



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN
INSTITUTO NACIONAL DE CANCEROLOGÍA
CURSO DE ESPECIALIDAD EN ONCOLOGÍA MÉDICA**

**EVALUACIÓN DE LA SEGURIDAD Y EFICACIA DE LA
GEMCITABINA EN EL TRATAMIENTO CON
QUIMIORRADIOTERAPIA EN PACIENTES CON CÁNCER
CERVICOUTERINO LOCALMENTE AVANZADO CON
DETERIORO RENAL**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
ESPECIALISTA EN ONCOLOGÍA MÉDICA**

PRESENTA:

DR. JOSÉ RODRIGO ESPINOSA FERNÁNDEZ

**DRA. LUCELY DEL CARMEN CETINA PÉREZ
DIRECTOR DE TESIS**

**DR. FERNANDO ULISES LARA MEDINA
PROFESOR TITULAR DEL CURSO**



MÉXICO, D.F.

2015



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.

ÍNDICE

ANTECEDENTES.....	4
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	7
JUSTIFICACIÓN.....	8
PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.....	9
HIPÓTESIS.....	9
OBJETIVOS.....	9
Principal.....	9
Secundarios.....	9
MATERIAL Y METODOS.....	10
Diseño.....	10
Sitio.....	10
Periodo.....	10
Material.....	10
Criterios de selección.....	11
Inclusión.....	11
Exclusión.....	11
Eliminación.....	11
Métodos.....	11
Técnica de muestreo.....	12
Tamaño de la muestra.....	12
Metodología.....	13
Descripción de variables.....	13
Variable dependiente.....	14
Variables independientes.....	14
Recursos humanos.....	17

Recursos materiales.....	17
ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	18
CONSIDERACIONES ÉTICAS.....	19
RESULTADOS.....	20
DISCUSIÓN.....	27
CONCLUSIONES.....	29
REFERENCIAS.....	29

ANTECEDENTES

Epidemiología del Cáncer Cervicouterino

El Cáncer cervicouterino (CaCu) es un problema de salud pública, que ocupa el cuarto lugar en tasas de incidencia a nivel mundial, con un estimado de 528.000 nuevos casos en 2012 (tasa de mortalidad global de 6.8 por 100,000 mujeres). Más de 85% de la carga global ocurre en países en desarrollo, donde representan 12% de los cánceres femeninos (Ferley et al, 2012).

Aproximadamente 15% de nuevos casos ocurre en Latinoamérica, con una prevalencia para cinco años de 207,031 casos, de acuerdo con los registros de 2002, se estima que para el año 2020 habrá un aumento de 41% de casos de CaCu en esta región del mundo. (Morris et al, 1999)

En México el CaCu representa la segunda neoplasia más frecuente en mujeres (tasa de incidencia de 23 por cada 100,000 mujeres), en el 2012 se registraron 4,769 muertes ocupando el segundo lugar en tasas de mortalidad (11.9%) con 8 mujeres por cada 100,000 mujeres (Ferley et al, 2012).

A pesar de los métodos de detección temprana, el 65% corresponde a lesiones invasoras, y alrededor del 80% se diagnostican en etapas localmente avanzadas con estadios clínicos IB2-IVA, (Mohar et al, 2000) de acuerdo con la clasificación de la Federación Internacional de Ginecología y Obstetricia (FIGO).

Tratamiento para el Cáncer Cervicouterino Localmente Avanzado

En México, el cáncer cervicouterino (CaCu) localmente avanzado (etapas IB2 - IVA) representa hasta 80% de los casos. Durante muchas décadas, la radioterapia fue el tratamiento estándar para esta condición clínica; sin embargo, durante 1990 se extendió el uso de quimioterapia asociada a la radioterapia y, finalmente en 1999, el Instituto Nacional del Cáncer de Estados Unidos emitió una observación con respecto al beneficio de la quimio-radioterapia concomitante (Qt-

Rt), en comparación con la radioterapia sola, sustentado con varias publicaciones (Keys et al, 1999, Peters et al, 1999, Rose et al, 1999, Whitney et al, 1999). Todos estos trabajos, mostraron beneficio absoluto a favor del tratamiento combinado. Estos resultados motivaron la realización de más ensayos clínicos; no obstante, algunos fueron difíciles de interpretar debido a la heterogeneidad de los grupos. La diversidad de resultados —incluso algunos contradictorios respecto al beneficio de la quimioterapia— justificó el diseño de varios metanálisis, los cuales finalmente confirmaron el beneficio de la quimio-radioterapia en cáncer cervicouterino localmente avanzado. Se evaluaron esquemas de platino vs. no platino, así como la periodicidad de aplicación (semanal vs. más de una semana) y la intensidad de dosis (≤ 25 mg/m²/semana de cisplatino vs. más de 25 mg/m²/semana). Los objetivos de estos estudios fueron supervivencia global, intervalo libre de recurrencia y toxicidad. Se concluyó que cisplatino (a dosis mayor de 25mg/m²/semana) es el mejor esquema radiosensibilizador, ya que reduce 20% el riesgo de muerte (JCO, 2008).

Al sumar el total de pacientes participantes en los ensayos clínicos realizados, se alcanza la cifra de 4818 pacientes, en las que el tratamiento, basado en quimioterapia /radioterapia simultáneo, muestra claro beneficio en supervivencia global, así como en intervalo libre de recurrencia, con toxicidad aceptable. Concretamente, se observa 6% de beneficio en supervivencia global y 8% en intervalo libre de recurrencia a 5 años (JCO, 2008).

Tratamiento para el Cáncer Cervicouterino Localmente Avanzado en pacientes con Insuficiencia Renal.

Debido a los problemas de salud a los que nos enfrentamos en la actualidad (Diabetes Mellitus tipo 2, Hipertensión arterial), sabemos que hay un subgrupo en la población de pacientes con diagnóstico de CaCu, que se presentan con deterioro de la función renal previo al inicio del tratamiento. Aunado a esto, el porcentaje de pacientes en etapas clínicas localmente avanzadas (EC IIIB en adelante) que cursan con obstrucción renal e hidronefrosis, en las cuales el

tratamiento estándar con Cisplatino puede deteriorar la función del riñón, ha llevado a cabo la búsqueda de otras alternativas como droga radio sensibilizadora. Este ha sido el tema en algunos ensayos clínicos, que sientan las bases para ensayos más extensos.

