



Facultad de Medicina



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO.

FACULTAD DE MEDICINA.

SE PRESENTA LA TESIS TITULADA:

VALOR PREDICTIVO DE LA INFECCION POR VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO PARA LA RESPUESTA AL TRATAMIENTO CON CETUXIMAB Y RADIOTERAPIA (BIORADIOTERAPIA) EN PACIENTES CON CANCER DE CAVIDAD ORAL Y OROFARINGE.

PARA OBTENER EL GRADO DE ESPECIALISTA EN:

CIRUGIA ONCOLOGICA ADULTOS.

PRESENTA:

DR. FERNANDO JOSAFAT ARDISSON ZAMORA.

ASESOR:

DR. ARTURO PABEL MIRANDA AGUIRRE.

MEXICO, DISTRITO FEDERAL A 17 AGOSTO DEL 2015.



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

PAGINA DEL CONSEJO PARTICULAR

Esta tesis fue realizada bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para la obtención del grado de:

SUB-ESPECIALISTA EN: **CIRUGIA ONCOLOGICA.**

México, Distrito Federal a 17 Agosto del 2015.

CONSEJO PARTICULAR

ASESOR: DR. ARTURO PABEL MIRANDA AGUIRRE.

CIRUJANO ONCOLOGO ADSCRITO A LA CLINICA DE SARCOMAS DEL CENTRO MEDICO NACIONAL "20 DE NOVIEMBRE". ISSSTE.

MAESTRO EN CIENCIAS MEDICAS.

ASESORES ADJUNTOS:

DR. ALEJANDRO JUAREZ RAMIRO. ONCOLOGO MEDICO ADSCRITO AL SERVICIO DE TUMORES DE CABEZA Y CUELLO, CENTRO MEDICO NACIONAL "20 DE NOVIEMBRE". ISSSTE.

DRA. MICHELLE VILLAVICENCIO QUEIJEIRO. RADIO-ONCOLOGO. ADSCRITO AL SERVICIO DE TUMORES DE CABEZA Y CUELLO, CENTRO MEDICO NACIONAL "20 DE NOVIEMBRE". ISSSTE.

DRA. AURA ARGENTINA ERAZO VALLE. ONCOLOGO MEDICO. JEFA DE ENSEÑANZA E INVESTIGACION, CENTRO MEDICO NACIONAL "20 DE NOVIEMBRE". ISSSTE.

DRA. SOFIA ALCARAZ ESTRADA. JEFA DEL SERVICIO DE GENOMICA. CENTRO MEDICO NACIONAL "20 DE NOVIEMBRE". ISSSTE.

DR. JOSUE MORA PEREZ. RESIDENTE DE ONCOLOGIA MÉDICA. CENTRO MEDICO NACIONAL "20 DE NOVIEMBRE". ISSSTE.

CONSEJO PARTICULAR

**JEFATURA DE ENSEÑANZA E INVESTIGACION DEL CENTRO MEDICO
NACIONAL "20 DE NOVIEMBRE". ISSSTE.**

DRA. AURA ARGENTINA ERAZO VALLE.

**JEFATURA DE ENSEÑANZA E INVESTIGACION DEL CENTRO MEDICO
NACIONAL "20 DE NOVIEMBRE". ISSSTE.**

DR. RAUL ARNOLDO ESPARZA AVILA.

**JEFE DE SERVICIO DE CIRUGIA ONCOLOGICA, CENTRO MEDICO
NACIONAL "20 DE NOVIEMBRE", ISSSTE.**

DR. JORGE RAMIREZ HEREDIA.

ASESOR DE TESIS.

DR. ARTURO PABEL MIRANDA AGUIRRE.

HONORABLE JURADO

PRESIDENTE: DR SEIR ALFONSO CORTES CARDENAS

VOCAL: DR SERGIO HERNANDEZ GARCIA

VOCAL: DRA LETICIA ROSAS ZUÑIGA.

AGRADECIMIENTOS

A TODOS LOS QUE INTERVINIERON EN MI FORMACION COMO CIRUJANO ONCOLOGO.

ESPECIAL AGRADECIMIENTO A MI FAMILIA, PADRES, HERMANOS Y ABUELOS.

LIC. SILVIA RAQUEL ZAMORA RABAGO

DR. FERNANDO PORFIRIO ARDISSON HERRERA

LIC. CARLOS ALBERTO ARDISSON ZAMORA

ABRIL FABIOLA DE JESUS ARDISSON ZAMORA

MARCOS PAUL ARDISSON ZAMORA † (1993-2009)

MIRIAM ELIZABETH MARTINEZ ZAMORA

ING. REMIGIO ZAMORA RAYGOZA

RAQUEL RABAGO PADILLA

GRATITUD Y MENCION ESPECIAL A MIS COMPAÑEROS DE RESIDENCIA Y AMIGOS:

DR. CUITLAHUAC GONZALEZ GALINDO.

DR. SERGIO CANOVAS ZALDIVAR.

DR. JESUS ALFREDO GARCIA CAMARENA.

DR. CLEMENTE SERGIO NOVALES ROSALES.

DEDICATORIA

UNICA Y ESPECIALMENTE A DIOS Y A TODOS LOS PACIENTES CON ENFERMEDAD ONCOLOGICA QUE CONTRIBUYERON A MI FORMACION.

INTRODUCCION Y DEFINICION DEL PROBLEMA.

Se ha postulado la hipótesis de que a aquellos pacientes que padecen Cáncer de Cavidad Oral y Orofaringe (CCOyOF) asociado a infección por Virus de Papiloma Humano (VPH), tienen una respuesta a tratamiento de quimio y radioterapia convencional que aquellos con ausencia de la infección. Esta suposición ha sido confirmada por algunas revisiones sistematizadas y estudios de meta-análisis, informando estos estudios que la infección por VPH modifica el perfil molecular de las células cancerosas y propicia una mejor respuesta al tratamiento de quimio y radioterapia convencional. ^{1,2,3,9,10}

La terapia de quimio y radioterapia convencional contempla la administración de elevadas dosis de radiación (70 Gys) que propicia complicaciones asociadas (Mucositis, xerostomía y anodoncia, etc.). Buscando reducir las dosis habituales de radiación, la combinación de un anticuerpo monoclonal dirigido al factor de crecimiento epidérmico (Cetuximab) combinada con radioterapia a dosis máximas de 50gys ha mostrado una reducción significativa de las complicaciones asociadas a la radiación. ^{4,5}

Bajo esta premisa en el servicio de Oncología Quirúrgica del CMN 20 de Noviembre se ha utilizado este tipo de terapia en pacientes con cáncer oral y orofaringe desde el 2010, sin embargo, al igual que las publicaciones de la literatura médica, no se ha analizado el valor pronóstico que tiene la infección por VPH para la respuesta al tratamiento combinado de radioterapia a bajas dosis con anticuerpo monoclonal (Cetuximab) conocido como Bioradioterapia. Basado en esto, planteamos la siguiente pregunta de investigación:

¿Cuál es el valor pronóstico de la infección por VPH para la respuesta a tratamiento con Cetuximab y Radioterapia a bajas dosis (Bioradioterapia) en pacientes con Cáncer de Cavidad Oral y Orofaringe?

ANTECEDENTES.

