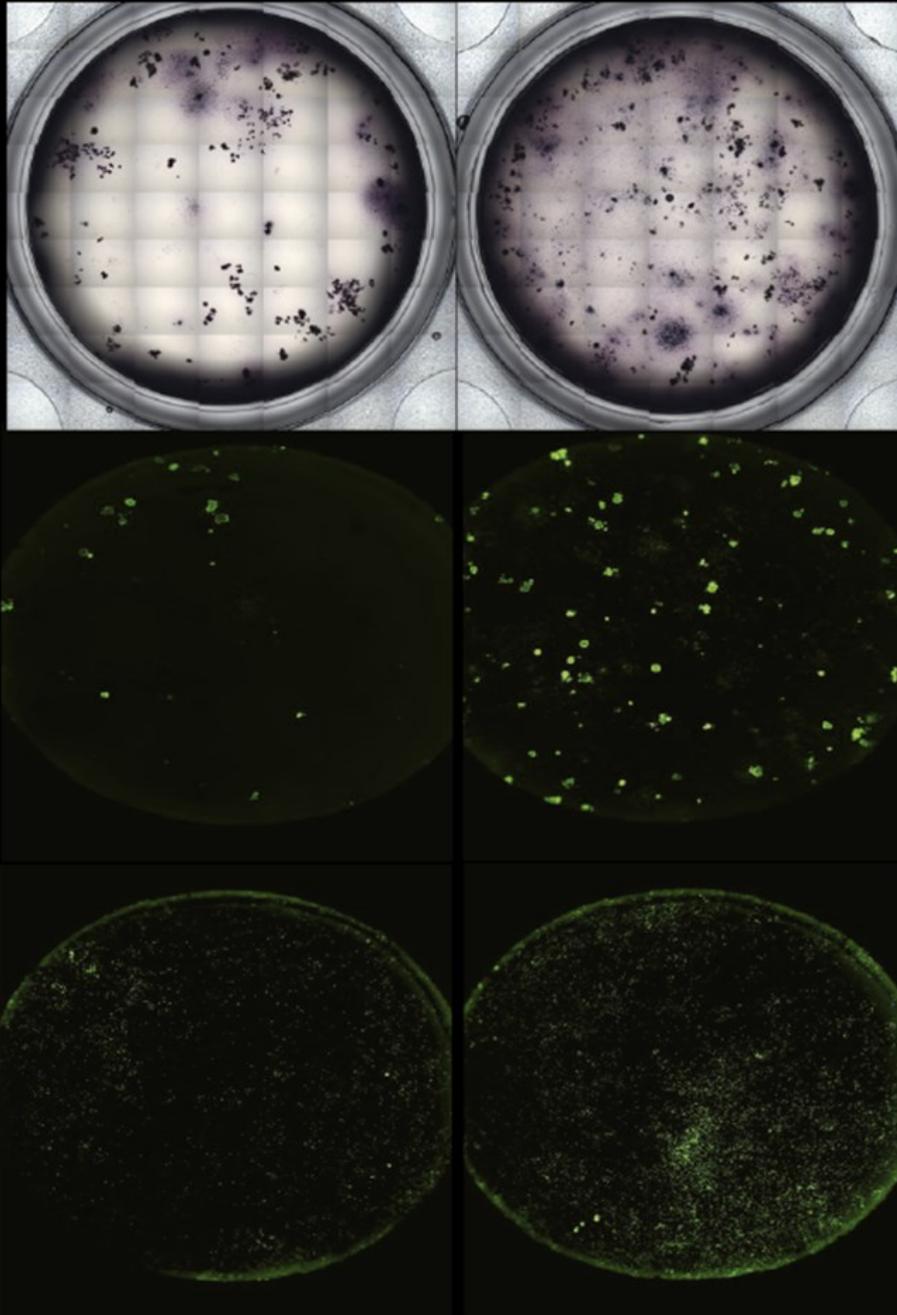


ISSN 2222-5730

Carcinomas

Revista de Investigación Oncológica

Volumen 6, Número 3, Setiembre 2016



Carcinos

Καρκίνος

Director

Dr. Alfredo Aguilar Cartagena

Editor General

Dr. Henry Gómez Moreno

Editor Científico

Dr. Carlos Vallejos Sologuren

Co-editor General

Blgo. Joseph Pinto Oblitas

Editor de Estilo

Blga. Jhajaira Araujo Soria

Editor Invitado

Dr. Benjamín Castañeda Aphan
PUCP (Perú)

Comité Editor

Dr. António Araújo

Universidade de Porto (Portugal)

Lic. Maricarmen Alfaro

Oncosalud—AUNA (Perú)

Dr. María Berenguel

Oncosalud—AUNA (Perú)

Dr. Franco Doimi

Oncosalud—AUNA (Perú)

Dr. Richard Dyer

Oncosalud—AUNA (Perú)

Mg. Claudio Flores

Universidad Nacional Mayor de San Marcos (Perú)

Dr. Ricardo Fujita

Universidad San Martín de Porres (Perú)

Dr. Jorge Guerrero

Oncosalud—AUNA (Perú)

Dr. Luis Mas

Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas (Perú)

Dr. Carlos Morante Deza

Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas (Perú)

Dr. Alfredo Moscol

Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas (Perú)

Dr. Silvia Neciosup

Oncosalud—AUNA (Perú)

Dr. Luis Raez

Memorial Health Care System (Estados Unidos)

Dr. Christian Rolfo

Universidad de Amberes (Bélgica)

Dr. Luis Pinillos

Radioncología (Perú)

Dr. Jaime Ponce

Oncosalud—AUNA (Perú)

Dr. Fernando Salas

Oncosalud—AUNA (Perú)

Dr. Gustavo Sarria

Oncosalud—AUNA (Perú)

Dr. Fernando Suazo Casanova

Oncosalud—AUNA (Perú)

Dr. José Sullón

Oncosalud—AUNA (Perú)

Dr. Carlos Vigil

Oncosalud—AUNA (Perú)

Dr. Frank Young

Oncosalud—AUNA (Perú)

Dr. Mayer Zaharia

Radioncología (Perú)

Declaración:

Los artículos publicados en *Carcinos* son de naturaleza académica y son seleccionados por un Comité editorial independiente.