El Gemcitabine es un análogo de la deoxicitidina que inhibe la síntesis del DNA. Se sabe que tiene actividad contra varias estirpes de cáncer cervicouterino y que es un potente radio sensibilizador como monodroga o combinada con cisplatino (Hernández et al, 2001) Mc Cormack y colaboradores, realizaron un estudio fase IB en el que se incluyó a 10 pacientes no tratadas previamente con CaCu EC IB2-IIIB y se les ofreció manejo con radioterapia y Gemcitabine de manera concomitante a dosis de 50 a 150m/m² durante 6 semanas. Todas excepto una paciente permanecían libres de enfermedad a 29 meses de seguimiento, sin toxicidades limitantes del tratamiento. años (McCormack et al, 2008). Pattarunatporn reporta los resultados de otro estudio fase II con 19 pacientes tratadas con Gemcitabine a dosis de 300 mg/m² semanal durante las 5 semanas de radioterapia en pacientes con CaCu EC IIB. La dosis fue bien tolerada sin reportar toxicidades G3. Todas menos 2 pacientes presentaron respuesta completa a 20 meses de seguimiento con una tasa de supervivencia libre de progresión del 84%. 23 En 2004, Cetina presentó una publicación en la que se incluyeron pacientes en etapas IIIB y IVA, con nefropatía obstructiva, fueron tratadas con radioterapia y gemcitabine como radio sensibilizador, y aunque sólo se incluyeron 9 pacientes, es uno de los primeros trabajos que evidenció a otra droga como radio sensibilizador, especialmente en pacientes en las que el cisplatino se encuentra contraindicado (Cetina et al, 2004).

Obstrucción Renal en Pacientes con CaCu Localmente Avanzado

Existen reportes en el que más del 70% de las pacientes que mueren por Cáncer Cervicouterino presentan evidencia de obstrucción ureteral por compresión, por lo tanto la hidronefrosis secundaria a tumor se incorporó a la etapificación de la FIGO. En general, se acepta que la obstrucción ureteral se asocia con peor

pronóstico en pacientes con cáncer cervicouterino. La intervención médica para prevenir la falla renal es requerida en esta clase de pacientes.²⁴ En un análisis retrospectivos de las pacientes de los estudios GOG 55, 85, 120 y 165 en el que se evaluó la quimiorradioterapia concomitante, se observó que la hidronefrosis estaba presente en el 44.3% de las pacientes con EC IIIB, y mostraban una disminución del estado funcional que impactó de manera negativa tanto en la sobrevida global como la sobrevida libre de progresión. Se logró realizar una derivación de la vía urinaria en el 88% de las pacientes, asociándose a un incremento en la sobrevida (Rose et al, 2010). A pesar de que la derivación de la vía urinaria se asocia a morbilidad en pacientes con tumores urogenitales, en un estudio Romero y Cols. concluyen que hay una mejoría importante de la función renal sin mortalidad asociada al tratamiento. Las pacientes que más se beneficiaron fueron aquellas mayores de 52 años y con cáncer cervicouterino comparado a otras neoplasias (Romero et al, 2005).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En México el Cáncer Cervicouterino representa la segunda neoplasia más frecuente en mujeres y alrededor del 80% se diagnostican en etapas localmente avanzadas con estadios clínicos IB2-IVA, donde el tratamiento estándar es la Quimiorradioterapia concomitante con Cisplatino, droga que tiene riesgo de nefrotoxicidad y cuyo uso no está recomendado en pacientes con deterioro de la función renal.

Un gran porcentaje de la pacientes con enfermedad localmente avanzada, especialmente aquellas que presentan etapa clínica IIIB, cursaa con uropatía obstructiva, aunado a esto sabemos que debido a los problemas de salud a los que nos enfrentamos en la actualidad (Diabetes Mellitus tipo 2, Hipertensión arterial), hay un subgrupo en la población de pacientes, que se presenta con

deterioro de la función renal previo al inicio del tratamiento. Sabemos que el tratamiento con quimiorradioterapia concomitante ofrece un 6% de beneficio en supervivencia global y 8% en intervalo libre de recurrencia a 5 años, sin embargo el Cisplatino puede causar mayor deterioro de la función renal, siendo necesario la investigación con otras drogas menos nefrotóxicas, evitando así privar a estas pacientes del beneficio de la concomitancia.

JUSTIFICACIÓN

El Gemcitabine es un análogo de la deoxicitidina que inhibe la síntesis del DNA. Se sabe que tiene actividad contra varias estirpes de cáncer cervicouterino y que es un potente radio sensibilizador como monodroga o combinada con cisplatino, pudiendo ofrecer el beneficio de la quimioterapia concomitante en pacientes con insuficiencia renal en las que está contraindicado el uso de Cisplatino. Existe un estudio piloto realizado en el Instituto Nacional de Cancerología en donde se evaluó la Gemcitabina como radiosensibilizador en pacientes con deterioro de la función renal, que demostró ser seguro, con tasas de respuesta completa hasta en el 89% de las pacientes y mejoría en los niveles de creatinina sin embargo es importante la limitación de este estudio que es el tamaño de la muestra. En esta Institución, debido a la experiencia previa con esta droga, se ha implementado como una opción de tratamiento en pacientes con deterioro de la función renal, por lo que realizar un estudio retrospectivo de este contexto clínico, aportará mayor información sobre la seguridad y eficacia de la Gemcitabine como radiosensibilizador, sentando las bases para avanzar en un Ensayo Fase II, dependiendo de los resultados encontrados.

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Las pacientes con CaCu localmente avanzado con deterioro renal que reciben quimiorradioterapia con Gemcitabina tendrán una supervivencia global y tasa de respuesta similar a la reportada con Cisplatino?

HIPÓTESIS

Las pacientes con CaCu localmente avanzado tratadas con quimiorradioterapia con Gemcitabina tendrán una Supervivencia Global del 80% y una tasa de respuesta del 90%.

OBJETIVO PRINCIPAL

Evaluar la seguridad y eficacia de la quimiorradioterapia con gemcitabina en pacientes con CaCu con EC IB2-IVA y deterioro renal

Objetivos secundarios

- Evaluar la Supervivencia Global
- Evaluar la Supervivencia Libre de Enfermedad
- Cuantificar la toxicidad presentada durante el Tratamiento
- Determinar la Tasa de Respuesta Objetiva

- Evaluar la función renal previa y después del tratamiento con quimiorradioterapia con gemcitabina en términos de depuración de creatinina.

MATERIAL Y MÉTODOS

DISEÑO

SE TRATA DE UN ESTUDIO OBSERVACIONAL, DE COHORTE RETROSPECTIVO.

