002$) y braquiterapia (OR 0.27 IC

Tabla 3. Analisis bivariado de la respuesta al tratamiento estandar a las 8 semanas

Factor de Riesgo	Sin Respuesta a		Con Respuesta		Razon de momios cruda (IC 95%)	Valor de P
	n	%	n	%		
Debajo de la Mediana	37	56.9%	53	46.9%	1.49 (0.80 - 2.76)	0.216
VPH 16	28	75.7%	37	59.7%	2.10 (0.84 - 5.20)	0.128
VPH 18	5	13.5%	6	9.7%	1.45 (0.41 - 5.16)	0.742
VPH 33	1	2.7%	3	4.8%	0.54 (0.05 - 5.45)	1.000
Etapa IIIB / IIB	33	50.8%	36	31.9%	2.20 (1.17 - 4.12)	0.016
Ha fumado en la vida	26	40.0%	34	30.1%	1.54 (0.81 - 2.93)	0.191
Tipo Histologico						
Epidermoide	48	73.8%	91	80.5%	1	
Adenocarcinoma	12	18.5%	18	15.9%	1.26 (0.56 - 2.84)	0.674
Adenoescamoso	5	7.7%	4	3.5%	2.36 (0.60 - 9.23)	0.282
Radioterapia	25	38.5%	70	61.9%	0.38 (0.20 - 0.70)	0.003
Quimioterapia	25	38.5%	72	63.7%	0.35 (0.19 - 0.66)	0.002
Braquiterapia	39	60.0%	111	98.2%	0.27 (0.006 - 0.11)	<0.001

95% 0.006 - 0.11, $p < 0.001$).

Análisis Multivariado

Al ajustar la asociación de la carga viral por debajo de la mediana con una mala respuesta al tratamiento por potenciales confusores como tipos virales, etapa clínica, haber fumado alguna vez en la vida, tipo histológico y tratamiento, se observó que la asociación que inicialmente era de riesgo (OR 1.49 IC 95% 0.80 - 2.76, $p = 0.2$) disminuye de fuerza (OR 1.02 IC 95% 0.34 - 3.04, $p = 0.9$) concluyendo que dicha asociación tanto en el bivariado como en el multivariado fue por azar. Las otras asociaciones observadas como la etapa clínica, la radio terapia o la quimioterapia desaparecen, manteniéndose únicamente un papel protector de las sesiones de braquiterapia con la respuesta al tratamiento.

Tabla 4. Analisis multivariado de la respuesta al tratamiento ajustado por potenciales confusores

Factor de Riesgo	Razon de momios Ajustada (IC 95%)	Valor de P
Debajo de la Mediana	1.02 (0.34 - 3.04)	0.969
VPH 16	0.30 (0.07 - 1.34)	0.115
VPH 18	0.36 (0.06 - 2.27)	0.277
VPH 33	7.19 (0.07 - 794.82)	0.411
Etapas IIB / IIIB	1.44 (0.46 - 4.46)	0.531
Ha fumado en la vida	0.56 (0.19 - 1.66)	0.296
Tipo Histologico		
Epidermoide	1	
Adenocarcinoma	1.01 (0.28 - 3.66)	0.990
Adenoescamoso	0.35 (0.00 - 275.89)	0.755
Radioterapia	1.59 (0.07 - 34.79)	0.768
Quimioterapia	0.49 (0.02 - 10.66)	0.650
Braquiterapia	0.18 (0.06 - 0.52)	0.001

13. DISCUSION

En el estudio se encontró una respuesta al tratamiento estándar inicial del 63.5% con diferencias entre las etapas IIB y IIIB debido a la invasión que se presenta más avanzada en la etapa IIIB. Se observó también que aunque el tratamiento está estandarizado, en la aplicación debido a las características de cada paciente y su respuesta se individualiza y cada caso es tratado con ciertas diferencias, lo que explica que radioterapia, quimioterapia o braquiterapia, quedando únicamente en el tratamiento quirúrgico del cono. Al comparar la respuesta del tratamiento de acuerdo a la cantidad de carga viral se observó que no hubo diferencia entre los grupos, esto no es de extrañarse, teniendo en cuenta en primera que este es el primer estudio que analiza la respuesta al tratamiento inmediato al terminarlo, mientras que generalmente los estudios analizan su efecto a largo plazo.

Los estudios publicados que describen dicha relación son los publicados por Riou G et al, Harima Y et al y Kim JY.

En el estudio de Riou G et al se reportó en 106 pacientes que aquellos que se encontraban sin VPH tenían a los 5 años una supervivencia inferior al 40%, en comparación a aquellos que tenían la infección por VPH (70%) (RR 2.3, P <0.001), sugiriendo un rol importante de la presencia del VPH como factor benéfico, la diferencia entre este estudio y el realizado es que ellos realizando únicamente la identificación o no del virus del papiloma humano por hibridación del Southern blot y PCR a diferencia de nuestro estudio que ocupó los métodos y la captura de híbridos para cuantificar la cantidad de virus presentes, en ese año las técnicas para definir presencia o ausencia no eran las mismas que las actuales, por las

!

cuales muy posiblemente en esta época se identificó únicamente las cargas de virus más altas, a diferencia de la nuestra que tiene la posibilidad de identificar más tipos. (36)

En el estudio realizado por Harima Y, fue en 84 pacientes con cáncer cervicouterino (6 en etapa I, 10 en etapa II, 49 en etapa III y 19 en etapa IV) a través de un estudio longitudinal posterior a la radioterapia en Japón en el 2002 que reportó que aquellos pacientes sin VPH sobrevivieron menos que aquellos con VPH ($p = 0.007$) utilizando únicamente PCR para la identificación de presencia o ausencia. (37)

El estudio más parecido al propuesto fue el de Kim JY que en un seguimiento de 169 pacientes con CaCu (el 22% en etapa Ib, 55% en etapas IIa-IIb, 17% en etapas IIIa, IIIb, IVa y 6% en etapas IVb) en tratamiento con radioterapia encontró a través del método de captura de híbridos para identificación de carga viral que aquellos pacientes con cargas virales bajas mostraron menor periodo libre de la enfermedad, ajustando por distintas potenciales variables confusoras, a excepción de los distintos tipos del VPH o diversos tratamientos empleados. (38)