El carcinoma epidermoide es el tumor maligno más frecuente originado en la mucosa de la cavidad oral y de la orofaringe, asociándose a factores de riesgo conocidos: Consumo de tabaco, alcohol, cannabis, cambios en la inmunología local y alteraciones en oncogenes (Principalmente p-53). En la última década, el virus del papiloma humano (VPH) ha sido implicado como agente etiológico y como factor de riesgo para el desarrollo de la enfermedad, especialmente los serotipos 16 y 18.
1-2

El género masculino es afectado a una media de 50 años, especialmente fumadores y consumidores de alcohol, pero en mujeres no fumadoras ni bebedoras de alcohol se asocia a la infección por VPH 16 y 18, con un incremento en la incidencia de este tipo de cáncer hasta en 48.6%. La infección oral por VPH oncogénico es detectable en la mayoría de los pacientes con cáncer orofaríngeo, pero la incidencia de tales infecciones por VPH en las parejas sexuales a largo plazo no se incrementa más allá de la observada en la población general.³⁻⁵

El virus del papiloma humano (VPH) contiene un genoma de ADN circular largo de doble hebra de ocho kilo-bases, comprende genes tempranos y tardíos que codifican proteínas tempranas (E1 - E7) y proteínas tardías (L1 - L2). Las proteínas tempranas están implicadas en la replicación y la transcripción del genoma (E1 -E5) o en la transformación tumoral de la célula huésped (E6 y E7), mientras que las tardías (L1 y L2) son proteínas de la cápside estructural del virión. Los oncogenes E6 y E7 del VPH son en gran parte, responsables de la aparición y la persistencia del proceso maligno en cánceres de cabeza, cuello y ano-genitales.¹⁻⁴

El perfil molecular del cáncer oral y de orofaringe varía de acuerdo a la presencia de infección por VPH, observándose alteraciones en el p53 y las vías de pRb. En los típicos carcinomas de células escamosas VPH negativos, las mutaciones de p53 son muy frecuentes junto con los niveles disminuidos de p16 y aumento de los niveles de pRb. Por el contrario, los carcinomas VPH positivos se asocian con p53 de tipo agresivo, baja regulación de pRb, y la regulación aumentada de p16.⁴

Los tumores asociados al VPH surgen predominantemente en la base de la lengua o la región amigdalina. Debido a que contienen invaginaciones profundas de la superficie de la mucosa que favorecen la captura y procesamiento de antígenos, lo que puede facilitar el acceso viral a las células basales.⁵ El cáncer orofaríngeo asociado al VPH es más probable que se presente con una fase inicial (T1 / T2) del tumor primario, pero la enfermedad relativamente avanzada en el cuello (N2 / N3), a menudo con un gran ganglio linfático quístico que es a veces confundido por un quiste. A pesar de la agresividad biológica del cáncer positivo para el VPH, estos tumores tienen un mejor pronóstico que los cánceres de cabeza y cuello no

asociados con el VPH y la incidencia de metástasis es menor en cáncer con VPH positivo (9%) en comparación con los pacientes negativos (15%).¹⁴

Las terapias combinadas (Cirugía, radioterapia o la concomitancia) son generalmente necesarias para alcanzar el control local a largo plazo. Estas terapias incluyen las siguientes combinaciones:

- Cirugía de inicio seguida de Radioterapia adyuvante o Quimioterapia-Radioterapia concomitante.
- Quimioterapia de inducción antes de la cirugía
- Quimioterapia-Radioterapia concomitante sin cirugía
- Terapia secuencial: Quimioterapia de inducción seguida de Quimioterapia-Radioterapia concomitante sin cirugía.

Las decisiones sobre la secuencia óptima depende de considerar el sitio del tumor primario, la diseminación de la enfermedad, los factores individuales del paciente (edad, comorbilidades, y las preferencias de tratamiento) y sobretodo las consecuencias funcionales y estéticas de cada tratamiento.^{9,10}

En dos publicaciones de revisión sistematizada y de meta-análisis publicados en 2010 y 2012 que incluyeron alrededor de 900 estudios con más de 1000 pacientes analizados, las terapias combinadas convencionales con elevadas dosis de radioterapia mostraron una mejor supervivencia a 5 años en pacientes con cáncer de cavidad oral y orofaringe VPH positivos comparados con VPH negativos (80 y 50% respectivamente), aunque con una incidencia de complicaciones asociadas (Mucositis, xerostomía y anodoncia) a las dosis elevadas de radioterapia entre 25-60%.^{1,3}

Desde el 2006 , algunos estudios han comparado la eficacia del esquema de tratamiento Radioterapia a bajas dosis (50 Gys) + Cetuximab vs solo Radioterapia en pacientes con carcinoma epidermoide de orofaringe, hipofaringe y laringe en estadio T1-3N1, observando mejor control loco-regional a 2 años en los pacientes que recibieron Cetuximab (50 % vs 41 %) y mejor supervivencia global a 5 años (45 % vs 36 %), además de mostrar menor incidencia de mucositis. Los hallazgos de estos estudios aunque son alentadores, no se analizaron en el contexto de la infección de VPH, la cual ha mostrado un efecto protector en muchos estudios con terapia convencional.^{1,3,12,13}

JUSTIFICACION.

El Cáncer de Cavidad Oral y Orofaringe (CCOyOF) tiene un impacto importante en el aspecto físico de los pacientes que lo padecen, aunado a la agresividad de la enfermedad que reduce importantemente la sobrevida. El virus de papiloma humano se asocia frecuentemente al cáncer epidermoide en este sitio anatómico, modificando significativamente el perfil molecular de las células cancerosas, así como la respuesta al tratamiento de quimioterapia y radioterapia convencional, informando estudios de revisión y de meta-análisis un efecto protector que favorece una mejor respuesta al tratamiento y consecuentemente una mejor sobrevida.

La quimio y radioterapia convencional contempla la administración de elevadas dosis de radiación que propicia igualmente una elevada incidencia de complicaciones, por lo que se ha buscado una nueva estrategia de tratamiento denominada desde el 2006 como Bioradioterapia que consistente en la administración de un anticuerpo monoclonal dirigido al factor de crecimiento epidérmico (Cetuximab) combinada con radioterapia a bajas dosis (50 Gys), informándose en la literatura médica menor incidencia de complicaciones asociadas a la quimioterapia.^{1,9,10,14} y mejores resultados en sobrevida a 5 años.

Basado en los hallazgos de los estudios mencionados, en el servicio de Oncología Quirúrgica se ha venido administrando esta nueva estrategia de tratamiento (Bioradioterapia) desde el 2010, sin embargo al igual que los estudios publicados en la literatura médica, no se ha hecho un análisis del valor pronostico que tiene la presencia de infección por VPH para la respuesta a este esquema de tratamiento, por lo que proponemos el presente estudio, esperando con la información obtenida identificar a los pacientes con mejores posibilidades de respuesta al tratamiento de Bioradioterapia, mejorando así la atención que se ofrece a los pacientes con esta enfermedad.

FORMULACION DE HIPOTESIS.

Considerando que el valor pronóstico de la infección por VPH para la respuesta al tratamiento de Bio-radioterapia puede ser elevado o moderado planteamos las siguientes hipótesis:

H1: La presencia de infección por VPH tiene un elevado valor pronostico ($\geq 80\%$) de respuesta a la de Bio-radioterapia (Cetuximab + Radioterapia) en pacientes con cáncer de cavidad oral y orofaringe.

Ha: La presencia de infección por VPH tiene un moderado valor pronostico ($> 50\%$ y $< 80\%$ %) de respuesta a la de Bio-radioterapia (Cetuximab + Radioterapia) en pacientes con cáncer de cavidad oral y orofaringe.