SITIO

SE REALIZÓ EN EL INSTITUTO NACIONAL DE CANCEROLOGÍA, PERTENECIENTE A LA SECRETARIA DE SALUD.

PERÍODO

COMPRENDIÓ DE ENERO DE 2003 A DICIEMBRE DEL 2013.

MATERIAL

EXPEDIENTES CLÍNICOS DE LAS PACIENTES.

COMPUTADORA PARA CAPTURA DE LA INFORMACIÓN

PROGRAMA ESTADÍSTICO SPSS VERSIÓN 20 ESPAÑOL, PARA ANÁLISIS DE LOS DATOS

Descripción General: Se trata de un estudio observacional retrospectivo, realizado en el Instituto Nacional de Cancerología perteneciente a la Secretaría de Salud, para el cual se revisaron 6000 expedientes de pacientes diagnosticados con Cáncer Cervicouterino atendidas en el servicio de gineco-oncología y

oncología médica en el periodo que comprendió de Enero del 2003 a Diciembre del 2013

1) Criterios de selección

Inclusión:

- Pacientes con reporte histopatológico (RHP) de carcinoma epidermoide, adenocarcinoma, adenoescamoso o de células vidriosas
- Pacientes con Enfermedad Localmente avanzada EC IB2 – IVB (únicamente por enfermedad ganglionar en retroperitoneo).
- Pacientes candidatas a Quimioradioterapia concomitante basada en Gemcitabine
- Pacientes mayores de 18 años
- Pacientes con creatinina sérica por arriba de 1.5mg/dl antes de inicio del tratamiento.
- Pacientes que tengan datos completos en su expediente tanto físico como electrónico, si aplica.
- Pacientes que tengan enfermedad medible por TAC/ RM y que tengan al menos una evaluación después de haber terminado el tratamiento de QTRT basada en Gemcitabine.

Exclusión

- Pacientes con presencia de un segundo tumor
- Pacientes embarazadas o en período de lactancia.
- Pacientes con cáncer cérvico-uterino de células pequeñas y/o neuroendócrino.

Eliminación

- Expedientes incompletos o no disponibles.

2) Métodos

Se trata de una cohorte histórica del periodo de 2003 a 2013 de pacientes con CaCu localmente avanzado que recibieron Gemcitabine como radiosensibilizante. Se incluyeron pacientes con tumores malignos de origen epitelial del cuello uterino

en primera línea de tratamiento diagnosticadas con enfermedad localmente avanzada EC IB2 a IVB(por ganglios en retroperitoneo), que fueron atendidas en el servicio de ginecología y oncología del Instituto Nacional de Cancerología de México. Se realizó una búsqueda intencionada en el archivo clínico del INCAN, identificando a las pacientes que recibieron como radiosensibilizante Gemcitabina y cursaban con creatinina por arriba de 1.5mg/dl antes del inicio del tratamiento. De estas se analizaran a aquellas que cumplan los criterios de inclusión para su análisis. Se catalogaran los Eventos Adversos deacurdo al CTCEA v.4.2

3) Técnica de muestreo

Se trata de una cohorte histórica del periodo de 2003 a 2013 de pacientes con CaCu localmente avanzado que recibieron Gemcitabine como radiosensibilizante y cursaban con creatinina por arriba de 1.5 mg/dl antes del inicio del tratamiento.

4) Tamaño de la muestra:

61 pacientes.

$$n = \frac{Z^2 pq N}{NE^2 + Z^2 pq}$$

Donde

- n es el tamaño de la muestra;
- Z es el nivel de confianza;
- p es la variabilidad positiva;
- q es la variabilidad negativa;
- N es el tamaño de la población;
- E es la precisión o el error.

$$n = \frac{(1.96^2)(0.5)(0.5)(30)}{(30)(0.05^2) + (1.96^2)(0.5)(0.5)} = 61.8269$$

Metodología

1. Se realizó una búsqueda en el archivo clínico de los expedientes de todas las pacientes que recibieron QTRT concomitante con Gemcitabine entre Enero del 2003 y Diciembre del 2013.
2. Se seleccionaron aquellas que tenían creatinina sérica por arriba de 1.5 mg/dl previo al inicio del tratamiento.
3. Se realizó la captura de las variables clínicas y patológicas de los expedientes en una hoja de cálculo en una computadora personal.
4. Se realizó el análisis de los datos y se elaboraron tablas de frecuencia y gráficos descriptivos.

Descripción de variables

Variable Dependiente

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Escala	Unidad de medición
Creatinina al inicio del tratamiento	Medición de la creatinina sérica antes de iniciar el tratamiento			
Creatinina al finalizar el tratamiento	Medición de la creatinina sérica después de finalizar el tratamiento			
Depuración de creatinina al inicio del tratamiento	Cálculo de la depuración de creatinina antes de iniciar el tratamiento.	Se utilizó la fórmula de Cockcroft-Gault $\frac{(140 - \text{Edad}) \times \text{Peso (en kilogramos)}}{72 \times \text{Creatinina en plasma (en mg/dl)}} \times (0,85 \text{ si es mujer})$		
Depuración de creatinina al finalizar el tratamiento	Cálculo de la depuración de creatinina posterior a terminar el tratamiento.	Se utilizó la fórmula de Cockcroft-Gault $\frac{(140 - \text{Edad}) \times \text{Peso (en kilogramos)}}{72 \times \text{Creatinina en plasma (en mg/dl)}} \times (0,85 \text{ si es mujer})$		
Sobrevida global	Tiempo transcurrido entre la fecha de inicio del tratamiento de la paciente y la falla, en este caso la muerte.	Tiempo transcurrido entre la fecha de inicio de tratamiento de la paciente y la	Dimensional continua	No. de meses

		fecha registrada de muerte o fecha de última visita en caso de pacientes perdidas o vivas al momento del analisis		
Sobrevida libre de progresión	Tiempo transcurrido entre el inicio del tratamiento de la paciente y el diagnóstico de progresión de la enfermedad.	Tiempo transcurrido entre inicio del tratamiento de la paciente y la fecha registrada de progresión de la enfermedad.	Dimensional continua	No. de meses