No solo se ha encontrado esta asociación en el cáncer cervicouterino, también se ha observado esta relación en otros cánceres, por ejemplo, el estudio realizado en cáncer orofaríngeo que comparó el efecto de la carga viral en el tratamiento con radioterapia realizado por Lindel K que demostró una mejor supervivencia en los pacientes con presencia de VPH ($RR = 0.31$; $P = 0.048$), o los realizados en cáncer de amígdala por Millen H, donde aquellos tumores con presencia del virus del papiloma humano tuvieron mejor pronóstico independientemente de la etapa, del género o de la edad. (49-50)

No todos los estudios han mostrado asociación, en el estudio realizado por De Boer M.A. et al en 75 pacientes con etapa clínica IB1 a II, encontró que la carga viral del VPH no tenía relación con la supervivencia a 5 años, sin embargo la desventaja de este estudio es que solo analizó los tipos 16 y 18, este estudio fue realizado por una PCR cuantitativa, técnica distinta a la realizada en el presente estudio, que tiene la ventaja de ser muy específica pero poco sensible. (42)

El realizado por Kang WD quien en 204 pacientes de etapa IB1 a IIA se les identificó por PCR el tipo VPH 18, encontrando una probabilidad de periodo libre de enfermedad a los 5 años en quienes no tenían VPH 18 del 78.4% en comparación de quienes si lo tenían 54.1%; $RR = 2.66$; $IC\ 95\% 1.43-4.93$; $P = 0.003$), sin embargo no encontró la carga viral del virus del VPH 18 asociación al periodo libre de enfermedad. (51)

Hasta el momento, ninguno de estos estudios analizó cual era el porcentaje de pacientes que terminado el tratamiento no tenían evidencia de la enfermedad, situación que da un pronóstico inmediato al tratamiento, esto genera una gran diferencia con los demás que estudian la respuesta a 2, 5 o más años después del tratamiento, mientras que este evalúa la respuesta a las 8 semanas, actualmente existe un constructo de teorías que sustentan estas diferencias en la respuesta basados en la carga viral.

!

Las evidencias actuales sugieren que la presencia del virus en el tumor por si solo mejora la respuesta inmune, se ha demostrado que las proteínas E6 y E7 son particularmente inmunogenicas, con la estimulación de la respuesta tanto humoral como celular, la cual puede prevalecer en las células infectadas. (52)

Incluso, otros estudios han demostrado que cuando el índice neutrófilos linfocitos se encuentra alto, esto quiere decir mayor cantidad de neutrófilos que linfocitos, se encuentra un peor pronóstico, lo que habla de una gran importancia de la respuesta inmune. (53)

Se ha observado, en el cáncer orofaríngeo, que aquellos tumores en los que no hay VPH, el tejido adyacente al tumor presenta mutaciones en la TP53 y desregulaciones en la P16^{INK4a}, (54), mientras que en los tumores relacionados a VPH, puesto que las regiones cromosomales 3p, 9p, y 17p se mantienen intactas. (55)

Tambien se ha demostrado que la presencia de P16 (INK4) no necesariamente implica la presencia de VPH, en una serie de 18 casos quienes tenían P16 (INK4) y no VPH tuvieron un peor pronóstico. (56)

En el 2011 Zhao W y et al, publicaron un estudio en el cual encontraron en 73 casos de adenocarcinoma de pulmón en etapas I y II mostraron peor pronóstico que aquellos sin P16(INK4) (18.5% vs 81.5% P = 0.004). (57)

Por lo tanto existen pueden existir dos factores contribuyendo en esta situación, el primero es la respuesta inmune que se tiene por el VPH y la segunda es que tal vez cuando el daño el E7 se encuentra ya integrado al genoma celular y no hay respuesta inmune que detenga este evento, el daño de la clona no puede ser contenido por el organismo.

El estudio sin embargo tiene unas limitaciones, entre estas están el propio objetivo del estudio, pues se intentó analizar la respuesta inicial, cuando muchos de los estudios buscan una respuesta tardía a la enfermedad, buscando si las células cancerígenas re aparecen o no. Lo que continua con este estudio es el seguimiento de los casos identificados con respuesta inicial por 5 años para determinar si efectivamente existe una diferencia como lo identifica la literatura descrita, pues inicialmente no fue encontrada alguna diferencia

La técnica de captura de híbridos podría tener menor especificidad que la PCR en tiempo real, sin embargo actualmente la técnica de captura de híbridos ya ha sido aprobada por la Sociedad Americana de Cáncer para la detección del virus, esto basado en el hecho en que ha demostrado una sensibilidad superior a la citología. (29, 58)

Por lo tanto, aunque no existe una respuesta al tratamiento a las 8 semanas de terminado, no descarta la posibilidad de observar una diferencia en la respuesta al tratamiento medido con periodo libre de la enfermedad y sobrevida basados en la carga viral al inicio

!

14. BIBLIOGRAFÍA

1. Zhang MJ, Katanoda K. Comparison of time trends in uterus cancer and cervix uteri cancer mortality (1990-2006) in the world, from the WHO Mortality Database. *Jpn J Clin Oncol*. 2010;40(1):98-9
2. <http://globocan.iarc.fr/> revisada el 14 de diciembre del 2010
3. <http://www.inegi.org.mx> revisada el 14 de noviembre del 2010
4. Gutiérrez-Trujillo G, Martínez-Montañez OG, Fernández-Gárate IH, Mejía-Rodríguez I, Reyes-Morales H. Análisis del descenso de la mortalidad por cáncer cervicouterino en el IMSS, 1991-2005. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc* 2006; 44 (Supl 1): S129-134
5. Palacio-Mejía LS, Lazcano-Ponce E, Allen-Leigh B, Hernández-Ávila M. Diferencias regionales en la mortalidad por cáncer de mama y cérvix en México entre 1979 y 2006. *Salud Publica Mex* 2009;51 supl 2:S208-S219.
6. Eifel PJ, Levenback C. *Cancer of the Female Lower Genital Tract*. BC Decker Inc. Primera Edición. Canadá. 2001.
7. Cotran R, Kumar V, Collins T. *Tumores del Aparato Reproductor Femenino en Patología Estructural y Funcional de Robbins, Mc Grow Hill-Interamericana*, Sexta edición. 2000: 642-697.
8. Tapia R, Kuri P, Macias C, De la Garza J, Mohar A, Meneses A, *et. al.* Registro histopatológico de neoplasias malignas en Mexico. *Direccion General de Epidemiologia. Secretaria de Salud. Mexico*. 1996:37-42
9. *AJCC Cancer Staging Manual: Uterine Cervix in American Joint Committee on Cancer*. Sexta edición. 2002:259-265
10. Teng N, Abu-Rustum NR, Bahador A, Bookman MA, Bristow RE, Campos S, *et. al.* Cervical cancer guidelines. *Clinical practice guidelines in oncology*. *J Natl Compr Canc Netw*. 2004;2(6):612-30.
11. Savarese A, Cognetti F. New drugs in the treatment of recurrent or metastatic cervical cancer. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2003;48(3):323-7.
12. *Guías para el Diagnóstico y Tratamiento del cáncer de Cérvix*. Servicio de Ginecología Oncológica. Unidad Médica de Alta Especialidad (UMAE) Hospital de Oncología. 2010.
13. Salas-Urrutia I, Villalobos EA, Ramírez-Vega BL. Prevalencia de displasia y cáncer cervicouterino y factores asociados en el hospital central de chihuahua, México. *CIMEL* 2006;1:12-15.
14. De Vitta VT, Hellman S, Rosenberg SA. *Cancer, Principles & Practice of Oncology*. 6ta Edicion. Filadelfia, Estados Unidos 2001
15. Toita T, Kato S, Niibe Y, Ohno T, Kazumoto T, Kodaira T, *et al.* Prospective Multi-Institutional Study of Definitive Radiotherapy With High -Dose-Rate Intracavitary Brachytherapy in Patients With Nonbulky (<4-cm) Stage I and II Uterine Cervical