Ho: La presencia de infección por VPH tiene un bajo valor pronostico ($< 50\%$) de respuesta a la de Bio-radioterapia (Cetuximab + Radioterapia) en pacientes con cáncer de cavidad oral y orofaringe.

OBJETIVOS.

GENERAL:

Determinar el valor pronóstico de la infección por VPH para la respuesta al tratamiento de Bio-radioterapia (Cetuximab + Radioterapia a bajas dosis) en pacientes con cáncer de cavidad oral y orofaringe.

ESPECIFICOS:

En pacientes con cáncer de cavidad oral y orofaringe sometidos a tratamiento de Bio-radioterapia (Cetuximab + radioterapia a bajas) VPH positivos y negativos:

- Conocer el sitio anatómico y estadios de la enfermedad.
- Conocer la respuesta al tratamiento.
- Conocer la sobrevida global.
- Conocer el periodo libre de recaída.
- Conocer las dosis de radioterapia utilizada
- Conocer los esquemas de quimioterapia utilizados.
- Conocer la co-morbilidad
- Comparar contra estándar de oro actual (quimioterapia convencional

SECUNDARIOS

- Determinar la relación de factores de riesgo (tabaquismo, alcoholismo, características histológicas) con la respuesta al tratamiento de Bioradioterapia.

DISEÑO METODOLOGICO DEL ESTUDIO.

UNIVERSO:

Pacientes con diagnóstico de cáncer de cavidad oral y orofaringe que recibieron quimioterapia (QT) de inducción y posteriormente quimioterapia con cetuximab/radioterapia (Cetx/RT) concomitante Bioradioterapia).

DEFINICION DE GRUPOS:

Pacientes con cáncer de cavidad oral y orofaringe que se dividirán en dos grupos:

1. VPH positivos
2. VPH negativos

Grupo control, pacientes con cavidad oral y orofaringe que hayan recibido quimioterapia convencional /radioterapia

1. VPH positivos
2. VPH negativos

CRITERIOS DE INCLUSION:

- Pacientes hombres y mujeres mayores de edad con cáncer de cavidad oral y orofaringe
- Pacientes VPH positivos y negativos
- Pacientes sometidos a Bioradioterapia (Cetuximab + radioterapia)
- Pacientes sometidos a quimioterapia convencional con radioterapia (gold estándar)

CRITERIOS DE EXCLUSION:

- Pacientes con cáncer metastásico
- Pacientes con otro tipo de cáncer en cabeza y cuello además del de orofaringe y cavidad oral
- Pacientes que hayan recibido radiación previamente.
- Pacientes que tengan diagnóstico de alguna inmunodeficiencia, insuficiencia renal o cardíaca que impidan el tratamiento.

CRITERIOS DE ELIMINACION:

- Pacientes con expediente clínico incompleto.
- Pacientes con bloque histológico defectuoso o incompleto de acuerdo a criterio del patólogo experto.

CALCULO DE MUESTRA:

Considerando el valor pronostico planteado en el apartado de hipótesis, en donde se asume un valor elevado cuando sea mayor de 80%, utilizando una fórmula para proporciones o porcentajes para un poder de 0.80 y un error tipo I de 0.05 se requiere una muestra de 45 pacientes.

$$n = \frac{Z\alpha + Z\beta \cdot pq}{d^2}$$

Dónde: $Z\alpha = 1.96$; $Z\beta = 0.84$; $p = 0.80$; $q = 1-p$; $d = 0.10$

No obstante, asumiendo que las probabilidades de respuesta al tratamiento de Bio-radioterapia (Cetuximab + radioterapia a bajas) podrían ser similares a la informada en un estudio de meta-análisis² en donde se utilizaron esquemas de quimio y radioterapia convencional a altas dosis, con respuesta en pacientes con cáncer de orofaringe VPH positivos de 80% y 50% en pacientes con VPH negativos, utilizando una fórmula para estudios de cohorte con un nivel de confianza de 0.05 se requiere una muestra de 47 pacientes.

$$n = Z\alpha^2 \frac{(1-P_1/p_1) + (1-P_2/P_2)}{\ln(1-\epsilon)}$$

Dónde: $Z\alpha = 1.96$; $P_1 = 0.50$; $P_2 = 0.80$; $\epsilon = 0.10$ ***

***Argimon J, Jiménez J. Métodos de Investigación. Madrid. Ediciones Harcourt; 2000. Cohen J. Statistical Power Analysis for Behavioral Sciences. 2o ed. 2005. Ed. Psychology Press.

DEFINICION DE VARIABLES.

Independientes:

Cáncer de cavidad oral y orofaringe:

Tumor maligno en labio, encías, carrillos, piso de la boca, lengua móvil, paladar duro, trigono retromolar, pilares amigdalinos, úvula, paladar blando, amígdalas, pared posterior de la faringe y porción fija de la lengua. Este cáncer se estadia de acuerdo a la American Joint Committee of Cancer edición 2010 con el sistema TNM (Tumor, Node, Metastasis) y de acuerdo a esto se otorga una etapa clínica a cada paciente de acuerdo a sus características.

- Para cavidad oral: T1: ≤ 2 cm; T2: > 2 cm y ≤ 4 cm; T3: > 4 cm; T4a: invasión de estructuras adyacentes, incluyendo, en los casos de los labios, invasión de la cortical ósea, nervio inferior alveolar, base de lengua y piel del rostro (mentón o nariz). En los casos de la cavidad oral, se incluye la invasión de la cortical ósea (mandíbula o maxila), camada muscular profunda de la lengua, seno maxilar y piel del rostro; T4b: invasión del espacio masticatorio, láminas pterigoideas, base del cráneo o comprometimiento de la carótida interna. La erosión superficial aislada del diente/hueso, por un tumor primario de encía, no caracteriza enfermedad T4.
- Para orofaringe: T1: ≤ 2 cm; T2: > 2 cm y ≤ 4 cm; T3: > 4 cm o extensión para la faz lingual de la epiglotis; T4a: invasión de la laringe, camada muscular extrínseca de la lengua, músculo pterigoideo medial, paladar duro o mandíbula; T4b: invasión del músculo pterigoideo lateral, láminas pterigoideas, nasofaringe lateral, base de cráneo o de la carótida.
- La enfermedad metastásica ganglionar se clasifica para ambos de la misma manera: N1: ganglio linfático ipsilateral ≤ 3 cm; N2: ganglio linfático ipsilateral > 3 cm y ≤ 6 cm (N2a) o múltiples ganglios linfáticos ipsilaterales ≤ 6 cm (N2b), o bilaterales o contralaterales ≤ 6 cm (N2c); N3: ganglio(s) linfático(s) > 6 cm.

La enfermedad metastásica a distancia solo se clasifica como existente o no. (M0 o M1)

Las etapas clínicas finales se muestran a continuación:

- I-T1N0M0; II -T2N0M0; III -T3N0M0 ó T1-3N1M0; IV A-T4aN0-1M0 ó T1-T4aN2M0; IVB-T4bqNM0 ó qqTN3M0; IV C-qqTqqNM1.

Existen varias histologías y grados histológicos así como subtipos los cuales se muestran a continuación:

- Carcinoma epidermoide (90% de los casos): sus subtipos incluyen el carcinoma verrucoso, el carcinoma de células altas, basaloide, papilar,

fusiforme, acantolítico, adenoescamoso, cuniculatum y el linfopitelioma. También se debe asignar grado histológico en bien diferenciado, poco diferenciado e indiferenciado).