Variable Independiente

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Escala	Unidad de medición
Respuesta	<p>Cambios en los diámetros mayores de las lesiones blanco considerando:</p> <p>Respuesta Completa.- Desaparición de todas las lesiones diana</p> <p>Respuesta Parcial.- Reducción de al menos 30% de la suma de los diámetros mayores de las lesiones diana, tomando como referencia la suma</p> <p>Enfermedad Progresiva.- Incremento de al menos el 20% en la suma de los diámetros mayores de base</p> <p>Enfermedad Estable.- Reducción no suficiente para calificar como RP o incremento insuficiente para calificar como</p>	<p>Se evaluara la respuesta con TAC y/o RM a través del reporte por escrito del radio-oncólogo – investigador asociado.</p>	<p>Nominal Policotomica</p>	<p>1. RC 2. RP 3. EP 4. EE</p>

	EP, tomando como referencia la suma más pequeña de los diámetros mayores desde el inicio del tratamiento			
Evento Adverso	Cualquier suceso adverso de tipo médico en un paciente o sujeto de una investigación clínica al que se le ha administrado un producto farmacéutico y que no necesariamente tiene una relación causal con este tratamiento. Por lo tanto, un evento adverso puede ser cualquier signo desfavorable y de origen no intencional (incluyendo un hallazgo anormal de laboratorio), síntoma o enfermedad asociados temporalmente al uso de un producto medicinal (en investigación), esté o no relacionado con éste	Se registra en la nota clínica de cada una de las pacientes los EA que se presentan los cuales se clasificarán de acuerdo al CTCEA v.4.2	Nominal Policotómica	<ol style="list-style-type: none"> 1. Grado 1 2. Grado 2 3. Grado 3 4. Grado 4 5. Grado 5
Gemcitabine	El clorhidrato de gemcitabina un análogo de nucleósido que tiene actividad antitumoral es un citotóxico.	Se recabará de la hoja de QT el no. De ciclos, así como la dosis utilizada en cada uno de ellos	DimENSIONAL Continua	No. De ciclos administrados Dosis expresada en número entero
Radioterapia				
Braquiterapia				
Presencia o no de derivación uronaria.	Presencia o no de derivación uronaria por nefrostomía percutánea o colocación de catéter doble J.	Se buscará registro en el expediente físico de derivación de la vía urinaria.	DimENSIONAL Policotómica	Sí o no.

Variables Antecedentes

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Escala	Unidad de medición
Estadio Clínico	Clasificación clínica para definir la extensión anatómica del tumor	Se extraerá del expediente físico o electrónico de la nota de oncología medica, el estadio clínico al diagnóstico de CaCu	Nominal Policotomica	1. IB2 IVA
Tipo Histológico	Clasificación de la estructura microscópica que presentan las células.	Se extraerá del expediente electrónico de la nota de anatomía patológica el tipo histológico de la biopsia para el diagnóstico de CaCu	Nominal Policotomica	1. Carcinoma epidermoide de células grandes 2. Carcinoma epidermoide de células pequeñas 3. Adenocarcinoma 4. Carcinoma adenoescamoso
Edad	Años cumplidos desde el nacimiento hasta el día del inicio de tratamiento	Se registrará la edad en años referida en el expediente clínico al momento del inicio de tratamiento	Dimensional continua	Números enteros. Años
Anemia	Hemoglobina menor al límite inferior normal reportado por el laboratorio central al inicio del tratamiento	Se tomara el resultado de la hemoglobina al inicio del tratamiento y se clasificara de acuerdo al CTCEA v.4.2	Nominal Policotomica	1. G1 2. G2 3. G3 4. G4 5. G5
Hipertension Arterial Sistémica	Es la elevación de resistencia arterial cuando la presión arterial sistolica es >140 mmHg (HTA sistólica) y/o cuando la presión arterial diastolica es >90 mmHg (HTA diastólica).	Se tomara de la ficha de registro de QT la HTA antes de iniciar la QT	Ordinal	1. Estadio I 2. Estadio II

Diabetes Mellitus	La diabetes mellitus es un conjunto heterogéneo de síndromes de etiopatogenia multifactorial. El nexo común es el trastorno metabólico, fundamentalmente la hiperglucemia crónica, aunque también las alteraciones en el metabolismo lipídico y proteico.	Se tomara del expediente clínico del la Química Snaguinea el Nivel de Glucosa y se clasificara de acuerdo al CTCEA V.4.2	Ordinal	<ol style="list-style-type: none"> 1. G1 2. G2 3. G3 4. G4 5. G5
ECOG	La escala ECOG valora el estado funcional referente al estado de salud general y las actividades diarias que un paciente puede llevar a cabo	Se tomara de la nota de Oncología Médica al inicio del tratamiento	Ordinal	<ol style="list-style-type: none"> 1. 0 2. 1 3. 2 4. 3 5. 4 6. 5

Recursos Humanos

La recolección de datos y revisión de expedientes se realizó por el Dr. José Rodrigo Espinosa Fernández, tesista.

El análisis de los resultados se realizó por el Dr. José Rodrigo Espinosa Fernández, tesista.

Todos los procedimientos se supervisarón por el comité tutorial del proyecto; Dra. Lucely del Carmen Cetina Pérez.

La revisión intelectual de la elaboración del protocolo y de los resultados se realizó por el grupo de investigadores, Dr. José Rodrigo Espinosa Fernández, tesista, la Dra Lucely del Carmen Cetina Pérez, y Roberto Jiménez académico en estadística.

Recursos materiales

Expedientes clínicos del Instituto Nacional de Cancerología, secretaria de salud.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS RESULTADOS

Para el análisis se utilizó el paquete estadístico SPSS v.23

El plan estadístico constó de dos etapas fundamentales: la exploración de los datos y la parte inferencial, donde se realizaron diversas pruebas estadísticas para la confirmación de las hipótesis de trabajo, así como vislumbrar otras posibles hipótesis.

La etapa exploratoria se hizo con los siguientes objetivos:

- a) Conocer el comportamiento global de las principales variables registradas en el estudio.
- b) Determinar la existencia de valores inconsistentes, datos faltantes (perdidos) y fuera de rango.
- c) Valorar el cumplimiento de las hipótesis necesarias para la aplicación de las pruebas estadísticas que se utilizarán

Para el análisis de los estadísticos descriptivos se utilizaron frecuencias para las variables cualitativas; y media y desviación estándar o mediana y rango intercuartilar para las variables cuantitativas.

Para el análisis de eficacia se evaluó la Respuesta Global con Prueba de Chi cuadrada

Para el análisis de la toxicidad se evaluaron los eventos adversos que presentaron las pacientes durante el tratamiento, se registraron por paciente y se calcularon las razones odds de desarrollar el eventos adverso.

Se estimaron los tiempos de supervivencia de todas las pacientes a partir de la fecha de inicio de tratamiento mediante el estimador no paramétrico de Kaplan-Meier.