- Cancer (JAROG0401/JROSG04-2). *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2011 Apr 4. [Epub ahead of print]
16. Tavares MB, Sousa RB, Oliveira e Silva T, Moreira LA, Silva LT, Tavares CB, , *et al.* Prevalence of prognostic factors for cancer of the uterine cervix after radical hysterectomy. *Sao Paulo Med J.* 2009;127(3):145-9.
 17. Martin-Loeches M, Ortí RM, Cazorla E, Asins E, Llixiona J. Multivariate analysis of the morphometric characteristics of tumours as prognostic factors in the survival of patients with uterine cervix cancer treated with radical surgery. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2002;105(2):170-6
 18. Hopkins MP, Morley GW. Prognostic factors in advanced stage squamous cell cancer of the cervix. *Cancer.* 1993;72(8):2389-93.
 19. Bolli JA, Maners A. Age as a prognostic factor in cancer of the cervix: the UAMS experience. *J Ark Med Soc.* 1992;89(2):79-83.
 20. Potish RA, Twiggs LB, Adcock LL, Prem KA, Savage JE, Leung BS. Prognostic importance of progesterone and estrogen receptors in cancer of the uterine cervix. *Cancer.* 1986;58(8):1709-13.
 21. Wongsabut J, Prasitwattanaseree S, Traisathit P, Chitapanarux I, Lorvidhaya V. Prognostic factors for cervical cancer patients stages IB-IVA treated by radiotherapy with or without chemotherapy. *Journal of Statics & Management Systems* 2011;1:43-57
 22. Castellsagué X. Natural history and epidemiology of HPV infection and cervical cancer. *Gynecol Oncol.* 2008;110(3 Suppl 2):S4-7.
 23. Velázquez-Márquez N, Paredes-Tello MA, Pérez-Terrón H, Santos-López G, Reyes-Leyva J, Vallejo-Ruiz V. Prevalence of human papillomavirus genotypes in women from a rural region of Puebla, Mexico. *Int J Infect Dis.* 2009;13(6):690-5.
 24. Orozco-Colín A, Carrillo-García A, Méndez-Tenorio A, Ponce-de-León S, Mohar A, Maldonado-Rodríguez R, *et al.* Geographical variation in human papillomavirus prevalence in Mexican women with normal cytology. *Int J Infect Dis.* 2010 Dec;14(12):e1082-7
 25. Hebner CM, Laminis LA. Human papillomaviruses: basic mechanisms of pathogenesis and oncogenicity. *Rev Med Virol.* 2006; 16: 83-97
 26. Matsukura M, Sugase M. Identification of genital human papillomaviruses in cervical biopsy specimens: segregation of specific virus types. *Hum Pathol* 1995; 61: 13-22
 27. Flores YN, Bishai DM, Shah KV, Lazcano-Ponce E, Lörincz A, Hernández M, *et al.* Risk factors for cervical cancer among HPV positive women in Mexico. *Salud Publica Mex.* 2008;50(1):49-58.

28. Bosch FX, Lorincz A, Muñoz N, Meijer CJ, Shah KV. The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer. *J Clin Pathol.* 2002;55(4):244-65.
29. Saslow D, Runowicz CD, Solomon D, Moscicki AB, Smith RA, Eyre HJ, Cohen C. American Cancer Society guideline for the early detection of cervical neoplasia and cancer. *CA Cancer J Clin.* 2002;52(6):342-62.
30. Muñoz N, Bosch FX, de Sanjosé S, Herrero R, Castellsagué X, Shah KV, et. al. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *N Engl J Med.* 2003;348(6):518-27.
31. Bosch FX, Manos MM, Muñoz N, Sherman M, Jansen AM, Peto J, et. al. Prevalence of human papillomavirus in cervical cancer: a worldwide perspective. International biological study on cervical cancer (IBSCC) Study Group. *J Natl Cancer Inst.* 1995;87(11):796-802.
32. Walboomers JM, Jacobs MV, Manos MM, Bosch FX, Kummer JA, Shah KV, et. al. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol.* 1999;189(1):12-9
33. Mandic A, Vujkov T. Human papillomavirus vaccine as a new way of preventing cervical cancer: a dream or the future?. *Ann Oncol.* 2004 Feb;15(2):197-200.
34. Hernández-Hernández DM, Ornelas-Bernal L, Guido-Jiménez MC, Apresa-García T, Alvarado-Cabrero I, Salcedo-Vargas M, et. al. Association between High-risk Human Papillomavirus DNA load and Precursor Lesions of Cervical Cancer in Mexican Women. *Ginecol Oncol* 2003; 90:310-317
35. Unger ER, Vernon SD, Thoms WW, Nisenbaum R, Spann CO, Horowitz IR, Icenogle JP. Human papillomavirus and disease-free survival in FIGO stage Ib cervical cancer. *J Infect Dis.* 1995;172(5):1184-90.
36. Riou G, Favre M, Jeannel D, Bourhis J, Le Doussal V, Orth G. Association between poor prognosis in early-stage invasive cervical carcinomas and non-detection of HPV DNA. *Lancet* 1990;335:1171-1174.
37. Harima Y, Sawada S, Nagata K, Sougawa M, Ohnishi T. Human Papilloma Virus (HPV) DNA associated with prognosis of cervical cancer after radiotherapy. *Int J Radiation Oncology Biol Phys* 2002;52:1345-1351.
38. Lombard I, Vincent-Salomon A, Validire P, Zafrani B, de la Rochefordière A, Clough K, et. al.. Human papillomavirus genotype as a major determinant of the course of cervical cancer. *J Clin Oncol* 1998;16:2613-2619.
39. Kim JY, Park S, Nam BH, Roh JW, Lee CH, Kim YH, et. al. Low initial human papilloma viral load implicates worse prognosis in patients with uterine cervical cancer treated with radiotherapy. *J Clin Oncol.* 2009;27:5088-93.
40. Nagai Y, Toma T, Moromizato H, Maehama T, Asato T, Kariya K, et. al. Persistence of human papilloma virus infection as a predictor for recurrence in carcinoma of the cervix after radiotherapy. *Am J Obstet Gynecol.* 2004;191:1907-1913.