- De las glándulas salivares (5% de los casos): incluye una gran gamma de subtipos; de células acinares, mucoepidermoide, adenoideo quístico, mioepitelial, células claras, células basales, carcinoma sebáceo, linfadenocarcinoma, carcinoma cribiforme de bajo grado, cistoadenocarcinoma, carcinoma oncocítico, carcinoma de los conductos, carcinoma ex adenoma pleomorfo, carcinosarcoma, sialoblastoma maligno.
- Linfomas (3% de los casos): Hodgkin o no Hodgkin de células grandes.
- Adenocarcinoma (1% de los casos): 2 grandes grupos los de tipo intestinal (papilar, colonico, solido, mucinoso, y mixto) y aquel no intestinal (bajo y alto grado)
- Carcinoma neuroendocrino (1% de los casos): carcinoma de células pequeñas, carcinoide típico y carcinoide atípico
- Sarcomas (1% de los casos): hasta 40 subtipos , los mas comunes, el histiocitoma fibroso maligno, el fibrosarcoma, el osteosarcoma, sarcoma sinovial y el angiosarcoma.

Infección por Virus de Papiloma Humano (VPH): La infección del VPH se define como la presencia de virus del papiloma humano en la cavidad oral y se puede identificar mediante varios tipos de pruebas que se describen a continuación.

DIAGNOSTICO HISTOLOGICO.

- **Prueba de ADN del VPH.-** Las pruebas de ADN del VPH fue el primer método desarrollado para la prueba clínica de rutina. Muchos estudios demostraron que la adición de la prueba de ADN del VPH mejoró la sensibilidad para la detección de lesiones precursoras como la leucoplaquia o la eritroplaquia. Estos incluyen la Captura de Híbridos 2™ (HC2), Cervista™ y el Cobas 4800 prueba basada en PCR. El HC2 detecta un cóctel de 13 tipos diferentes (oncogénico) de VPH de alto riesgo y reporta los resultados como positivos para uno o más de estos tipos, o negativo para todos. Las pruebas Cervista y Cobas detectan el VPH 66, además de los tipos de VPH 13 detectados por HC2. La prueba Cobas identifica los tipos de VPH 16 y 18, mientras que detecta los 12 tipos restantes en una mezcla de sondas (probe-mix). La prueba Cervista indica positividad para uno o más tipos en la mezcla 14-sondas, pero también ofrece la opción de la prueba de VPH 16/18 específicamente.
- **Prueba de ARN del VPH.-** Las pruebas de ARN del VPH, buscan la expresión de ARN E6 y/o E7, se puede realizar con la expectativa de que la

expresión activa de oncogenes de VPH proporcionaría una mejor sensibilidad y especificidad que la prueba de ADN del VPH.

- **Detección de marcadores celulares.-** La detección de marcadores celulares utiliza un enfoque diferente para el diagnóstico de la enfermedad asociado al VPH. La proteína E7 del VPH altera el ciclo celular que conduce a un aumento en la expresión celular de la proteína p16, patólogos a menudo usan inmunotinción en biopsias para identificar lesiones. Aunque ninguna de las pruebas basadas en p16 son aprobados por la FDA en este momento, un gran estudio que investiga la combinación de p16/Ki-67 con tinción dual en la citología ha demostrado una sensibilidad superior y especificidad no inferior sobre la citología

Bioradioterapia: Consiste en el tratamiento con terapia blanco basada en Cetuximab a una dosis de 500 mg/m² dividida en 3 ciclos de tratamiento introductorio (7 a 10 días previos al tratamiento con RT) y posteriormente a dosis de 250mg/m² durante 7 ciclos más en aplicación concomitante de radioterapia de haz externo conformacional 3D o radioterapia de intensidad modulada (de acuerdo a disponibilidad del centro tratante) a dosis totales de 48 a 52Gys de acuerdo a la carga tumoral dividido de 28 a 32 fracciones diaria de 1.6 a 2.0Gys de acuerdo a tolerancia del paciente y planeación del Radio-oncólogo.

Dependientes:

Respuesta al tratamiento: Las respuestas al tratamiento se identificación de acuerdo a la escala ReCIST modificados establecidos en el 2009 y se cataloga con respuestas objetivas tanto clínicas como radiológicas como sigue:

- RESPUESTA COMPLETA: evidencia de desaparición de todas las lesiones previamente identificadas a las 4 semanas de terminado el tratamiento.
- RESPUESTA PARCIAL: evidencia de disminución de al menos 30% del diámetro original de las lesiones previamente identificadas a las 4 semanas terminadas el tratamiento.
- ENFERMEDAD ESTABLE: no evidencia de progresión, disminución de menos del 30% del diámetro original de las lesiones previamente identificadas.

Progresion de la enfermedad: Aumento del 20% del diámetro de las lesiones preexistentes o presencia de nuevas lesiones no identificadas en los estudios previos. (Cuantitativa expresada en mm)

Se considera una respuesta optima a la respuesta completa, buena respuesta a la respuesta parcial y mala a la progresión.

Sobrevida global: Tiempo que transcurre desde el diagnóstico de la enfermedad hasta la muerte del paciente. (Cuantitativa expresada en meses)

Periodo libre de enfermedad: Tiempo que transcurre desde el inicio del tratamiento hasta la progresión de la enfermedad o la muerte. (Cuantitativa expresada en meses)

Complicaciones:

Inherentes a la Terapia blanco (Cetuximab): Desarrollo de edema generalizado, urticaria, rash dérmico, edema de las mucosas, disnea, polipnea y taquipnea por cierre súbito por edema de la mucosa de la vía aérea así como reacciones cardiovasculares por el súbito desencadenamiento de respuesta inflamatoria sistémica. (se presenta en el 1% de los pacientes tratados)(Nominal presente/ausente), aplasia medular, neutropenia, fiebre, acné, mialgias, artralgias, astenia, adinamia, radiodermatitis, xerostomía, mucositis, disgeusia.

Co-Variables

Edad: Tiempo transcurrido desde el nacimiento. Cuantitativa expresada en años

Sexo: Condición morfológica que distingue al hombre de la mujer. Nominal

Tabaquismo: Adicción a sustancias activas (nicotina y otras nitrosaminas) que contiene el tabaco en cualquiera de sus presentaciones como pueden ser el fumado, inhalado o masticado. Se puede clasificar en intensidad de acuerdo a la cantidad que se consume. Cuantitativa por número de cigarrillos consumidos y nominal presente/ausente

Alcoholismo: se define por la Organización Mundial de la Salud como el deseo intenso o una compulsión de beber alcohol, disminución de la capacidad para controlar este deseo, presencia de síndromes somáticos al cese del alcohol como puede ser el síndrome de abstinencia identificado después de un mes de iniciado el consumo.

DISEÑO ESTADISTICO Y METODOS DE MANEJO.

Se pretende realizar un estudio tipo cohorte retrolectivo (Observacional, longitudinal, comparativo).

Se seleccionaran todos aquellos pacientes que cumplan con los criterios de inclusión de acuerdo al expediente clínico , aquellos que fueron presentados en el comité de tumores de cabeza y cuello y fueron aceptados por el mismo para recibir Cetuximab/Radioterapia con un subitio primario de cavidad oral y orofaringe en el periodo comprendido del 2010 hasta el momento, que cuenten con la información de inicio del tratamiento, dosis administrada y resultados, asimismo, que el bloque de parafina se encuentre en buenas condiciones para correr la prueba de PCR.