Oncosalud no se hace responsable por las opiniones vertidas por los autores en los artículos publicados.

Los artículos se publican bajo una licencia de Creative Commons Reconocimiento 4.0 Internacional. <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

Carcinos

Revista de Investigación Oncológica

Número 3, Volumen 6, Setiembre 2016

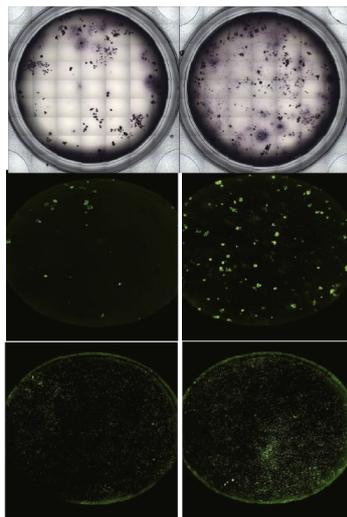


Imagen de la portada: Ensayo de unidades formadoras de colonias de muestras de leucemia mieloide aguda *in vitro* empleando fluorescencia (ver artículo original de Casado et al.)

Carcinos

ISSN 2222-5730

Depósito legal en la Biblioteca Nacional del Perú N°2011-08362

Carcinos es una publicación trimestral editada por la Unidad de Investigación Básica y Traslacional de la Dirección Científica y Académica de Oncosalud– Auna.

Dirección:

Av. Guardia Civil 571, San Borja

Lima 41— Perú

Teléfono: 511 5137900 Anexo 2231

Fax: ++511 224 2483

Email: carcinos@oncosalud.com.pe

Tiraje: 1000 ejemplares

Impreso por CGB

<http://www.cgb.com.pe/>

Setiembre 2016

oncosalud
auna

Contenido

Editorial	Páginas
<i>Casado F.</i> El poder de ver más allá de lo evidente.....	95
Artículos Originales	
<i>Casado F., et al.</i> Validación de una plataforma de imágenes de fluorescencia de unidades formadoras de colonias para el estudio de leucemia mieloide aguda.....	96
<i>Rodríguez R., et al.</i> Evaluación de marcadores clínicos de pronóstico en pacientes con diabetes mellitus y cáncer.....	102
<i>Flores-Fernández C., et al.</i> Polimorfismos CYP2C8 y ABCB1 en pacientes con cáncer de mama tratados con paclitaxel.....	110
<i>Romero S., et al.</i> Análisis del uso de sonoelastografía cuantitativa en un paciente sano.....	116
Reportes de casos	
<i>Castro-Mujica M., et al.</i> Reporte de caso: detección de la mutación BRAF V600 en cáncer papilar de tiroides y melanoma maligno sincrónicos.....	123
Temas de revisión	
<i>Coila A., et al.</i> Imágenes de atenuación ultrasónica en el diagnóstico médico.....	126
Suplemento	
<i>X Congreso Peruano de Oncología Médica 2016.</i> Resúmenes de Congreso.....	132

El poder de ver más allá de lo evidente

Dr. Fanny L. Casado

**Laboratorio de Investigación en Ciencias Ómicas
y Biotecnología Aplicada—PUCP**

En los últimos diez años, el diagnóstico y tratamiento de los cánceres viene sufriendo una transformación radical promovida conceptualmente por lo que se conoce como los signos distintivos del cáncer,¹ y tecnológicamente por la creciente habilidad de procesar grandes cantidades de información, como la generada por las diferentes modalidades de pruebas moleculares y la Imagenología.²

El presente número de *Carcinos* es un buen ejemplo de las variadas estrategias tecnológicas que actualmente se toman para obtener la mayor cantidad de información del paciente antes y durante el tratamiento. Se demuestra la implementación de una plataforma que fenotípicamente caracteriza leucemias para integrar el conjunto de cambios genéticos ocurridos en una plataforma personalizada para estudiar respuestas a fármacos. Rodríguez y colegas demuestran el poder pronóstico superior que proporciona el evaluar 19 condiciones clínicas en pacientes con diabetes mellitus y cáncer. También, se presenta un estudio que sugiere que la variante 1236 C<T del gen ABCB1, de suma importancia en el transporte y eliminación del fármaco paclitaxel, tiene una frecuencia genotípica y alélica similar a la reportada en otras poblaciones sudamericanas. Sin embargo, las variantes estudiadas del gen que codifica la enzima CYP2C8, responsable del metabolismo del fármaco tienen poca frecuencia alélica en las pacientes con cáncer de mama participantes del estudio. Por otro lado, Romero y colegas muestran una técnica cuantitativa prometedora basada en ultrasonido para obtener imágenes de mama con utilidad clínica. Como parte de este interés en

laboratorios del Perú por desarrollar métodos de diagnósticos menos invasivos, se presenta una revisión sobre las imágenes de atenuación ultrasónica.