41. Kim JY, Nam BH, Lee JA. Is human papillomavirus genotype an influencing factor on radiotherapy outcome? Ambiguity caused by an association of HPV 18 genotype and adenocarcinoma histology. *J Gynecol Oncol.* 2011;22(1):32-8.
42. De Boer MA, Jordanova ES, Kenter GG, Peters AA, Corver WE, Trimbos JB, *et al.* High human papillomavirus oncogene mRNA expression and not viral DNA load is associated with poor prognosis in cervical cancer patients. *Clin Cancer Res.* 2007;13(1):132-8.
43. Licitra L, Perrone F, Bossi P, Suardi S, Mariani L, Artusi R, *et al.* High-risk human papillomavirus affects prognosis in patients with surgically treated oropharyngeal squamous cell carcinoma. *J Clin Oncol.* 2006;24(36):5630-6.
44. Jamison J, Wilson RT, Carson J. The evaluation of human papillomavirus genotyping in cervical liquid-based cytology specimens; using the Roche Linear Array HPV genotyping assay. *Cytopathology.* 2009;20(4):242-8.
45. Monsonogo J, Pollini G, Evrard MJ, Sednaoui P, Monfort L, Quinzat D, *et al.* Linear array genotyping and hybrid capture II assay in detecting human papillomavirus genotypes in women referred for colposcopy due to abnormal Papanicolaou smear. *Int J STD AIDS* 2008;19(6):385-92.
46. Steinau M, Swan DC, Unger ER. Type-specific reproducibility of the Roche linear array HPV genotyping test. *J Clin Virol* 2008;42(4):412-4.
47. van Hamont D, van Ham MA, Bakkers JM, Massuger LF, Melchers WJ. Evaluation of the SPF10-INNO LiPA human papillomavirus (HPV) genotyping test and the roche linear array HPV genotyping test. *J Clin Microbiol* 2006;44(9):3122-9.
48. Kulasingam SL, Hughes JP, Kiviat NB, Mao C, Weiss NS, Kuypers JM, Koutsky LA. Evaluation of human papillomavirus testing in primary screening for cervical abnormalities: comparison of sensitivity, specificity, and frequency of referral. *JAMA.* 2002 Oct 9;288(14):1749-57.
49. Lindel K, Beer KT, Laissue J, Greiner RH, Aebbersold DM. Human papillomavirus positive squamous cell carcinoma of the oropharynx: a radiosensitive subgroup of head and neck carcinoma. *Cancer.* 2001;92(4):805–813
50. Mellin H, Friesland S, Lewensohn R, Dalianis T, Munck-Wikland E. Human papillomavirus (HPV) DNA in tonsillar cancer: clinical correlates, risk of relapse, and survival. *Int J Cancer.* 2000 May 20;89(3):300-4.
51. Kang WD, Kim CH, Cho MK, Kim JW, Cho HY, Kim YH, Choi HS, Kim SM. HPV-18 is a poor prognostic factor, unlike the HPV viral load, in patients with stage IB-IIA cervical cancer undergoing radical hysterectomy. *Gynecol Oncol.* 2011 Jun 1;121(3):546-50. Epub 2011 Feb 21.
52. Bosch FX, Rohan T, Schneider A, *et al.* Papilloma virus research update: Highlights of the Barcelona HPV 2000 International Papilloma virus Conference. *J Clin Pathol* 54:163-175, 2001

53. Lee YY, Choi CH, Kim HJ, Kim TJ, Lee JW, Lee JH, Bae DS, Kim BG. Pretreatment neutrophil:lymphocyte ratio as a prognostic factor in cervical carcinoma. *Anticancer Res.* 2012 Apr;32(4):1555-61.
54. Braakhuis BJ, Tabor MP, Leemans CR, van der Waal I, Snow GB, Brakenhoff RH. Second primary tumors and field cancerization in oral and oropharyngeal cancer: molecular techniques provide new insights and definitions. *Head Neck.* 2002 Feb;24(2):198-206.
55. Braakhuis BJ, Snijders PJ, Keune WJ, et al. Genetic patterns in head and neck cancers that contain or lack transcriptionally active human papillomavirus. *J Natl Cancer Inst.* 2004;96(13):998–1006.
56. Masand RP, El-Mofty SK, Ma XJ, Luo Y, Flanagan JJ, Lewis JS Jr. Adenosquamous carcinoma of the head and neck: relationship to human papillomavirus and review of the literature. *Head Neck Pathol.* 2011 Jun;5(2):108-16. Epub 2011 Feb 9.
57. Zhao W, Huang CC, Otterson GA, Leon ME, Tang Y, Shilo K, Villalona MA. Altered p16(INK4) and RB1 Expressions Are Associated with Poor Prognosis in Patients with Nonsmall Cell Lung Cancer. *J Oncol.* 2012;2012:957437. Epub 2012 Apr 30.
58. Clavel C, Masure M, Bory JP, Putaud I, Mangeonjean C, Lorenzato M, Gabriel R, Quereux C, Birembaut P. Hybrid Capture II-based human papillomavirus detection, a sensitive test to detect in routine high-grade cervical lesions: a preliminary study on 1518 women. *Br J Cancer.* 1999 Jul;80(9):1306-11.