Los bloques histológicos se someterá a PCR en tiempo real:

Extracción de DNA a partir de muestras de parafina:

- a) Desparafinación: Las muestras se transferirán a un tubo de 1.5 ml y se le agregara 1 ml de octano, se mezclara vigorosamente para disolver la parafina y hasta que la muestra de tejidos se vea transparente. Se centrifugara por 11,000 g por 2 min para empastillar la muestra. Se removerá el sobrenadante que se colocara en un contenedor para su desecho final por una compañía especializada. Se le agregará 0.5 ml de etanol al 100% y se volverá a centrifugar. Finalmente se dejará la muestra a 52°C hasta que todo el etanol se halla evaporado.
- b) Lisis: A la muestra anterior se le agregara 400 µl de buffer de lisis G y 40 µl de proteinasa K, se mezclara vigorosamente y se incubara a 52 °C. Se centrifugara a 11,000 g por 2 min para empastillar el material que no se liso y se pasara el sobrenadante a un tubo nuevo de 1.5 ml.
- c) Unión a la membrana de las columnas de purificación: Se le agregará al sobrenadante 200 µl de buffer de unión A y se mezclara vigorosamente por 10 segundos, la mezcla se colocara en una columna de purificación, se centrifugara por 11,000 g por 2 min y se eliminara el material que paso por el filtro.
- d) Lavado de la muestra: Se le agregará a la columna que contiene la muestra 550 µl de buffer de lavado, se centrifugara 11,000 g por 1 min, y se repetirá el lavado 1 vez más. Se eliminara el material que paso por el filtro se volverá a centrifugara para eliminar to resto del buffer de lavado. Se le agregara 200 ul de buffer de elusión, se incubara 3 min a temperatura ambiente y finalmente se centrifugara 11,000 g por 1 min.

Genotipificación Molecular

Para realizar la genotipificación molecular del VPH se utilizara el kit Anyplex II HPV28 (Seegene). Este kit consiste en dos reacciones de PCR multiplex en tiempo

real. El primer juego (A) de PCR amplifica 14 tipos de alto riesgo: 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 y 68; y el segundo juego (B) amplifica 5 de alto riesgo : 26, 53, 69, 73, 82 y 9 de bajo riesgo: 6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 70. Para la reacción de PCR en un tubo se agregara 5 ul 4X HPV28 juego A o juego B, 5 ul 4X Anyplex PCR master mix (con UDG), 5 ul agua libre de RNasa y finalmente 5 ul muestra de ácido nucleico que previamente de obtuvo, para tener un volumen total de 20 ul.

PLAN DE PROCESAMIENTO Y PRESENTACION DE LA INFORMACION

Con los datos obtenidos, se realizará una base de datos en Excel. Posteriormente se exportarán los datos al programa estadístico SPSS versión 21 para Mac para su análisis estadístico. Para la estadística descriptiva se utilizarán medidas de tendencia central y de dispersión (Media, mediana, desviación estándar y rangos) dependiendo de la distribución de la información, la cual se evaluará mediante Kolmogorov- Smirnov. Para la estadística inferencial se utilizarán la prueba de Kaplan y Meier con Long Rank para comparación de sobrevida global y la sobrevida libre de enfermedad. Para la comparación de grupos de las variables cualitativas se utilizará prueba de χ^2 para 2 grupos. Para las variables cuantitativas se utilizara prueba t de Student o U de Mann Whitney de acuerdo a la prueba de Kolmogorov-Smirnov. El valor predictivo se calculará con sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y negativo, así como la probabilidad de respuesta al tratamiento mediante tablas de contingencia calculando el Riesgo Relativo (RR). Consideraremos significancia estadística con un valor de $P < 0.05$ y con IC95.

CONSIDERACIONES ETICAS Y DE BIOSEGURIDAD.

El protocolo se evaluará por los Comités de Investigación y Ética del CMN “20 de Noviembre” del ISSSTE. El estudio se ajustará a los lineamientos establecidos en la Declaración de Helsinki, de la Declaración de Belmont, de las Guías de Buenas Prácticas Clínicas y del Reglamento de la Secretaría de Salud en materia de investigación. La información obtenida será manejada con absoluta confidencialidad, asegurando esto, mediante el uso exclusivo del número de registro del expediente clínico y de la clasificación de los bloques histológicos. El tratamiento de quimioterapia con cetuximab y radioterapia a bajas dosis formó parte del manejo establecido en el servicio de Oncología Quirúrgica de acuerdo a los criterios de cada médico tratante, independientemente de la inclusión del paciente en el presente estudio. Considerando que se trata de un estudio estrictamente observacional descriptivo retrolectivo no requiere carta de consentimiento

informado. Y en caso de considerarlo necesario se encuentra recabado para su revisión.

El estudio se ajustará al reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación en Salud", Título segundo, Capítulo 1, Art. 17, referente a una "investigación sin riesgo" ya que se trata de un estudio que contempla investigación documental retrolectiva

Los bloques histológicos serán manejados en el servicio de Patología de acuerdo a la normatividad establecida en el servicio y en el CMN 20 de Noviembre, ajustándose a Norma Oficial Mexicana NOM-087-ECOL-SSA1-2002, Protección ambiental - Salud ambiental - Residuos peligrosos biológico-infecciosos.

Aunque los bloques histológicos ya se encuentran en fijación citológica con formol y parafinados existe muy bajo riesgo de contaminación por el personal que maneja los bloques, no obstante en caso de sospecha de contaminación se notificar a las autoridades correspondientes de acuerdo a la norma NOM-017-SSA2-1994, para la Vigilancia Epidemiológica.

La revisión del expediente clínico se ajustará al reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación en Salud", Título segundo, Capítulo 1, Art. 17, referente a una "investigación sin riesgo" ya que se trata de un estudio que contempla investigación documental retrolectiva

PLAN DE TRABAJO.

	Diciembre 2014- enero 2015	Febrero – marzo 2015	Abril 2015
Evaluación por comités	x		
Desarrollo del estudio		x	
Análisis de información y tesis			x

RECURSOS MATERIALES Y FINANCIEROS.

1. Expediente clínico.
2. Bloques histológicos.
3. Sondas [Anyplex II HPV28 \(Seegene\)](#), las cuales serán proporcionadas por donación directa de una investigación previa del servicio de medicina genómica de esta misma institución por lo que no hay presupuesto directo involucrado para la realización de este protocolo.

No se requieren recursos financieros adicionales a la atención otorgada a los derechohabientes. El material necesario para la determinación de VPH será proporcionado con los recursos propios del servicio de medicina Genómica. (Ver firma de responsable en caratula del protocolo)

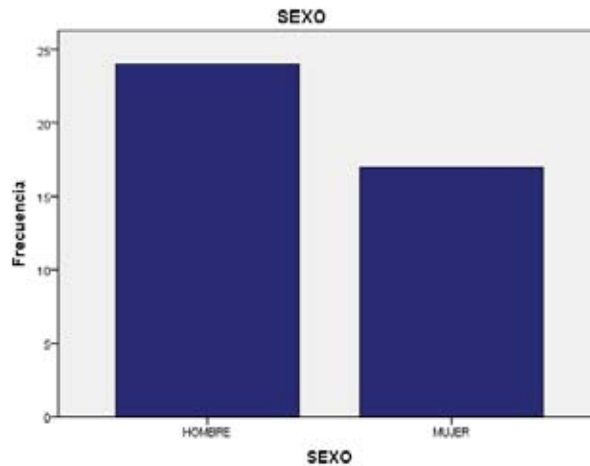
RESULTADOS.

ESTADISTICA DESCRIPTIVA.