Se aplicó el Formato de regresión de Cox para evaluar la influencia de las variables de control en el tiempo de supervivencia

CONSIDERACIONES ETICAS

REGLAMENTO de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud ARTICULO 17.- Se considera como riesgo de la investigación a la probabilidad de que el sujeto de investigación sufra algún daño como consecuencia inmediata o tardía del estudio. Para efectos de este Reglamento, las investigaciones se clasifican en las siguientes categorías;

I.- Investigación sin riesgo: Son estudios que emplean técnicas y métodos de investigación documental retrospectivos y aquéllos en los que no se realiza ninguna intervención o modificación intencionada en las variables fisiológicas, psicológicas y sociales de los individuos que participan en el estudio, entre los que se consideran: cuestionarios, entrevistas, revisión de expedientes clínicos y otros, en los que no se le identifique ni se traten aspectos sensitivos de su conducta;

RESULTADOS

Se analizaron de manera retrospectiva los expedientes de 4,733 pacientes diagnosticadas con Cáncer Cervicouterino y tratadas en el servicio de Ginecología y Oncología Médica del Instituto Nacional de Cancerología de Enero del 2003 a Diciembre del 2014. Se seleccionó a 136 pacientes con enfermedad localmente avanzada y deterioro de la función renal que fueron tratadas con Quimiorradioterapia concomitante con Gemcitabina. El 11% de ellas eran pacientes mayores de 60 años, presentando una mediana de edad de 55 años (R 29-89 años), El 44% presentaba etapa clínica IIIB siendo el estadio clínico más frecuente y el 17.6% etapa clínica IVA siendo la segunda en frecuencia. El 11% no pudieron ser clasificadas. El tipo histológico más frecuente fue el Carcinoma Epidermoide en el 89.7% seguido del Adenocarcinoma en un 5.1%. En cuanto a comorbilidades 58.9% contaban ya con el diagnóstico de Enfermedad Renal Crónica, 18.5% Diabéticas y 23.6% Hipertensas (Tabla 1).

TABLA 1 Características Basales

	n 136 (%)
Edad (años)	
Mediana	55
Rango	29-89
Vulnerabilidad	
DM	10 (7.4)
HTA	12 (8.8)
Enfermedad Renal	70 (51.5)
>60 años	15 (11)
DM + HTA	10 (7.4)
DM + HTA + ER	5 (3.7)
HTA + ER	5 (3.7)
Otras	9 (6.6)
Tipo Histológico	
Carcinoma Epidermoide	122 (89.7)
Adenocarcinoma	7 (5.1)
Carcinoma de adenoescamoso	5 (3.7)

Otros	2 (1.5)
Estadio Clínico	
IB1	2 (1.5)
IB2	1 (0.7)
IIA	1 (0.7)
IIA1	3 (2.2)
IIB	23 (16.9)
IIIA	3 (2.2)
IIIB	60 (44.1)
IVA	24 (17.6)
IVB	4 (2.9)
No clasificable	15 (11)
HB (mg/dl)	
Mediana	11.1
Rango	5.3-17
Abreviaturas: DM = Diabetes Mellitus, HTA = Hipertensión Arterial Sistémica, ER=Enfermedad Renal, HB= Hemoglobina pre-tratamiento.	

En la Tabla 2 se presentan las características del tratamiento. 90 pacientes (66.2%) completó de 4 a 6 ciclos de Quimioterapia concomitante con Gemcitabine y 46 (33.8%) completó 1 a 3 ciclos dando una media de 4 ciclos. El 92.6% logró completar 50 Gys de tratamiento con radioterapia con una media total de 50.57 Gys. 99 pacientes (72.8%) recibió braquiterapia posterior a la quimiorradioterapia (Tabla 2).

En cuanto a la eficacia del tratamiento, se logró medir respuesta por clínica o por imagen en 118 pacientes, obteniendo respuesta completa en 86 pacientes (72%), respuesta parcial en 10 (8.5%), enfermedad estable en 2 (1.7%) y 20 pacientes (18.6%) progresaron. Se observó una tasa de respuesta global del 81.4% (Tabla 3).

Tabla 2 Características del Tratamiento		n 136 (%)
No. de Ciclos de Gemcitabina		
1	7 (5.1)	
2	12 (8.8)	
3	27 (19.9)	
4	38 (27.9)	
5	32 (23.5)	
6	20 (14.7)	
No.de Ciclos de Gemcitabina		
1 ≤ 3	46 (33.8)	
4 - 6	90 (66.2)	
Ciclos de Gemcitabina Media (DE)	4 (1.3)	
RT Externa		
< 50 Gys	10 (7.4)	
≥ 50 Gys	126 (92.6)	
RT-Total-Gys		
Media	50.57 (7.9)	
Recibio BT		
Si	99 (72.8)	
No	37 (27.2)	
No. de días de Tratamiento		
Mediana	25	
Rango Intercurtilar	25-28	
Abreviaturas DE=Desviación Estándar RT=Radioterapia BT=Braquiterapia		

TABLA 3 Respuesta al Tratamiento		n= 118
Evaluación respuesta		
RC	86 (72.9)	
RP	10 (8.5)	
EE	2 (1.7)	
EP	20 (16.9)	
Con Respuesta (RC + RP)	96 (81.4)	
Sin Respuesta	22 (18.6)	

En Supervivencia Global se reportan 44 eventos, a 120 meses no se alcanza la mediana, dando una SG media de 66.3 meses (IC 95% 55.6 – 76.93) (Figura1). En supervivencia libre de progresión medida en 86 pacientes que alcanzaron respuesta completa, hubo 34 eventos de recurrencia (39%) dando una media de SLE de 60.59 meses (IC 95% 48.76 – 72.42) (Figura 2).