Las predicciones sobre las tecnologías para el diagnóstico y tratamientos de cánceres que empezarán a entrar en el campo clínico en los siguientes diez años sugieren que tendrán que converger la eficiencia y conveniencia de las imágenes médicas con la especificidad de las pruebas moleculares de manera que las distinciones tradicionales entre fenotipo y genotipo sean integradas en criterios clínicos que permitan que el médico tratante pueda ver cada vez más allá de lo evidente.³

BIBLIOGRAFÍA

1. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* 2011;144:646-674.
2. National Cancer Policy Forum, Board on Health Care Services and I. o. Medicine. *Informatics Needs and Challenges in Cancer Research: Workshop Summary* National Academies Press (US), Washington (DC), 2012.
3. Nast CC, Lemley KV, Hodgins JB, Bagnasco S, Avila-Casado C, Hewitt SM, et al. Morphology in the Digital Age: Integrating High-Resolution Description of Structural Alterations With Phenotypes and Genotypes, *Semin Nephrol* 2015;35:266-78.



Esta obra está bajo una licencia de Creative Commons Reconocimiento 4.0 Internacional.
<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

Validación de una plataforma de imágenes de fluorescencia de unidades formadoras de colonias para el estudio de leucemia mieloide aguda

Validation of a fluorescence imaging-based platform of colony forming units to study acute myeloid leukemia

Fanny L. Casado ¹

RESUMEN

Introducción: La leucemia mieloide aguda es una enfermedad heterogénea con limitadas opciones terapéuticas en parte debido a que no existen modelos disponibles para su estudio que permitan recoger la complejidad genómica y celular. **Métodos:** Se comparó la sensibilidad de modelos pre-clínicos *in vivo* para detectar células madre neoplásicas hematopoyéticas. Se contrastaron los modelos *in vivo* con un modelo *in vitro* modificado para detectar células progenitoras hematopoyéticas en muestras de pacientes diagnosticados con leucemia mieloide aguda. **Resultados:** Los progenitores hematopoyéticos presentes en muestras de leucemia aguda mieloide fueron detectados *in vitro* independiente de la detección de células madre neoplásicas hematopoyéticas. El ensayo de unidades formadoras de colonias hematopoyéticas analizadas con fluorescencia permitió estudiar de forma pre-clínica la heterogeneidad y respuesta a la proliferación de progenitores hematopoyéticos. **Conclusiones:** La plataforma de imágenes de fluorescencia de unidades formadoras de colonias hematopoyéticas tiene el potencial de convertirse en una alternativa para estudios fármaco-genómicos de leucemia mieloide aguda.

Palabras clave: Leucemia Mieloide Aguda, Ensayo de Unidades Formadoras de Colonias, Células Madre Neoplásicas, Microscopía Fluorescente

ABSTRACT

Background: Acute myeloid leukemia is a heterogeneous disease with limited therapeutic options due in part to the absence of pre-clinical models readily available that capture their genomic and cellular complexity. **Methods:** The sensitivity of *in vivo* pre-clinical models to detect neoplastic hematopoietic stem cells was compared. A comparison between *in vivo* and *in vitro* models was performed with respect to detect hematopoietic progenitor cells in samples from patients diagnosed with acute myeloid leukemia. **Results:** Hematopoietic progenitors present in acute myeloid leukemia samples were detected *in vitro* independently of the detection of neoplastic hematopoietic stem cells. A modified hematopoietic colony-forming unit assay analyzed with fluorescence allowed modeling the heterogeneity and responses to proliferative signaling of hematopoietic progenitors. **Conclusions:** The fluorescence imaging platform of hematopoietic colony-forming units has the potential to become an alternative to pharmaco-genomic studies of acute myeloid leukemia.

Keywords: Acute Myeloid Leukemia, Colony-Forming Units Assay, Neoplastic Stem Cells, Fluorescent Microscopy

Autor para correspondencia:

Fanny L. Casado

Laboratorio de Investigación de Ciencias Ómicas y Biotecnología Aplicada, Pontificia Universidad Católica del Perú, Lima, Perú.

Avenida Universitaria 1801, San Miguel. Lima 32 – Perú

Teléfono: ++51 626-2006

Email: fanny.casado@pucc.edu.pe

Recibido el 1 de Julio de 2016

Aceptado para publicación el 16 de Agosto de 2016

INTRODUCCIÓN

La Leucemia Mieloide Aguda (LMA) es una enfermedad jerárquica y heterogénea que afecta en su mayoría a adultos mayores con opciones terapéuticas limitadas debido en parte a la ausencia de modelos fisiopatológicos que representen adecuadamente la complejidad molecular y fenotípica de la enfermedad.^{1,2} Durante las últimas décadas, uno de los principales obstáculos técnicos que han evitado el desarrollo del entendimiento de la señalización celular y molecular en la LMA es la incapacidad de mantener en cultivo a las

poblaciones celulares con características de células madre neoplásicas (CMN) provenientes de muestras humanas. Hasta la actualidad, no existen métodos pre-clínicos estandarizados o cocteles con factores de crecimiento universalmente aceptados que permitan la supervivencia *in vitro* de la gran diversidad de muestras de LMA humana. Por lo tanto, existe la necesidad de identificar alternativas de cultivo o las cascadas bioquímicas que participen en la expansión de CMN *ex vivo*.