Se realizan tablas de frecuencias con media, mediana y moda para la estadística inferencial y para las variables con distribución normal se saca desviación estándar y varianza obteniendo los siguientes resultados:

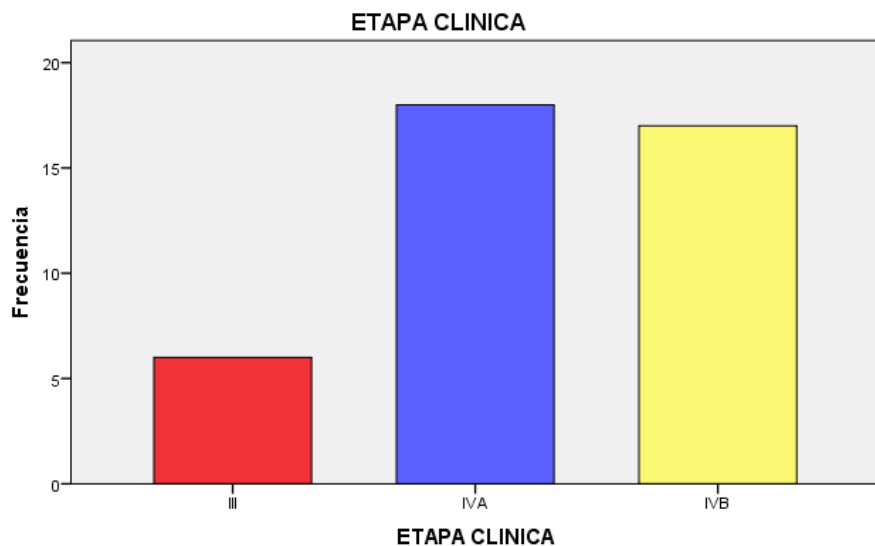
Se analizaron en total 41 caso de los cuales la edad media fue de 62 años de edad con moda de 75 y con rango mínimo de 39 y máximo de 88 años.

En cuanto al sexo se identifico un total de 24 hombres que correspondio al 54% y el resto fueron mujeres. Como se presenta en la grafica de barras:



En cuanto a la etapa clínica se demostró la siguiente distribución: en ECIII se identificaron 6 pacientes que correspondieron al 14.6% del total, en EC IVA se identificaron 18 que corresponde al 43% del total , en EC IVB 17 que corresponde al 41%

		ETAPA CLINICA			
		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válido	III	6	14.6	14.6	14.6
	IVA	18	43.9	43.9	58.5
	IVB	17	41.5	41.5	100.0
	Total	41	100.0	100.0	



Tratamiento ofrecido

En cuanto a este rubro se encontraron multiples tratamientos sin embargo el mas comunmente utilizado fue el triplete ya descrito en las guias de tratamiento de carcinoma epidermoide de cabeza y cuello que incluye paclitaxel/5fu/cisplatino + cetuximab el cual incluyo a 19 pacientes que corresponde al 46% de los casos, seguido del doblete por tolerancia de platino/5fu+cetuximab que incluyo 5 pacientes que correspondio a 12% de los casos, posteriormente se notaron multiples combinaciones las cuales se muestran a continuacion en las tablas y graficas.

TRATAMIENTO

	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válido AUC	1	2.4	2.4	2.4
CETUXIMAB	3	7.3	7.3	9.8
DOCETAXEL+CETUXIMAB	2	4.9	4.9	14.6
IRINOTECAN+CETUXIMAB	2	4.9	4.9	19.5
PACLITAXEL+CETUXIMAB	2	4.9	4.9	24.4
PF+CETUXIMAB	5	12.2	12.2	36.6
PLATINO+CETUXIMAB	2	4.9	4.9	41.5
PT+CETUXIMAB	1	2.4	2.4	43.9
RADIOTERAPIA SOLA	1	2.4	2.4	46.3
TP+CETUXIMAB	1	2.4	2.4	48.8

TPF	2	4.9	4.9	53.7
TPF+CETUXIMAB	19	46.3	46.3	100.0
Total	41	100.0	100.0	

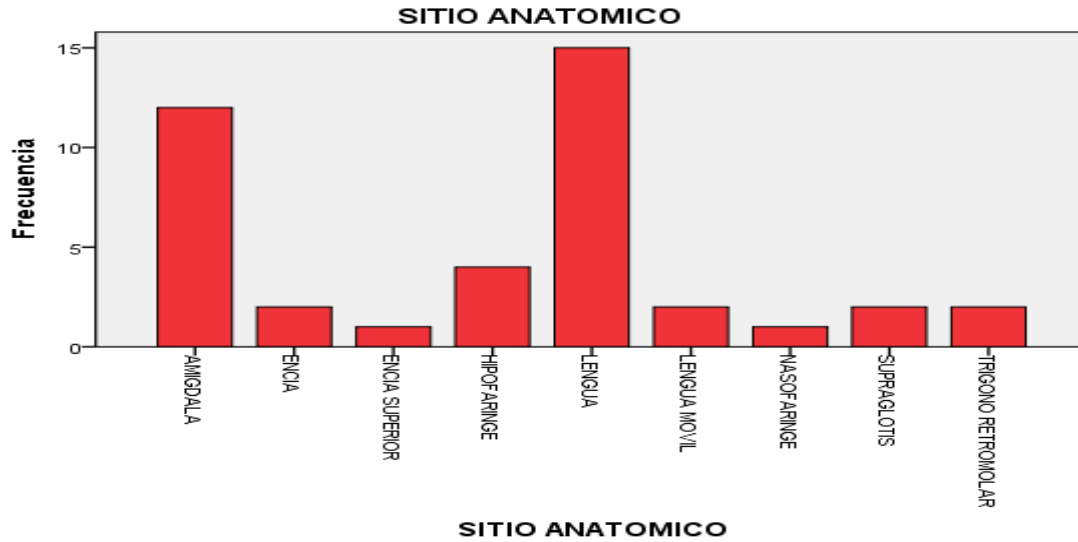
Asimismo se analizaron las dosis otorgadas de radioterapia, cabe mencionar que se estuvieron utilizando las que se encuentran avaladas para este tipo de patologías en las guías nccn y esmo como radicales. Se muestra la tabla a continuación.

La dosis más comúnmente utilizada fueron 70gys en 15 paciente que correspondió al 37% de los mismos, posteriormente 66.6gys en 11 que correspondió a 27% y otras que se muestran en la tabla de frecuencias.

DOSIS RADIOTERAPIA

	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válido 40	1	2.4	2.4	2.4
50.4	3	7.3	7.3	9.8
60	2	4.9	4.9	14.6
64	1	2.4	2.4	17.1
65	4	9.8	9.8	26.8
66	7	17.1	17.1	43.9
66.4	1	2.4	2.4	46.3
68.4	1	2.4	2.4	48.8
70	15	36.6	36.6	85.4
NO	6	14.6	14.6	100.0
Total	41	100.0	100.0	

En cuanto al sitio anatómico y patología se encontró que el sitio más comúnmente afectado fue la lengua en 41% de los casos seguido de amígdala en 12 paciente que correspondió al 27% de los casos y en la tabla se muestran el resto un poco menos comunes lo cual contrasta adecuadamente con la literatura mundial.