15. ANEXOS

ANEXO 1

TABLA-1
ETAPA CLINICA DE ACUERDO A LA FIGO PARA CÁNCER CERVICO UTERINO

Etapa clínica de la FIGO	Descripción
-	Tumor primario no valorable
-	No evidencia de tumor primario
0	Carcinoma in situ
I	Carcinoma confinado al utero (la extensión al utero no se toma en cuenta)
IA	Carcinoma invasor solo demostrable con microscopia
IA1	Invasión al estroma de 3mm o < en profundidad y 7mm de longitud o <
IA2	Invasión estromal >3mm y <5mm en profundidad y 7mm de longitud o <
IB	Lesión clínicamente visible confinada al cérvix o lesión microscopica > de IA2
IB1	Lesión clínicamente visible de 4cm o < en su diámetro mayor
IB2	Lesión clínicamente visible >4cm en su diámetro mayor
II**	Lesión cervical que invade útero, sin afectar la pared pélvica, ni el tercio inferior de la vagina
IIA	Tumor sin invasión parametrial o a los dos tercios superiores de vagina
IIB	Tumor con invasión a uno o a los dos parametrios
III**	Tumor que se extiende a la pared pélvica y/o involucra el tercio inferior de vagina y/o provoca hidronefrosis* y/o falla renal
IIIA	Tumor que involucra el tercio inferior de vagina y no se extiende a pared pélvica
IIIB	Tumor que se extiende a pared pélvica y/o causa hidronefrosis y/o falla renal
IVA	Tumor que invade mucosa de vejiga o recto y/o se extiende a la pelvis verdadera
IVB	Metástasis a distancia

*La Hidronefrosis detectada por cualquier estudio de imagen (urografía excretora, USG o TAC)

**La mayor parte de la población en nuestro centro hospitalario se encuentra en etapas clínicas IIB a IIIB correspondiendo al 80% aproximadamente.

ANEXO 2



**INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
UNIDAD MEDICA DE ALTA ESPECIALIDAD
HOSPITAL DE ONCOLOGIA, CMN SIGLO XXI
UNIDAD DE INVESTIGACIÓN MEDICA EN ENFERMEDADES ONCOLÓGICAS**

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

NOMBRE DEL ESTUDIO:	<i>Carga viral del virus de Papiloma Humano y su relación con la respuesta al tratamiento en pacientes con cáncer cervicouterino</i>
LUGAR Y FECHA:	México, D. F., a _____ de _____ del _____.
NUMERO DE REGISTRO	_____
JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVO DEL ESTUDIO.	El estudio ofrecerá información sobre la respuesta que tendré al tratamiento oncológico que se recibirá en este hospital; por lo cual el objetivo de la investigación es: <i>“Determinar el efecto de la carga viral del Virus de Papiloma Humano en la respuesta al tratamiento para cáncer cervicouterino”.</i>
PROCEDIMIENTOS:	Se tomara una muestra de células del cuello de la matriz, mediante un cepillado durante la revisión que hace normalmente el medico en la consulta, y así identificar la presencia de virus del papiloma humano (VPH). Esta toma se llevará a cabo independiente del procedimiento diagnóstico habitual para la atención médica.
POSIBLES RIESGOS Y MOLESTIAS	Se informa también que este procedimiento no es de alto riesgo, que la decisión del tratamiento que se recibirá no dependerá del resultado, por lo que el médico tratante informará el plan a seguir sin interferencia de este estudio. Las molestias posteriores a este procedimiento pueden ser de un sangrado ligero, que irá disminuyendo poco a poco como si fuera un sangrado de menstruación. Puede presentarse dolor ligero a moderado en el vientre bajo o bien en la parte baja de la espalda.
POSIBLES BENEFICIOS QUE RECIBIRÁ AL PARTICIPAR EN EL ESTUDIO	El presente estudio no me ofrecerá ningún tipo de beneficio directo, ya que los resultados que se obtengan beneficiarán a futuras pacientes que son afectadas por la misma enfermedad que padezco.
INFORMACION SOBRE RESULTADOS Y ALTERNATIVAS DE TRATAMIENTO	El Investigador Responsable se ha comprometido a dar información oportuna sobre cualquier procedimiento alternativo adecuado que pudiera ser ventajoso para el tratamiento, así como a responder cualquier pregunta y aclarar cualquier duda que se plantee acerca de los procedimientos que se llevarán a cabo, los riesgos, beneficios o cualquier otro asunto relacionado con la investigación o con el tratamiento. En caso que saliera un resultado positivo del virus del papiloma humano, tiene que quedar claro que El virus del papiloma humano es un virus que se contagia muchas veces por vía sexual, pero este virus pudo haberse contagiado hace muchos años por algún contacto sexual de la paciente o su pareja, de tanto tiempo atrás, incluso mucho antes de haberse conocido.
PARTICIPACION O RETIRO	El participante tiene el derecho de retirarse del estudio en cualquier momento en que lo considere conveniente, sin que ello afecte la atención médica que recibe en el Instituto.

!



**INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
UNIDAD MEDICA DE ALTA ESPECIALIDAD
HOSPITAL DE ONCOLOGÍA, CMN SIGLO XXI
UNIDAD DE INVESTIGACIÓN MEDICA EN ENFERMEDADES ONCOLÓGICAS**

**PRIVACIDAD Y
CONFIDENCIALIDAD**

El Investigador Responsable me ha dado seguridad de que no se me identificará en las presentaciones o publicaciones que deriven de este estudio y de que los datos relacionados con mi privacidad serán manejados en forma estrictamente confidencial. También se han comprometido a proporcionarme la información actualizada que se obtenga durante el estudio, aunque esta pudiera cambiar de parecer respecto a mi permanencia en el mismo.

Anotar con una "X" en el recuadro correspondiente de acuerdo con la autorización del paciente.

**EN CASO DE COLECCIÓN
DE MATERIAL BIOLÓGICO**

<input type="checkbox"/>	No autoriza que se tome la muestra
<input type="checkbox"/>	Si autorizo que se tome la muestra solo para este estudio
<input type="checkbox"/>	Si autorizo que se tome la muestra para este estudio y estudios

**DISPONIBILIDAD DE
TRATAMIENTO MEDICO EN
DERECHOAHIENTES.**

Se me ha informado ampliamente que mi participación en el estudio no causara ningún daño y/o efecto secundario por lo que yo tuviera que requerir alguna atención médica adicional a la que se me proporciona por mi padecimiento en este hospital.

**BENEFICIOS AL TERMINO
DEL ESTUDIO**

Los investigadores responsables me han explicado ampliamente que al término del estudio si así yo lo requiero se me proporcionará toda la información de mi participación en el estudio.