Figura 1

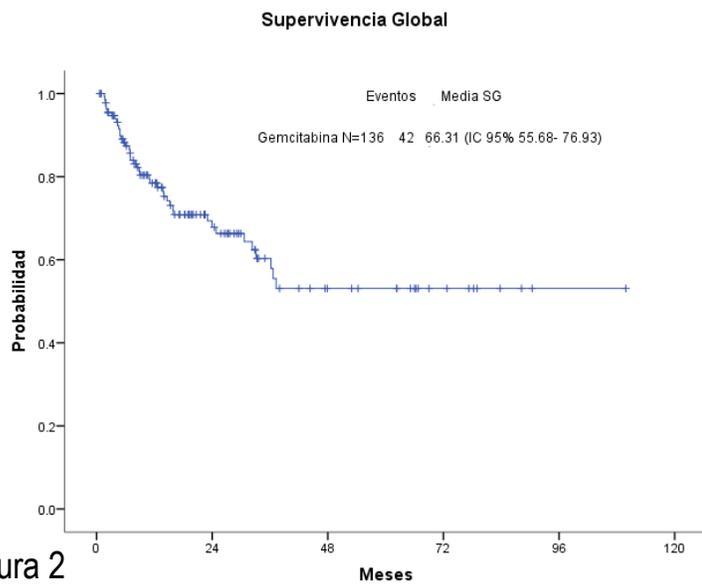
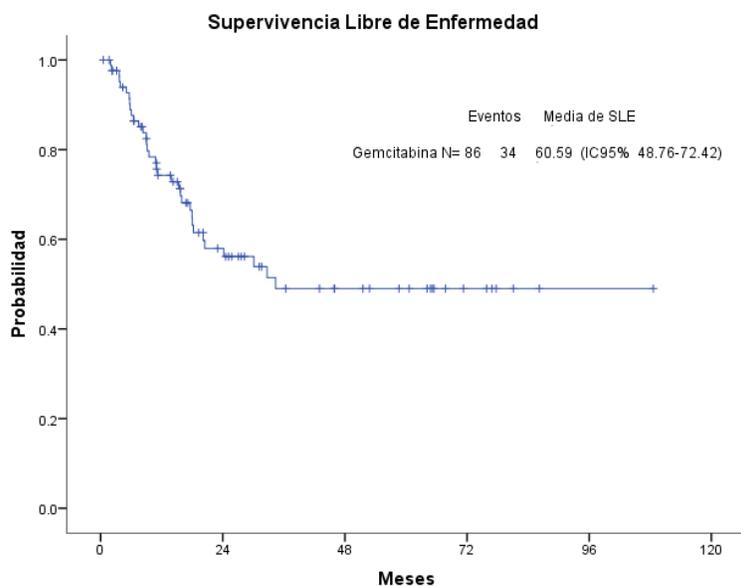


Figura 2



El 61% de las pacientes presentó creatinina basal entre 1.2 y 5 mg/dl y el 8.8% por arriba de 5 mg/dl (Tabla 4).

Creatinina Basal Tabla 4	n=136 (%)
<1.2	41 (30.1)
1.2 – 5	83 (61.0)
>5	12 (8.8)

43 pacientes que presentaron uropatía obstructiva fueron derivadas siendo el catéter percutáneo la modalidad utilizada con mayor frecuencia en el 69.7%, seguida por la colocación de Catéter Doble JJ en el 21% (Tabla 5).

Derivación Urinaria Tabla 5	n=43 (%)
Catéter Percutaneo	30 (69.7)
Catéter doble JJ	9 (21)
Catéter Percutaneo + Doble JJ	3 (7)
Ureterostomia	1 (2.3)

En las tablas 6 y 7, presentamos la mediana de depuración de creatinina antes y después del tratamiento en pacientes con derivación de la vía urinaria (Tabla 6) y en pacientes sin derivación de la vía urinaria (Tabla 7), encontrando una mejoría estadísticamente significativa en ambos grupos de pacientes (prueba de Wilcoxon, con un nivel de significancia de 0.05).

Tabla 6 Post-Tratamiento Función Renal con Derivación Urinaria			
	Depuración de Creatinina Pre-Tx n= 43	Depuración de Creatinina Post-Tx n= 38	P*
Mediana (ml/min)	32	49	.000
*Prueba de Wilcoxon. Nivel de Significancia de 0.05			

Tabla 7 Post-Tratamiento Función Renal sin Derivación Urinaria			
	Depuración de Creatinina Pre-Tx n=90	Depuración de Creatinina Post-Tx n=89	P*
Mediana (ml/min)	44	48	.000
*Prueba de Wilcoxon. Nivel de Significancia de 0.05			

Al realizar el cálculo general de la función renal previa al tratamiento encontramos una mediana de depuración de creatinina de 38 ml/min y posterior al tratamiento de 49 ml/min, encontrando una mejoría estadísticamente significativa (prueba de Wilcoxon p 0.000, nivel de significancia 0.05) (Tabla 8.)

Tabla 8 Función Renal Previa y Posterior al Tratamiento			
	Depuración de Creatinina Pre-Tx	Depuración de Creatinina Post-Tx	P*
Mediana (ml/min)	38	49	.000
*Prueba de Wilcoxon. Nivel de Significancia de 0.05			

La severidad de los eventos adversos se realizó mediante el CTCAE V. 4.0, encontrando ningún evento grado 5 y neutropenia G4 únicamente en el 0.7%. En eventos grados 1 y 2 lo más comunes fueron fatiga (G2 73.5%), náuseas (G2 69.9%), vómito (G2 50%), diarrea (G2 37.5%) y neutropenia (G2 20.6%) (Tabla 5).

Tabla . Frecuencia de eventos adversos por grado de severidad						
Evento adverso	Grado 1	Grado 2	Grado 3	Grado 4	Grado 5	Sin Toxicidad
	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
Náuseas	22 (16.2)	95 (69.9)	2 (1.5)	-	-	17 (12.5)
Vómito	23 (16.9)	68 (50)	2 (1.5)	-	-	43 (31.6)
Diarrea	20 (14.7)	51 (37.5)	14 (10.3)	-	-	51 (37.5)
Estreñimiento	22 (16.1)	10 (7.4)	-	-	-	104 (76.5)
Mucositis oral	1 (0.7)	-	-	-	-	135 (99.3)
Prurito	-	1 (0.7)	1 (0.7)	-	-	134 (98.5)
Cefalea	2 (1.5)	1 (0.7)	-	-	-	133 (97.8)
Escalofrió	3 (2.2)	-	-	-	-	133 (97.8)
Anorexia	9 (6.6)	4 (2.9)	1 (0.7)	-	-	122 (89.7)
Fatiga	7 (5.1)	100 (73.5)	4 (2.9)	-	-	25 (18.4)
Edema	4 (2.9)	3 (2.2)	-	-	-	129 (94.9)
Dolor Abdominal	31 (22.8)	6 (4.4)	-	-	-	99 (72.8)
Cistitis no infecciosa	26 (19.1)	17 (12.5)	1 (0.7)	-	-	92 (67.6)
Neutropenia	3(2.2)	28 (20.6)	27 (19.9)	1 (0.7)	-	77 (56.6)
Leucopenia	9 (6.6)	33(24.3)	23 (16.9)	1 (0.7)	-	70 (51.4)