Los xeno-trasplantes de CMN humana en ratones diabéticos no obesos con inmunodeficiencia

combinada severa (NODSCID, en inglés) ha permitido importantes avances en nuestro entendimiento sobre la heterogeneidad y organización jerárquica de LMA debido a que permite detectar CMN de manera muy precisa.³ Sin embargo, solamente algunos pacientes presentan LMA con CMN que pueden ser detectadas en este ensayo tedioso y oneroso. En la literatura existe poca transparencia al respecto dado que solo se reportan los ensayos positivos y en muchos casos se atribuye la ausencia de CMN a errores técnicos (16/17=94%; 29/59=49%).^{4,5} Esta situación origina un sesgo en las conclusiones obtenidas en ensayos farmacológicos o sobre cascadas de señalización en LMA.

Por otro lado, el ensayo de unidades formadoras de colonias (CFU, en inglés) es uno de los ensayos hematopoyéticos pre-clínicos más robustos. Este ensayo mide el potencial de diferenciación de células madre hematopoyéticas humanas derivadas por ejemplo del cordón umbilical, sangre periférica movilizada o aspirados de médula ósea. Para ello, se emplea un medio de cultivo que contiene celulosa metilada y una serie de factores de crecimiento específicos para células madre, granulocitos, macrófagos y eritrocitos, todo lo cual da origen a colonias clonogénicas o CFU que permiten evaluar cuantitativamente las propiedades funcionales de los progenitores hematopoyéticos que se encontraban al inicio de los ensayos.⁶ Si bien estos ensayos fueron desarrollados para analizar muestras no neoplásicas, en el laboratorio del Prof. Bhatia ya se ha mostrado su utilidad predictiva de la acción farmacológica y toxicológica en CMN presentes en LMA.^{7,8}

En el presente estudio, hemos trabajado bajo la hipótesis de que el ensayo de CFU adaptado al

estudio de CMN hematopoyéticas permite mayor sensibilidad que el xenotrasplante sin perder su alta especificidad.

MATERIALES Y MÉTODOS

Obtención de muestras de células humanas hematopoyéticas

Previo consentimiento informado, se recolectaron muestras de LMA de sangre periférica y/o médula ósea al momento de presentación clínica de acuerdo a los protocolos aprobados por el Comité de Ética de la Investigación de McMaster University. Dentro de las siguientes doce horas, se aislaron células mononucleares (CMN) tal como fue descrito previamente.⁹ En el caso de controles saludables sin LMA, se tomaron muestras de sangre de cordón umbilical, se aislaron CMN y se agotaron las células con *lineage* mediante una selección inmune negativa (*StemSep System, Stemcell Technologies*) para enriquecer la fracción de células madre y progenitores hematopoyéticos.

Ensayos *in vivo* para analizar la presencia de células con capacidad regeneradora de LMA

Se realizaron xenotrasplantes de LMA en ratones tipo NODSCID o NODSCID gamma (NSG) de acuerdo a protocolos rutinarios empleando irradiación subletal tipo gamma antes del trasplante y esperando seis semanas para la reconstitución hematopoyética.^{10,11} Se definieron a los injertos como de leucemia mieloide cuando se detectaron poblaciones de células CD33+ y menos del 50% de células linfoides (CD19+) entre la población de células humanas detectadas por citometría de flujo en los ratones de experimentación (**Figura 1**).¹²

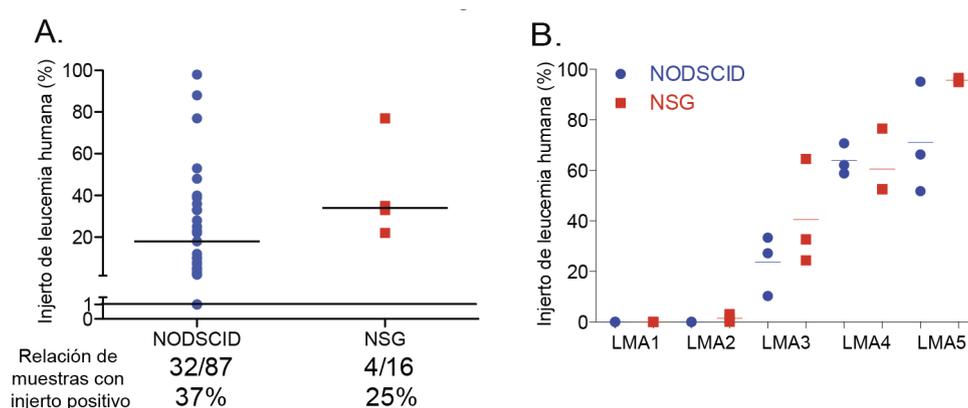


Figura 1. La mayor permisividad inmune en xeno-recipientes de trasplantes de LMA no es suficiente para incrementar el éxito del trasplante o el porcentaje de injerto. Se realizaron trasplantes de médula ósea en ratones NODSCID y NSG radio-sensibilizados para analizar la presencia de CMN en muestras de pacientes diagnosticados con LMA. (A) No existen diferencias en los porcentajes de LMA humano detectado en los ratones injertados NODSCID y NSG. (B) Pese a la mayor permisividad inmune de la raza NSG, bajo las mismas condiciones de trasplante y muestras de LMA, se observó que las muestras que no injertaron NODSCID tampoco injertaron NSG y los porcentajes de injerto humano tampoco fueron significativamente diferentes entre NODSCID y NSG.