**EN CASO DE DUDAS O
ACLARACIONES
RELACIONADAS CON EL
ESTUDIO PODRÁ DIRIGIRSE
A:**

Investigador Responsable

Colaborador

Dra. Dulce Ma. Hernández Hernández:
Tel. 56276900 EXT 22703

Dr. Rafael Arias Flores
Tel. (044) 5533014172

En caso de dudas o aclaraciones sobre sus derechos como participante podrá dirigirse a: Comisión de Ética de Investigación de la CNIC del IMSS: Avenida Cuauhtémoc No. 330 4º piso Bloque B de la Unidad de Congresos, Col. Doctores. México, D.F., C.P. 06720. Teléfono (55) 56 27 69 00 extensión 21230, Correo electrónico: conise@cis.gob.mx.

Nombre y firma del paciente

Nombre, firma y matricula del
investigador responsable

Nombre y firma del testigo

Nombre y firma de quien obtiene el
consentimiento

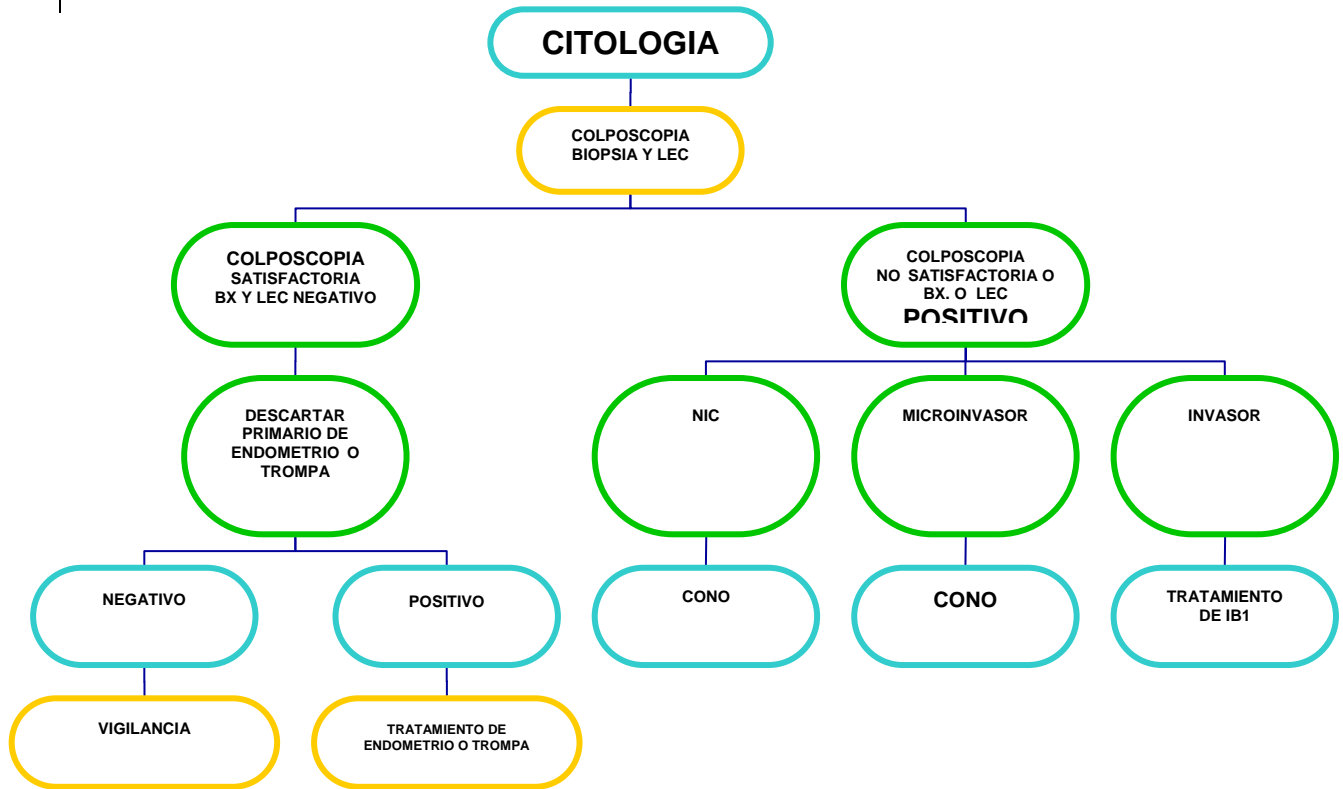
Nombre y firma del Testigo

!

ANEXO 3

Algoritmos de Tratamiento Del Hospital de Oncología del Centro Médico Nacional Siglo XXI

FIGURA 1



!