Linfopenia	-	10 (7.4)	22 (16.2)	-	-	104 (76.5)
Anemia	34 (25)	31 (22.8)	11 (8.1)	-	-	60 (44.1)
Trombocitopenia	2 (1.5)	2 (1.5)	1 (0.7)	-	-	131 (96.3)
La severidad de los eventos adversos se realizó mediante el CTCAE V. 4.0						

DISCUSIÓN

En el presente trabajo, el tratamiento con quimiorradioterapia concomitante con gemcitabine en pacientes con Cáncer Cervicouterino localmente avanzado y deterioro de la función renal fue bien tolerado y demostró una supervivencia global media de 66.3 meses y supervivencia libre de progresión de 60.5 meses a 120 meses de seguimiento, con ningún evento adverso G4 y únicamente neutropenia G3 en el 0.7%. Como se describe en la literatura, el 44% de las pacientes presentaba etapa clínica IIIB siendo el estadio clínico más frecuente y un factor de riesgo para el desarrollo de uropatía obstructiva. En cuanto a comorbilidades 58.9% contaban ya con el diagnóstico de Enfermedad Renal Crónica, 18.5% Diabéticas y 23.6% Hipertensas. Analizando el apego al tratamiento el 66.2% completó de 4 a 6 ciclos de Quimioterapia concomitante con gemcitabine y el 92.6% logró completar 50 Gy, observándose una tasa de respuesta global del 81.4%. A pesar de que 43 pacientes que presentaron uropatía obstructiva fueron derivadas, la mediana de depuración de creatinina antes y después del tratamiento mejoró de manera estadísticamente significativa en ambos grupos de pacientes, sin embargo el análisis se realizó por separado. Al realizar el cálculo general de la función renal previa al tratamiento encontramos una mediana de depuración de creatinina de 38 ml/min y posterior al tratamiento de 49 ml/min, encontrando una mejoría estadísticamente significativa. Encontramos como principal limitante del estudio, el carácter retrospectivo del mismo, consideramos nuestros resultados confiables, pudiendo ser el gemcitabine una opción alterna al

Cisplatino que deberá ser evaluada en estudios prospectivos, siendo necesario determinar cuál es el número mínimo de ciclos necesario para lograr una buena tasa de respuesta, pregunta que no logramos contestar con nuestros resultados.

La quimiorradioterapia concomitante con cisplatino es el tratamiento estándar para el Cáncer Cervicouterino localmente avanzado (EC 1B2 - IVA), dando un beneficio del 6% en supervivencia libre de progresión y del 8% en supervivencia global agregando la quimioterapia a la radioterapia (JCO 2008). Debido al riesgo que conlleva el uso del cisplatino cuando existe deterioro de la función renal, en muchos centros se priva a este subgrupo del beneficio de la concomitancia, siendo necesario el ensayar otras alternativas como fármacos radiosensibilizadores. El Cáncer Cervicouterino en EC IIIB que cursa con obstrucción renal e incluso etapas más tempranas en pacientes que cursan con deterioro renal previo al inicio del tratamiento, es un reto para el clínico. En general se reporta en la literatura que a 5 años la supervivencia en pacientes en EC IIIB es del 30% al 50% cuando son tratadas únicamente con radioterapia (Barrilot et al, 1998).

El gemcitabine es un análogo de la deoxicitidina que inhibe la síntesis del DNA. Se sabe que tiene actividad contra varias estirpes de cáncer cervicouterino y que es un potente radio sensibilizador como monodroga o combinada con cisplatino, siendo evaluado en varios estudios clínicos fase II reportando periodos libres de enfermedad de hasta 29 meses y supervivencia libre de progresión del 84% sin toxicidades G3 relacionadas a tratamiento. (Hernández et al, 2001) (McCormack et al, 2008). En el 2004, se presentó un estudio en la que se incluyeron pacientes en etapas IIIB y IVA, con nefropatía obstructiva, que fueron tratadas con radioterapia y gemcitabine como radio sensibilizador, y aunque sólo se incluyeron 9 pacientes, es uno de los primeros trabajos que evidenció a otra droga como radiosensibilizador alterno al cisplatino, mostrando mejoría en los niveles de creatinina (Cetina et al, 2008). Consideramos que este estudio es uno de los pocos que existe en la literatura que valora el tratamiento con quimiorradioterapia concomitante específicamente en pacientes con Cáncer Cervicouterino localmente avanzado que cursan con deterioro de la función renal, encontrando una

supervivencia global que puede ser comparada a la reportada con el tratamiento estándar.

CONCLUSIONES

En este estudio retrospectivo encontramos que la quimiorradioterapia concomitante con gemcitabine, ofrece tasas de respuesta global del 81%, con un buen perfil de toxicidad, mejorando de manera significativa la función renal en pacientes que cursan con deterioro previo al inicio del tratamiento. Por la metodología y diseño del estudio, no podemos comparar superioridad a otros regímenes o al tratamiento estándar, sin embargo nuestros resultados apoyan la necesidad de continuar ensayando en estudios fase II o fase III a la gemcitabine como radiosensibilizador alternativo especialmente en la población de pacientes que cursan con deterioro de la función renal.

REFERENCIAS

Ferlay J, Soerjomataram I, Ervik M, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, Parkin DM, Forman D, Bray, F. GLOBOCAN 2012 v1.0, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase No. 11 [Internet]. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer; 2013. Available from: <http://globocan.iarc.fr>, accessed on day/month/year.

Keys HM, Bundy BN, Stehman FB, Muderspach LI, Chafe WE, Suggs CL 3rd, et al. Cisplatin, radiation and adjuvant hysterectomy compared with radiation and

adjuvant hysterectomy for bulky stage IB cervical carcinoma. N Engl J Med 1999; 340(15):1154-1161.

Morris M, Eifel PJ, Lu J, Grigsby PW, Levenback C, Stevens RE, et al. Pelvic radiation with concurrent chemotherapy compared with pelvic and para-aortic radiation for high-risk cervical cancer. N Engl J Med 1999; 340:1137-1143.

Peters WA, Liu PY, Barrett RGW. Cisplatin, 5-Fluorouracil plus radiation therapy are superior to radiation therapy as adjunctive therapy in high risk, early stage carcinoma of the cervix after radical hysterectomy and pelvic lymphadenectomy: Report of a Phase III inter group study. Presented at Soc Gynecol Oncol 30th Annual Meeting, San Fransisco, CA, February 5-9, 1999

Rose PG, Bundy BN, Watkins EB, Thigpen JT, Deppe G, Maiman MA, et al. Concurrent cisplatin-based radiotherapy and chemotherapy for locally advanced cervical cancer. N Engl J Med 1999; 340:1144-1153.