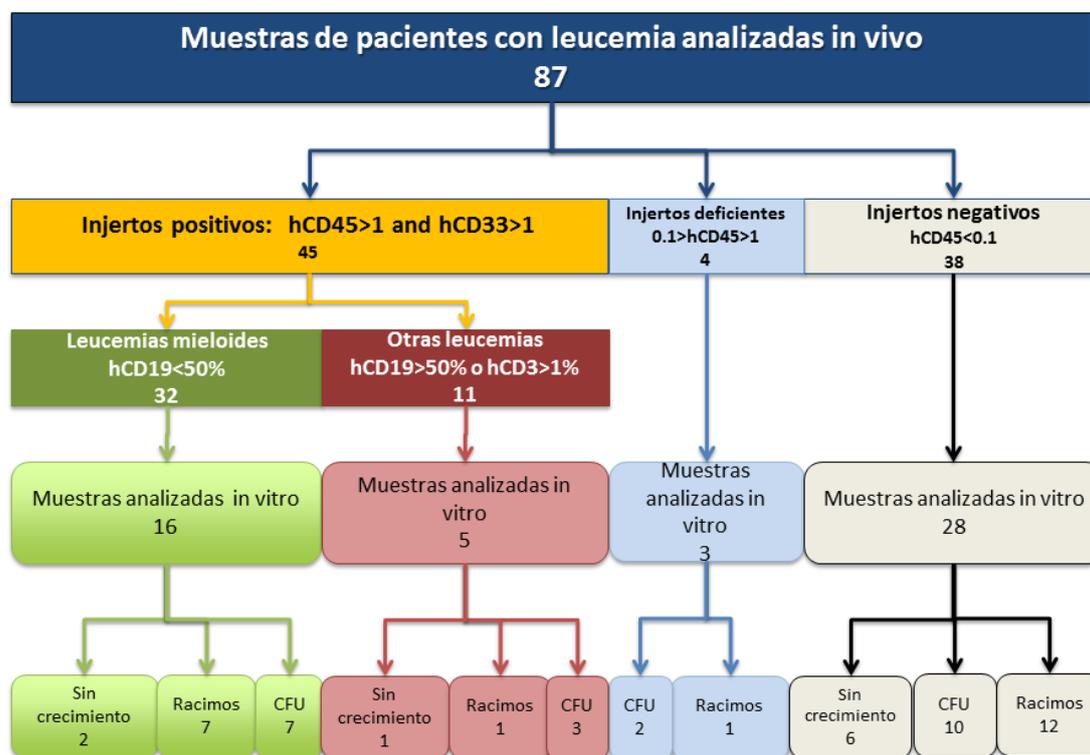


Figura 2. Progenitores hematopoyéticos presentes en muestras de LMA pueden ser detectados *in vitro* independiente de la detección de CMN *in vivo*. Dependiendo del número de células disponibles para los ensayos, se analizó la presencia *in vivo* de CMN empleando xeno-trasplantes de LMA en ratones NODSCID. Independientemente de los resultados de los injertos y según disponibilidad de muestra, se analizó *in vitro* la capacidad de los progenitores hematopoyéticos de formar colonias o racimos de linajes eritro-mieloides.

Ensayos de unidades formadoras de colonias a partir de células hematopoyéticas

Se plantaron por triplicado 25 mil CMN de las muestras de pacientes diagnosticados con LMA en un medio de cultivo que contiene metil-celulosa (Methocult H4434, StemCell Technologies) en platos con 12 pocillos tal como se describió anteriormente.⁶ Luego de siete días, las colonias hematopoyéticas y los racimos de células mieloides fueron teñidos con calceína para mejorar el contraste durante el proceso de toma de imágenes con un microscopio automatizado. Se tomaron imágenes de nueve campos hacia el centro de los pocillos. Los racimos y las colonias fueron segmentados y cuantificados con rutinas modificadas de Acapella (Perkin Elmer) empleando el método de *Nearest-Neighbor*.

Análisis citogenético

Se emplearon sondas fluorescentes para hibridación *in situ* (FISH, en inglés) comercialmente disponibles (Abbott Molecular). Específicamente, se detectó la pérdida del brazo q de los cromosomas 5 y 16, y la adición de

cromosomas 4 y 8 en los núcleos de muestras de LMA frescas o cultivadas para CFU. De acuerdo a protocolos descritos, se contaron 200 núcleos por muestra mediante un microscopio fluorescente con filtros apropiados y el programa MetaMorph (Molecular Devices).¹³

RESULTADOS

El xenotrasplante de células de muestras humanas en ratones NODSCID es considerada un método estandarizado para detectar CMN. Sin embargo, solamente un grupo de pacientes diagnosticados con LMA poseen CMN que pueden ser detectadas con este ensayo. Al emplear una raza de ratones con un sistema inmune más permisivo a los injertos como el NSG, no se ha observado que esta situación haya cambiado significativamente en cuanto al porcentaje de injerto humano en cada ratón, ni en cuanto al porcentaje de muestras de LMA con características de CMN. (Figura 1A). Para las muestras de LMA analizadas, al compararse las dos razas de ratones una a una, el potencial de xenotrasplante y detección de CMN no era diferente entre NODSCID y NSG (Figura 1B). Tal como se explica en la Figura 2, se

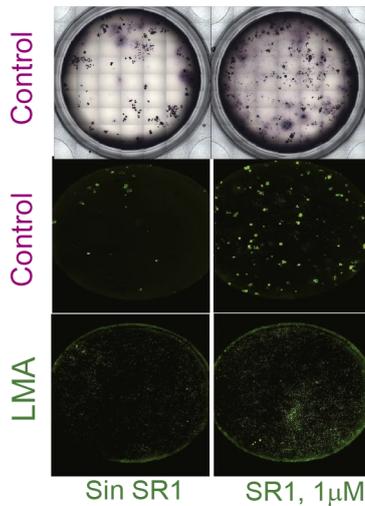


Figura 3. El análisis de CFU de las muestras de LMA *in vitro* empleando fluorescencia es sensible a señales de proliferación de progenitores hematopoyéticos.