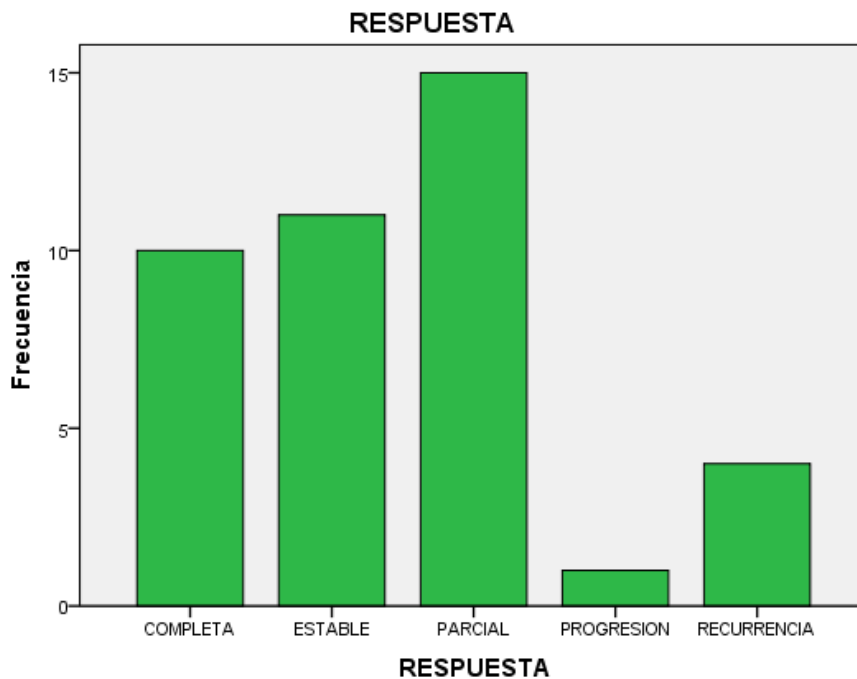
En cuanto a la histología cabe mencionar que el 100% de los casos se trató de carcinoma epidermoide por lo que no se manejara más sobre el caso.

Se tocaron otros puntos importantes como las comorbilidades encontrando entonces que en cuanto a los factores de riesgo más importantes tenemos que el alcoholismo positivo en los pacientes alcanzo el un 55% de los casos así como el tabaquismo tuvo el 62% de los casos lo que deja de visto al igual que en la literatura estos son factores de riesgo muy importantes.

RESULTADOS EN CUANTO AL TRATAMIENTO.

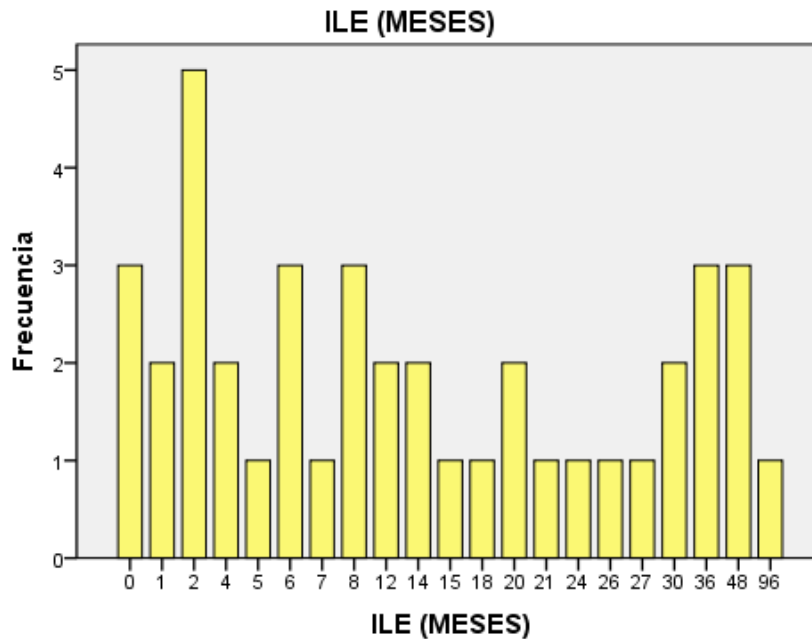
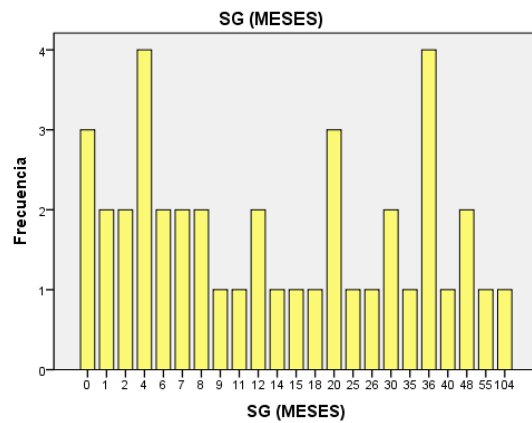
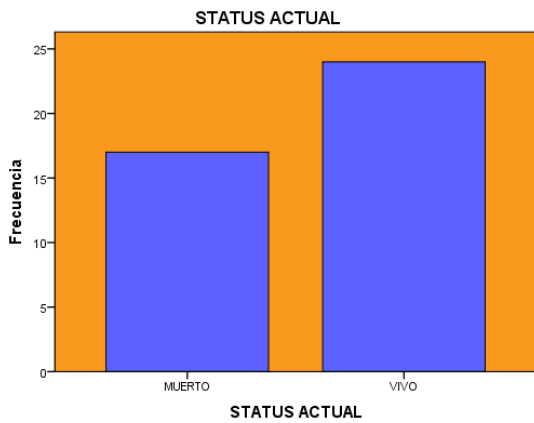
En su gran mayoría los pacientes presentaron respuesta parcial siendo estos un total de 15 que correspondio al 37% de los casos, seguido de enfermedad estable en 11 que correspondio al 27%, y posteriormente con respuesta completa que correspondio a 10 igual al 25%, el resto se catalogo como persistencia y recurrencia posteriormente.

RESPUESTA		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válido	COMPLETA	10	24.4	24.4	24.4
	ESTABLE	11	26.8	26.8	51.2
	PARCIAL	15	36.6	36.6	87.8
	PROGRESION	1	2.4	2.4	90.2
	RECURRENCIA	4	9.8	9.8	100.0
	Total	41	100.0	100.0	



Al momento del estudio de los que entrar en retrolectivo se encontró la siguiente información:

El 58% de los pacientes que correspondio a 24 se encontraban muertos al momento del estudio y el resto se encontraban vivos y aun con ILEs prolongados como se muestra en las siguientes tablas:

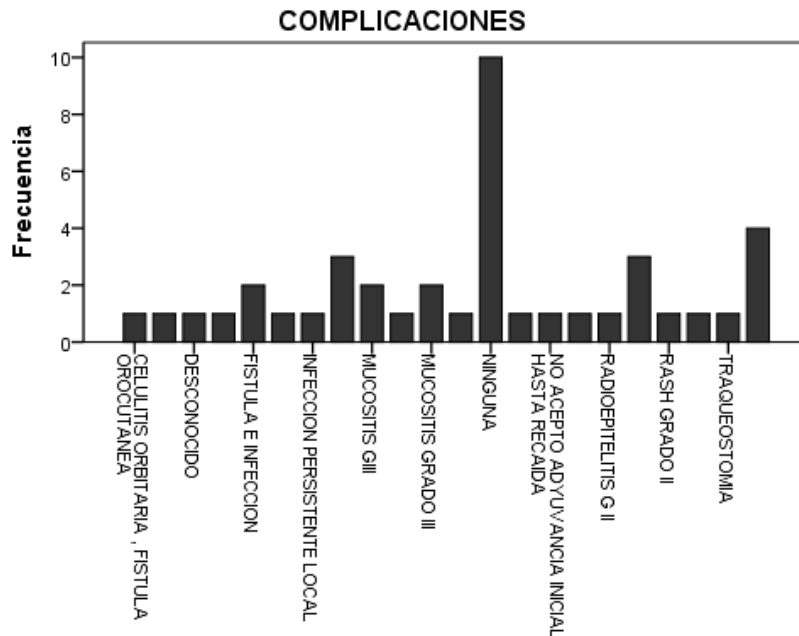


De lo anterior se puede observar las sobrevividas globales de todos los pacientes expresadas en meses así como los intervalos libres de progresión, siendo la SGM 19 meses, con mediana de 12 meses y para el ILE de 17 meses.