Whitney CW, Sause W, Bundy BN, Malfetano JH, Hannigan EV, Fowler WC Jr, et al. Randomised comparison of fluorouracil plus cisplatin versus hydroxyurea in stage IIB/IVA in carcinoma of the cervix. J Clin Oncol 1999; 17: 1339-1348.

Thomas G, Dembo A, Ackerman I, Franssen E, Balogh J, Fyles A, et al. A randomized trial of standard versus partially hyper-fractionated radiation with or without concurrent 5-fluorouracil in locally advanced cervical cancer. Gynecol Oncol 1998; 69:137-145.

Pearcey R, Brundage M, Drouin P, Jeffrey J, Johnston D, Lukka H, et al. Phase III trial comparing radical radiotherapy with and without cisplatin chemotherapy in patients with advanced squamous cell cancer of the cervix. J Clin Oncol 2002; 20:966-972.

Onishi H, Yamaguchi M, Kuriyama K, Tsukamoto T, Ishigame K, Ichikawa T, et al. Effect of concurrent intra-arterial infusion of platinum drugs for patients with stage III or IV uterine cervical cancer treated with radiotherapy. *Cancer J Sci Am* 2000; 6:40-45.

Antardic N, Ešlija Begić. Comparison of parameters of melotocitin in patients treated with concomitant chemotherapy and radiotherapy versus radiotherapy alone. *Med Arh* 2004; 58:19-22.

Peters WA 3rd, Liu PY, Barrett RJ 2nd, Stock RJ, Monk BJ, Berek JS, et al. Concurrent chemotherapy and pelvic radiation therapy compared with pelvic radiation therapy alone as adjuvant therapy after radical surgery in high-risk early-stage cancer of the cervix. *J Clin Oncol* 2000; 18: 1606-1613.

Cikaric S, Petrovic-Stupar S, Marjanov I. Radiotherapy vs. radiotherapy-chemotherapy of advanced cervical cancer: Regression of tumour, early and late sequelae, relapses of disease and 3 years survival (the third phase). *Eur J Cancer* 2005; 3:266 (suppl).

Garipağaoğlu M, İnkıçoğlu F, Öse MF, Adli M, Gülkesen H, Oçak Z, et al. Adding concurrent low dose continuous infusion of cisplatin to radiotherapy in locally advanced cervical carcinoma: A prospective randomized pilot study. *Br J Radiol* 2004; 77:581-587.

Roberts KB, Urdaneta N, Vera R, Vera A, Gutierrez E, Aguilar Y, et al. Interim results of a randomized trial of mitomycin C as an adjunct to radical radiotherapy in the treatment of locally advanced squamous-cell carcinoma of the cervix. *Int J Cancer* 2000; 90:206-223.

Lal P, Saibish Kumar E, Tiwari A. Chemoradiation versus radiotherapy alone in locally advanced carcinoma of the uterine cervix: An ongoing phase III trial.

Presented at the 23rd Annual Meeting of the European Society for Therapeutic Radiology and Oncology, Amsterdam, the Netherlands.2004; October 24-28 (abstr 673)

Chemoradiotherapy for cervical cancer meta-analysis collaboration. Reducing uncertainties about the effects of chemoradiotherapy for cervical cancer: A systematic Review and meta-analysis of individual patient data from 18 randomized trials. *J Clin Oncol* 2008; 26:5802-5812.

Wong LC, Ngan HY, Cheung AN, Cheng DK, Ng TY, Choy DT. Chemoradiation and adjuvant chemotherapy in cervical cancer. *J Clin Oncol* 1999; 17: 2055-2060.

Cetina L, Rivera L, Candelaria M, de la Garza J, Dueñas-González A. Chemoradiation with gemcitabine for cervical cancer in patients with renal failure. *Anticancer Drugs* 2004; 15(8):761-6.

Cetina L, Garcia-Arias A, Uribe Mde J, Candelaria M, Rivera L, Oñate-Ocaña L, et al. Concurrent chemoradiation with carboplatin for elderly, diabetic and hypertensive patients with locally advanced cervical cancer 200. *Eur J Gynaecol Oncol* 2008; 29(6):608-12.

Coronel JA, Cetina L del C, Cantú D, Cerezo O, Hernández CS, Rivera L, et al. A randomized comparison of cisplatin and oral vinorelbine as radiosensitizers in aged or comorbid locally advanced cervical cancer patients. *Int J Gynecol Cancer* 2013; 23(5):884-9.

Hernandez P, Olivera P, Dueñas-Gonzalez A, et al. Gemcitabine activity in cervical cancer cell lines. *an cer he mother Pharmacol* 2001;48:488-92.

McCormack M, Thomas H. A phase Ib study of gemcitabine (GEM) and concurrent radiotherapy (RT) in carcinoma of the cervi . *Ann Oncol* 2000;11:88-9.

Pattaranutaporn P, Thirapakawong C, Chansilpa Y, Thersakvivhya S, leumwananontachai N, Thephamongkhol K. Phase II study of concurrent gemcitabine and radiotherapy in locally advanced stage IIIB cervical carcinoma. *Gynecol Oncol* 2001;81:404–7.

Chao K.S., Leun WM et al. The Clinical Implications of Hydronephrosis and the level of ureteral obstruction in stage IIIB Cervical Cancer. *Int. J. Radiation Oncology Biol. Phys.*, Vol. 40, No. 5, pp. 1095–1100, 1998

Rose Peter, Ali Shamshad et al. Impact of hydronephrosis on outcome of stage IIIB cervical cancer patients with disease limited to the pelvis, treated with radiation and concurrent chemotherapy: A Gynecologic Oncology Group study. *Gynecologic Oncology* 117 (2010) 270–275

Romero Federico, Borglio Marcos y cols. Indications for Percutaneous Nephrostomy in Patients with Obstructive uropathy due to malignant urogenital neoplasias. *International Braz J Urol* Vol. 31 (2): 117-124, Mar - Abril, 2005.

Barillot I, Horiot JC, Pigneux J, Schraub S, Pourquier H, Daly N, et al. Carcinoma of the intact uterine cervix treated with radiotherapy alone: a French cooperative study: update and multivariate analysis of prognostic factors. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1997; 38:969–978.