Células de pacientes diagnosticados con LMA o derivadas de la sangre del cordón umbilical (control) fueron tratadas con SR1 (1 mM) o solvente (DMSO) por 72 horas en un medio líquido suplementado con factor de células madre, eritropoyetina y el ligando de FLT3. La parte superior y media muestra CFU de controles y parte inferior muestra CFU de LMA. La sección superior muestra CFU observadas con luz visible y la sección media e inferior muestran CFU observadas con luz fluorescente (juego de filtros de emisión: 410/480 nm). Las fotos de la izquierda reportan fotos de pocillos con CFU provenientes de células tratadas con solvente y las de la derecha muestran pocillos completos con CFU que resultaron de células tratadas con SR1.

xenotrasplantaron 87 muestras de pacientes diagnosticados con LMA en ratones NODSCID, y se encontró que solamente el 37% (32/87) de muestras tenían CMN detectables con este ensayo. Por otro lado, la mayoría de muestras de pacientes con LMA tenían células con características de progenitores hematopoyéticos que fueron funcionalmente detectados *in vitro* con los ensayos CFU de tal forma que el 83% (43/52) de muestras tenían progenitores hematopoyéticos que se podían detectar.

La **Figura 3** muestra ejemplos representativos de CFU cultivadas en metil-celulosa. En la parte superior y media, se muestran CFU de controles saludables obtenidos de muestras de sangre de cordón umbilical, mientras que en la parte inferior se muestran CFU de LMA. Asimismo, la parte superior muestra CFU observadas con luz visible y la sección

media e inferior muestra CFU observadas bajo un microscopio con filtros de luz fluorescente (juego de filtros de emisión: 410/480 nm). Nótese que los CFU son sensibles a la acción de derivados purínicos como stem-regenin 1 (SR1) que incrementan los progenitores hematopoyéticos en células hematopoyéticas derivadas del cordón umbilical y de LMA.^{8,14}

Un análisis detallado de lo observado en el análisis de las muestras analizadas *in vivo* e *in vitro* (**Figura 1**) demuestra que la mayoría de los pacientes que contienen CMN también contienen progenitores de CFU (**Figura 4A, círculos verdes**). Por otro lado, la funcionalidad de los CFU permite recoger información sobre un gran porcentaje de muestras de LMA sin CMN. (**Figura 4A, círculos amarillos**). Finalmente, se analizaron las frecuencias de aberraciones citogenéticas en progenitores de LMA

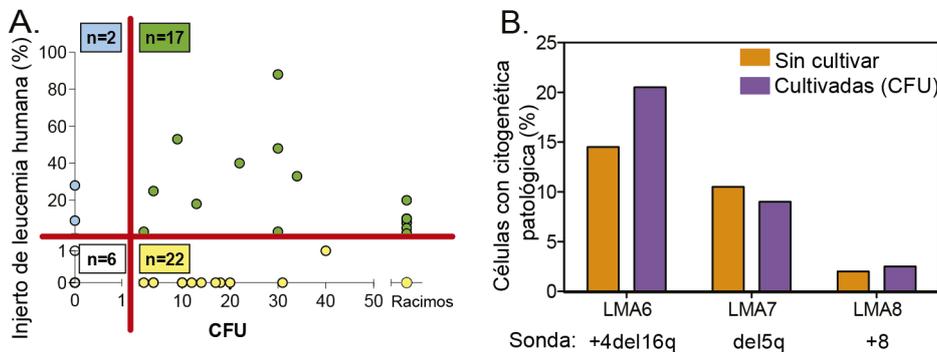


Figura 4. El análisis de CFU de las muestras de LMA permite estudiar de forma pre-clínica la heterogeneidad de progenitores hematopoyéticos presentes en la enfermedad. (A) Se pudieron observar CFU en muestras de pacientes diagnosticados con LMA que tenían CMN detectadas en xenotrasplantes de NODSCID (verde) y también en muestras sin CMN (amarillo). Total n= 47 pacientes. **(B)** Las aberraciones citogenéticas en las muestras de LMA se observaron en las muestras frescas y después del ensayo de CFU.

antes y después de cultivos de CFU. La **Figura 4B** demuestra que las aberraciones comúnmente encontradas que fueron analizadas en este trabajo se mantienen después del ensayo de CFU.

DISCUSIÓN

Pese a lo reportado previamente, nuestros resultados sugieren que desde el punto de vista de la capacidad funcional y respuesta a señales para el crecimiento de muestras de LMA, la mayor inmuno-permisividad de modelos *in vivo* no está vinculada a la habilidad de detectar más CMN o CMN en una mayor cantidad de muestras.¹⁹ La explicación más razonable es que no todas las muestras de LMA necesariamente poseen CMN detectables.

Nuestros datos indican que el desarrollo de una plataforma de imágenes de fluorescencia de CFU permite el estudio de LMA en muestras que no posean CMN detectable dado que habilitan un ensayo para el análisis de progenitores de LMA. De esta manera, se sugiere que el ensayo funcional de progenitores es una alternativa válida y menos costosa que los xenotrasplantes. Esto se debe a que como modelo caracteriza funcionalmente la mayoría de respuestas de LMA y no la minoría tal como ha sido hasta entonces en la literatura sobre LMA.