Estadísticos

		SG (MESES)	ILE (MESES)
N	Válido	41	41
	Perdidos	0	0
Media		19.51	17.20
Mediana		12.00	12.00
Moda		4 ^a	2
Desviación estándar		20.467	19.087
Varianza		418.906	364.311
Rango		104	96
Mínimo		0	0
Máximo		104	96

En contraste con la literatura mundial en cuanto a los esquemas tradicionales sin cetuximab la SG y el ILE se ven considerablemente aumentados. Por lo que se concluye que el tratamiento con Cetuximab es seguro y con mejores resultados. Además se incluye en la siguiente tabla las complicaciones presentadas durante el tratamiento y cabe mencionar que la gran mayoría son por la radioterapia.



La complicación mas frecuente fue la mucositis en grados variables seguida de la radioepitelitis y el rash cutáneo el cual si puede ser secundario a la administración del anticuerpo monoclonal.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1.- Remco Nagel, Sanne R. Martens-de Kemp, Marijke Buijze, Gerbren Jacobs, Boudewijn J.M. Braakhuis, Ruud H. Brakenhoff. Treatment response of HPV-positive and HPV-negative head and neck squamous cell carcinoma cell lines. *Oral Oncology* 49 (2013) 560–566.
- 2.- Sturgis EM, Ang KK. The epidemic of HPV-associated oropharyngeal cancer is here: is it time to change our treatment paradigms? *J Natl Compr Canc Netw* 2011; 9:665.
- 3.- M.A. O'Rorke, M.V. Ellison, L.J. Murray, M. Moran, J. James, L.A. Anderson. Human papillomavirus related head and neck cancer survival: A systematic review and meta-analysis. *Oral Oncology* 48 (2012) 1191–1201.
- 4.- Pannone G, Rodolico V, Santoro A, et al. Evaluation of a combined triple method to detect causative HPV in oral and oropharyngeal squamous cell carcinomas: p16 Immunohistochemistry, Consensus PCR HPV-DNA, and In Situ Hybridization. *Infect Agent Cancer* 2012; 7:4.
- 5.- Reimers N, Kasper HU, Weissenborn SJ, et al. Combined analysis of HPV-DNA, p16 and EGFR expression to predict prognosis in oropharyngeal cancer. *Int J Cancer* 2007; 120:1731.
- 6.- Bonner JA, Harari PM, Giralt J, et al. Radiotherapy plus cetuximab for squamous-cell carcinoma of the head and neck. *N Engl J Med* 2006; 354:567.
- 7.- C.M. Acevedo-Henao, G. Valette, P. Miglierini, E. Lefur, O. Pradier. Radiotherapy combined with cetuximab for locally advanced head and neck cancer: Results and toxicity. *Cancer/Radiothérapie* 16 (2012) 601–603
- 8.- Karen Rowan. Should Cetuximab Replace Cisplatin in Head and Neck Cancer?. *JNCI* Vol. 102, Issue 2 January 20, 2010.
- 9.- Pignon JP, le Maître A, Maillard E, et al. Meta-analysis of chemotherapy in head and neck cancer (MACH-NC): an update on 93 randomised trials and 17,346 patients. *Radiother Oncol* 2009; 92:4.
- 10.- Fausto Petrelli, Andrea Coinu, Valentina Riboldi, Karen Borgonovo, Mara Ghilardi, Mary Cabiddu, Veronica Lonati, Enrico Sarti, Sandro Barni. Concomitant platinum-based chemotherapy or cetuximab with radiotherapy for locally advanced head and neck cancer: A systematic review and meta-analysis of published studies. *Oral Oncology* 50 (2014) 1041–1048
- 11.- Gianmauro Numico, Pierfrancesco Franco, Antonella Cristofano, Fernanda Migliaccio, Silvia Spinazzé, Nicola Silvestris, Domenico Cante, Piera Sciacero, Maria Rosa La Porta, Franco Girelli, Umberto Ricardi. Is the combination of Cetuximab with chemo radiotherapy regimens worthwhile in the treatment of locally advanced head and neck cancer? A review of current evidence. *Critical Reviews in Oncology/Hematology* 85 (2013) 112–120
- 12.- Angela Hong, Timothy Dobbins, C. Soon Lee, Deanna Jones, Elise Jackson, Jonathan Clark, Bruce Armstrong, Gerald Harnett, Christopher Milros, Christopher O'Brien, Barbara Rose. Relationships between epidermal growth factor receptor expression and human papillomavirus status as markers of prognosis in oropharyngeal cancer. *European journal of cancer* 46 (2 0 1 0) 2 0 8 8 –2 0 9 6

- 13.- Athanassios Argiris, Steve C. Lee, Trevor Feinstein, Sufi Thomas, Barton F. Branstetter IV, Raja Seethala, Lin Wang, William Gooding, Jennifer R. Grandis, Robert L. Ferris. Serum biomarkers as potential predictors of antitumor activity of cetuximab-containing therapy for locally advanced head and neck cancer. *Oral Oncology* 47 (2011) 961–966.
- 14.- K. R. Unger, M. Howard, R. Slack, D. Hartmann, K. Newirk, B. Davidson, F. Berkowitz, K. Steadman, J. Deeken, K. W. Harter. HPV-positive Status Predicts for Improved Outcomes in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma after concurrent Cetuximab and Radiation Therapy. Georgetown University Hospital, Washington, DC.
- 15.- M Pogorzelski, S Ting, TC Gauler, F Breitenbuecher, I Vossebein, S Hoffarth, J Markowitz, S Lang, C Bergmann, S Brandau, JA Jawad, KW Schmid, M Schuler, and S Kasper. Impact of human papilloma virus infection on the response of head and neck cancers to anti-epidermal growth factor receptor antibody therapy. *Cell Death and Disease* (2014) 5, e1091; doi:10.1038/cddis.2014.62
- 16.- Randall J. Kimple, Paul M. Harari. Is radiation dose reduction the right answer for HPV-positive head and neck cancer?. *Oral Oncology* 50 (2014) 560–564.
- 17.- Gianmauro Numico, Pierfrancesco Franco, Antonella Cristofano, Fernanda Migliaccio, Silvia Spinazzé, Nicola Silvestris, Domenico Cante, Piera Sciacero, Maria Rosa La Porta, Franco Girelli, Umberto Ricardi. Is the combination of Cetuximab with chemo-radiotherapy regimens worthwhile in the treatment of locally advanced head and neck cancer? A review of current evidence. *Critical Reviews in Oncology/Hematology* 85 (2013) 112–120.
- 18.- Kie Kian Ang, Erich M. Sturgis. Human Papillomavirus as a Marker of the Natural History and Response to Therapy of Head and Neck Squamous Cell Carcinoma. *Semin Radiat Oncol* 22:128-142.2012.