FIGURA 2

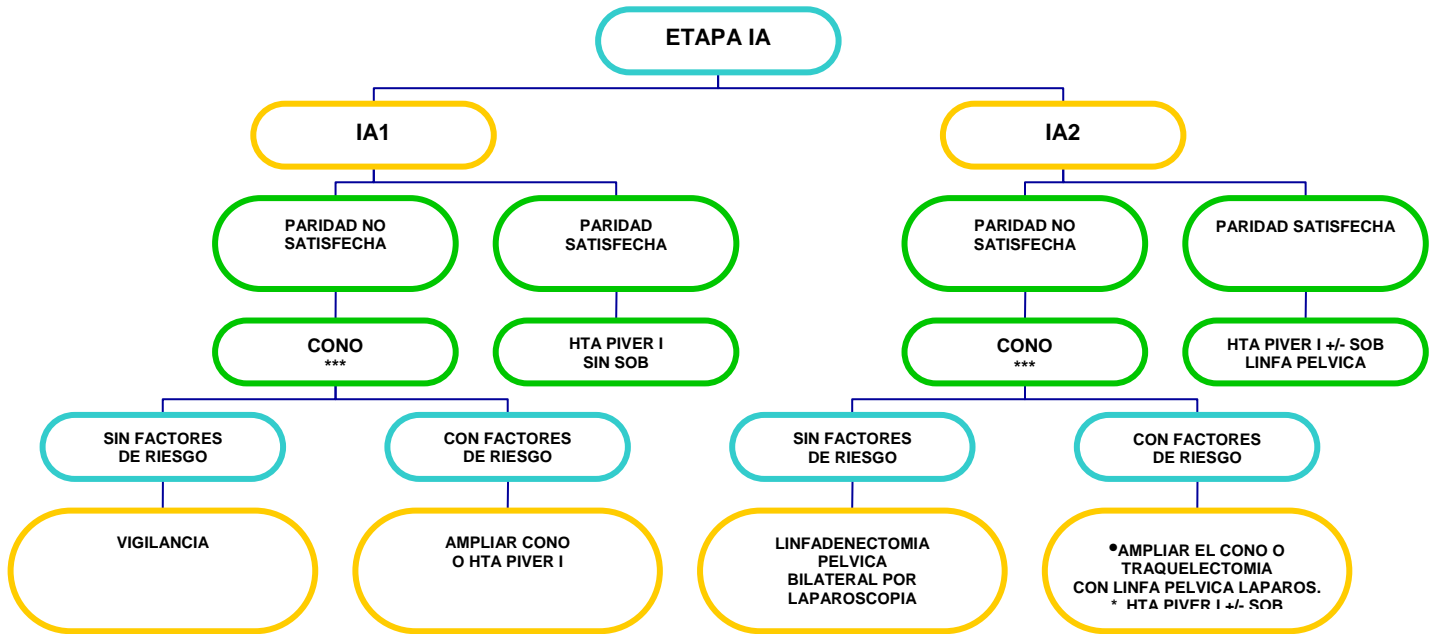
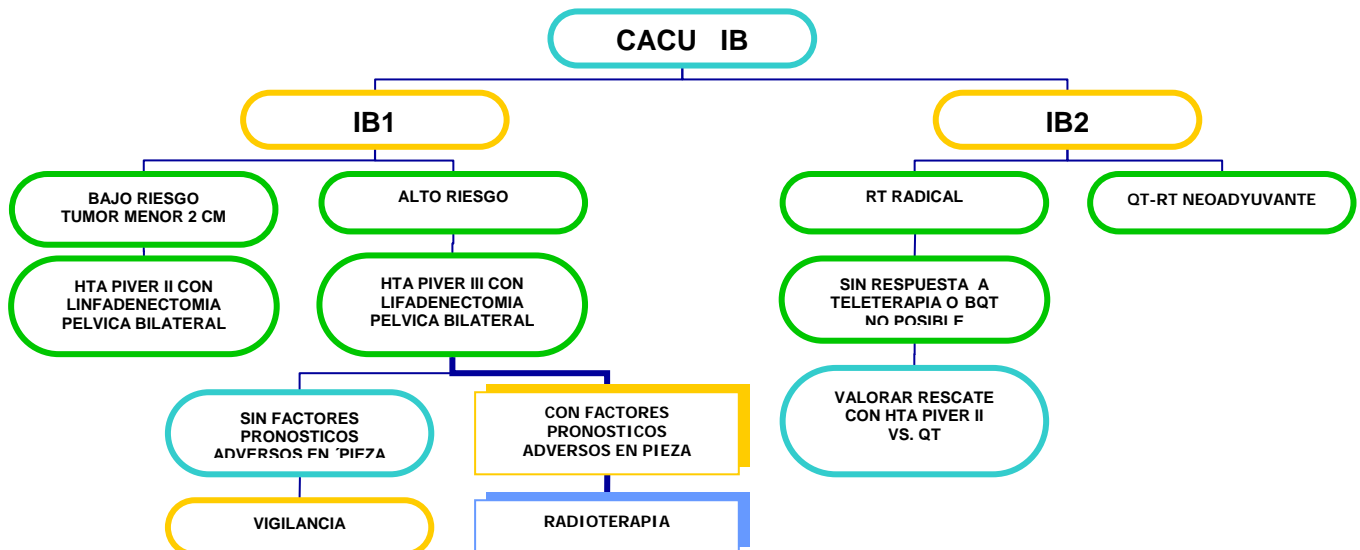
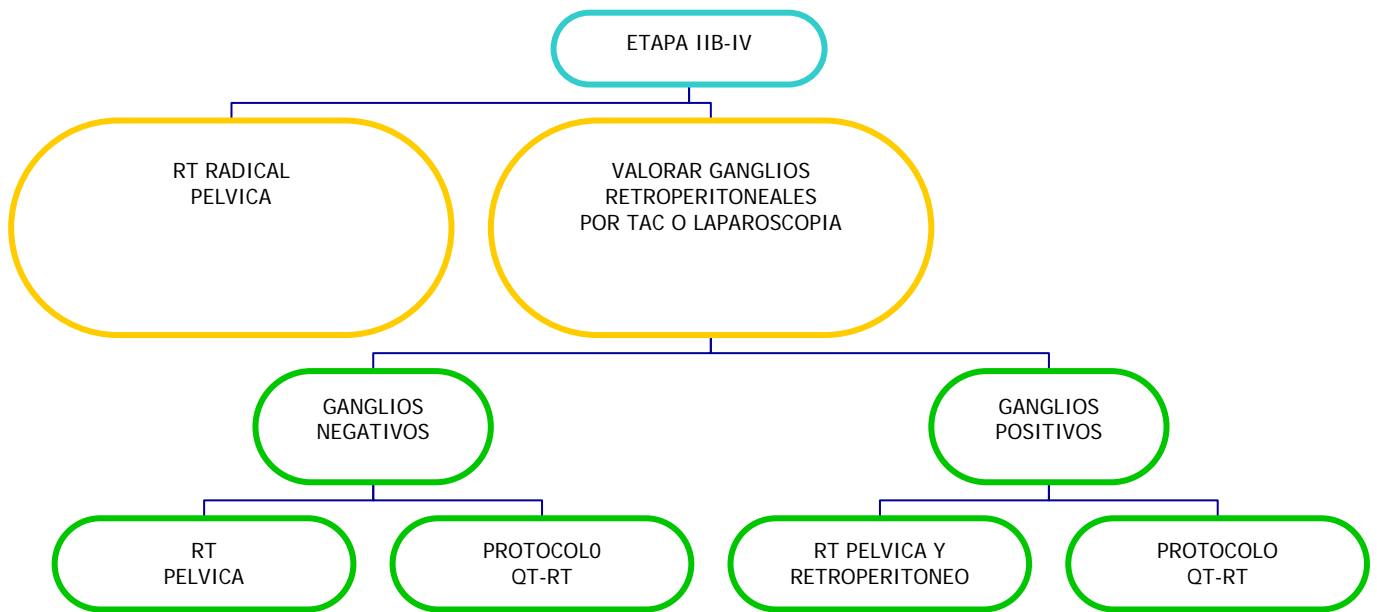


FIGURA 3



!