Esta estrategia para emplear el compartimento de progenitores hematopoyéticos para estudiar LMA permite involucrar en futuros estudios farmacológicos personalizados a la mayoría de pacientes que actualmente están destinados a una mortalidad de 94% luego de dos años de diagnóstico.²⁰ Hay que reconocer que los xenoinjertos de LMA seguirán siendo los modelos más apropiados cuando se estudie la organización jerárquica que se supone es responsable de relapsos tras haber recibido tratamientos mielosupresores para los blastos proliferantes, a pesar de no ser de fácil implementación en ambientes clínicos. Además de los costes de los modelos de animales, la rapidez de esta estrategia disminuye costos al reducir el tiempo del ensayo de seis a una semana. En resumen, nuestro estudio demuestra la viabilidad de emplear imágenes de fluorescencia de unidades formadoras de colonias para el estudio de la diversidad y heterogeneidad de leucemias mieloides agudas en ambientes pre-clínicos y clínicos.

BIBLIOGRAFÍA

- Tefferi A, Skoda R, Vardiman JW. Myeloproliferative neoplasms: contemporary diagnosis using histology and genetics. *Nat Rev Clin Oncol* 2009;6:627-637.
- Walter RB, Othus M, Burnett AK, Löwenberg B, Kantarjian HM, Ossenkoppele GJ, et al. Significance of FAB subclassification of "acute myeloid leukemia, NOS" in the 2008 WHO classification: analysis of 5848 newly diagnosed patients. *Blood*. 2013;121:2424-2431.
- Larochelle A, Vormoor J, Hanenberg H, Wang JC, Bhatia M, Lapidot T, et al. Identification of primitive human hematopoietic cells capable of repopulating NOD/SCID mouse bone marrow: implications for gene therapy. *Nat Med* 1996;2:1329-1337.
- Lapidot T, Sirard C, Vormoor J, Murdoch B, Hoang T, Caceres-Cortes J, et al. A cell initiating human acute myeloid leukaemia after transplantation into SCID mice. *Nature* 1994;367:645-648.
- Pearce DJ, Taussig D, Zibara K, Smith LL, Ridler CM, Preudhomme C, et al. AML engraftment in the NOD/SCID assay reflects the outcome of AML: implications for our understanding of the heterogeneity of AML. *Blood* 2006;107:1166-1173.
- Hess DA, Levac KD, Karanu FN, Rosu-Myles M, White MJ, Gallacher L, et al. Functional analysis of human hematopoietic repopulating cells mobilized with granulocyte colony-stimulating factor alone versus granulocyte colony-stimulating factor in combination with stem cell factor. *Blood* 2002;100:869-878.
- Sachlos E, Risueño RM, Laronde S, Shapovalova Z, Lee JH, Russell J, et al. Identification of drugs including a dopamine receptor antagonist that selectively target cancer stem cells. *Cell* 2012;149:1284-1297.
- Casado FL, Salci KR, Shapovalova Z, Guezguez B, Collins TJ, Bhatia M. Expansion of Primary Human AML by Aryl Hydrocarbon Receptor Antagonism Minimally Affects Leukemic Transcriptional Profiles but Alters Cellular Metabolism. *Journal of Hematology Research*. 2016;2.
- Bhatia M, Wang JC, Kapp U, Bonnet D, Dick JE. Purification of primitive human hematopoietic cells capable of repopulating immune-deficient mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997;94:5320-5325.
- Shultz LD, Lyons BL, Burzenski LM, Gott B, Chen X, Chaleff S, et al. Human lymphoid and myeloid cell development in NOD/LtSz-scid IL2R gamma null mice engrafted with mobilized human hemopoietic stem cells. *J Immunol* 2005;174:6477-6489.
- Campbell CJ, Lee JB, Levadoux-Martin M, Wynder T, Xenocostas A, Leber B, Bhatia M. The human stem cell hierarchy is defined by a functional dependence on Mcl-1 for self-renewal capacity. *Blood* 2010;116:1433-1442.
- Eppert K, Takenaka K, Lechman ER, Waldron L, Nilsson B, van Galen P, et al. Stem cell gene expression programs influence clinical outcome in human leukemia. *Nat Med* 2011;17:1086-1093.
- Bueno C, Catalina P, Melen GJ, Montes R, Sánchez L, Ligeró G, et al. Etoposide induces MLL rearrangements and other chromosomal abnormalities in human embryonic stem cells. *Carcinogenesis* 2009;30:1628-1637.
- Smith KJ, Murray IA, Tanos R, Tellew J, Boitano AE, Bisson WH, et al. Identification of a high-affinity ligand that exhibits complete aryl hydrocarbon receptor antagonism. *J Pharmacol Exp Ther* 2011;338:318-327.
- Boitano AE, Wang J, Romeo R, Bouchez LC, Parker AE, Sutton SE, et al. Aryl hydrocarbon receptor antagonists promote the expansion of human hematopoietic stem cells. *Science* 2010;329:1345-1348.