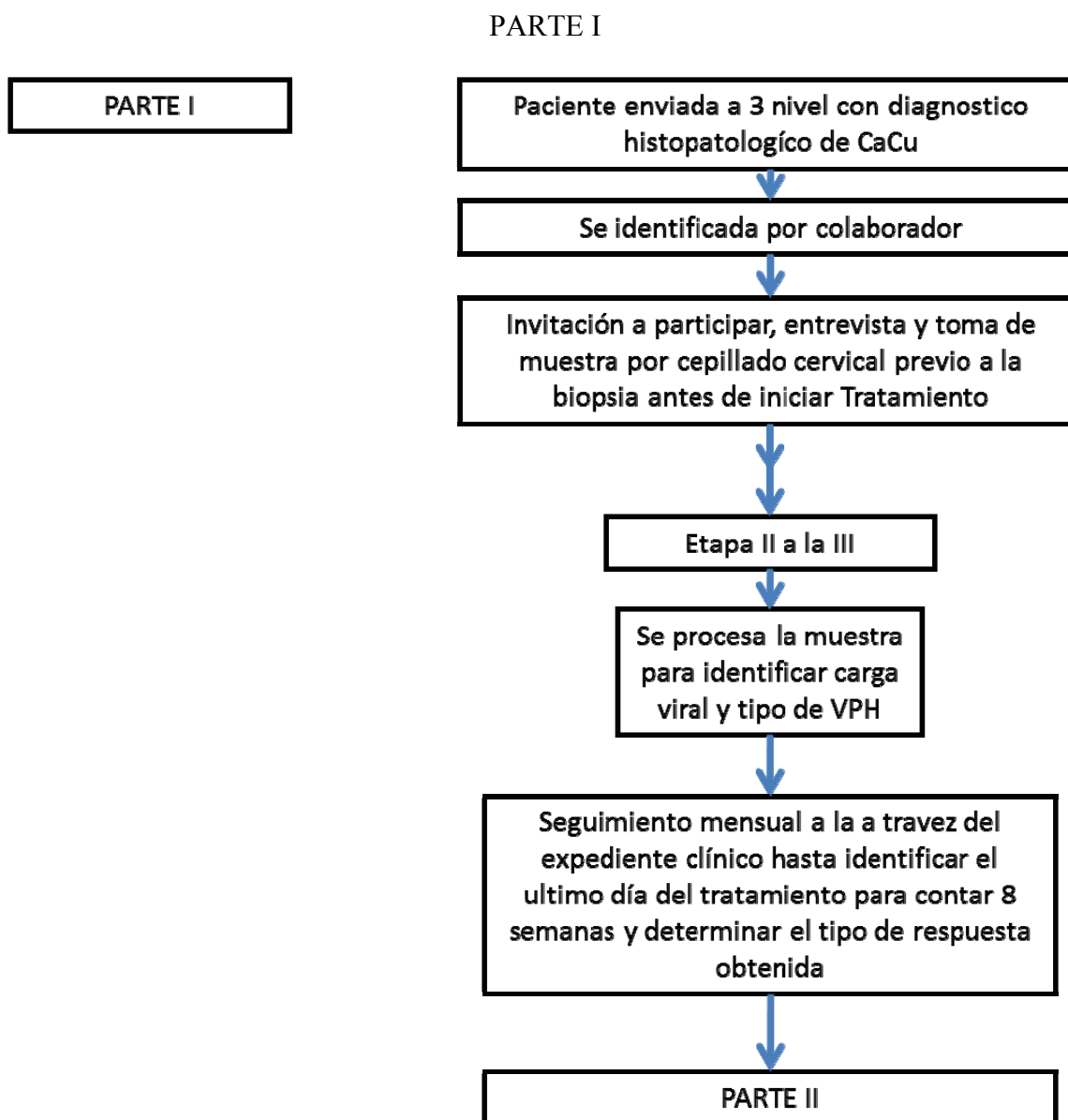
FIGURA 4



!

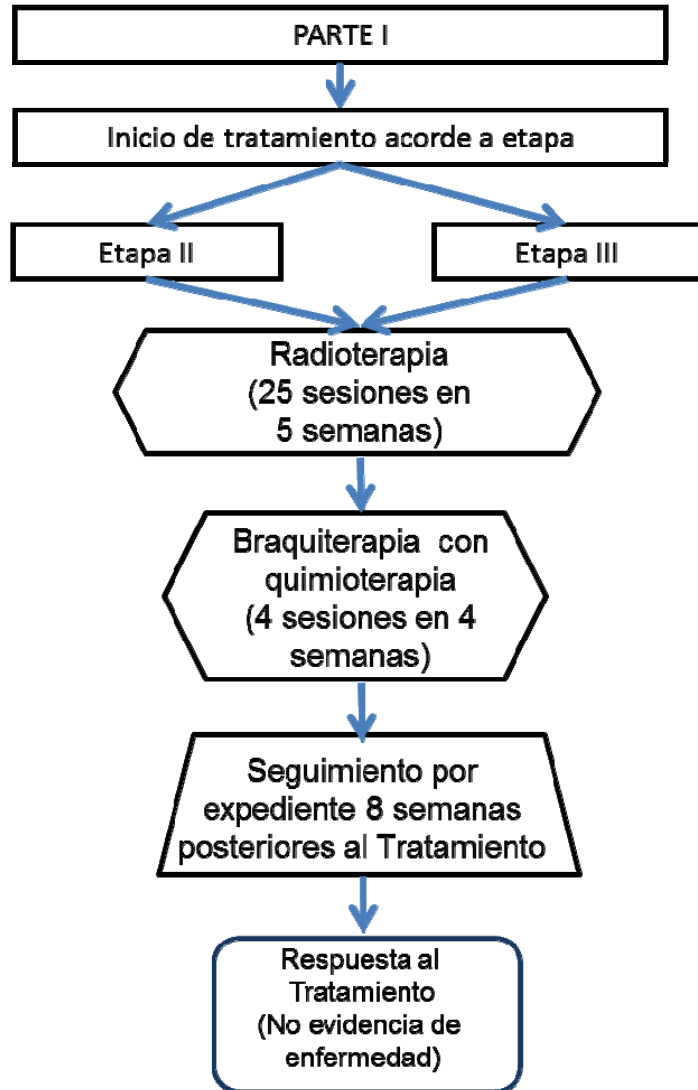
ANEXO 4

Diagrama de flujo del seguimiento a realizar en el protocolo: “Carga viral del Virus de Papiloma Humano y su relación con la respuesta al tratamiento en pacientes con CaCu”



PARTE II

PARTE II



!