16. Pabst C, Krosi J, Fares I, Boucher G, Ruel R, Marinier A, et al. Identification of small molecules that support human leukemia stem cell activity ex vivo. *Nat Methods* 2014;11:436-42.
17. van Grevenynghe J, Bernard M, Langouet S, Le Berre C, Fest T, Fardel O. Human CD34-positive hematopoietic stem cells constitute targets for carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbons. *J Pharmacol Exp Ther* 2005;314:693-702.
18. Kaur K, Mirlashari MR, Kvalheim G, Kjeldsen-Kragh J. 3',4'-Dimethoxyflavone and valproic acid promotes the proliferation of human hematopoietic stem cells. *Stem Cell Res Ther.* 2013;4:60.
19. Vargaftig J, Taussig DC, Griessinger E, Anjos-Afonso F, Lister TA, Cavenagh J, et al. Frequency of leukemic initiating cells does not depend on the xenotransplantation model used. *Leukemia.* 2012;26:858-860.
20. Menzin J, Lang K, Earle CC, Kerney D, Mallick R. The outcomes and costs of acute myeloid leukemia among the elderly. *Arch Intern Med* 2002;162:1597-1603.

Fuente de financiamiento:

Este estudio fue parcialmente financiado por la *Stem Cell Network de Canadá*, el *Ontario Consortium of Regenerating Inducing Therapeutics* y el Vicerrectorado de Investigación de la Pontificia Universidad Católica del Perú.

Declaración de conflictos de intereses:

Los autores declaran que no existen potenciales conflictos de intereses con esta publicación.

Agradecimientos:

El autor agradece a los miembros del McMaster Stem Cell and Cancer Research Institute Prof. Dr. Mick Bhatia por proporcionar insumos y muestras para el estudio, al Dr. Tony J. Collins por el desarrollo de las técnicas de análisis de imágenes de fluorescencia, y al Dr. Kyle Salci por realizar los análisis citogenéticos.



Esta obra está bajo una licencia de Creative Commons Reconocimiento 4.0 Internacional.
<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

Evaluación de marcadores clínicos de pronóstico en pacientes con diabetes mellitus y cáncer

Evaluation of clinical markers of prognosis in patients with diabetes mellitus and cancer

Rosario Rodríguez¹, Carlos A. Castañeda², Miluska Castillo², Connie Rabanal³, Mariana Serrano³, Flor Bohorquez¹, Claudio Flores⁴, Mayer Zaharia⁵, Ebert Poquioma⁶

1, Departamento de Especialidades Médicas, Servicio de Endocrinología. Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas, Lima, Perú.

2, Departamento de Investigación. Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas, Lima, Perú.

3, Departamento de Oncología Médica. Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas, Lima, Perú.

4, Departamento de Investigación, Oncosalud-AUNA, Lima, Perú.

5, Departamento de Radioncología. Oncosalud-AUNA, Lima, Perú.

6, Departamento de Epidemiología y Estadística del Cáncer. Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas, Lima, Perú.

RESUMEN

Introducción: El cáncer y diabetes mellitus (DM) comparten factores de riesgo comunes e interactúan entre ellas. El objetivo del trabajo fue evaluar las características clínicas, incluyendo el índice de comorbilidad-edad de Charlson (ICEC) que afectan el pronóstico de pacientes con ambas enfermedades. **Métodos:** Seleccionamos casos de cáncer hospitalizados en INEN con el co-diagnóstico de DM (2010-2012). La supervivencia fue estimada mediante el método de Kaplan-Meier y las comparaciones de las curvas de supervivencia fueron realizadas mediante el test de Log-Rank y el análisis multivariado de acuerdo al modelo de Cox. **Resultados:** Durante el período de estudio se reportaron 472 casos con Cáncer y DM. El 69,5% de los pacientes fueron mujeres y la mediana de edad fue 62 años. El 35,8% y 34,7% tuvieron sobrepeso y obesidad, respectivamente. El 19,2% tenían diagnóstico de hipertensión arterial (HTA) y el 9,0% retención nitrogenada. Las neoplasias más frecuentes fueron cáncer de mama (15,9%), colon-recto (10,8%), cérvix (6,8%) y linfoma (6,8%). El estadio clínico III (33,9%) y IV (30,1%) fueron los más frecuentes en las neoplasias sólidas. El diagnóstico de DM se realizó antes (60,2%), en simultáneo (26,5%) o después de la neoplasia (13,3%). Los tratamientos fueron cirugía (70,6%), quimioterapia (44,7%), radioterapia (37,9%) y hormonoterapia (7,6%). El 38,8% recibieron metformina, 25,8% glibenclamida y el 39,2% insulina. El sexo femenino ($p=0,02$), índice de masa corporal normal ($p<0,001$), HTA ($p=0,044$), CACI mayor a 5 y 9 ($p < 0,001$) y estadio clínico avanzado ($p<0,001$) se asociaron a una menor supervivencia. **Conclusiones:** La presencia de factores clínicos, comorbilidades y un alto score del ICEC se asociaron a un pobre pronóstico en pacientes con cáncer y DM.

Palabras clave: Diabetes Mellitus, Cáncer, Pronóstico, Índice de Comorbilidad-Edad de Charlson

ABSTRACT

Background: Cancer and diabetes mellitus (DM) share common risk factors and interact with each other. The objective of this study is to evaluate the clinical features, including the Charlson combined age-comorbidity Index (CCACI), which affect the outcome of patients with both entities. **Methods:** We selected cases of in-patient cases with cancer, who also had DM diagnosis at INEN between 2010-2012. Survival was estimated using the Kaplan-Meier method and comparisons of survival curves were performed using the Log-rank test and in multivariate analysis according to Cox model. **Results:** During the study period, 472 cases were reported with cancer and DM. The 69.5% of patients were women and the median age was 62 years. The 35.8% and 34.7% had overweight and obesity, respectively. We also found that 19.2% had diagnosis of hypertension and 9.0% had nitrogen retention. The most common cancers were breast cancer (15.9%), rectum colon (10.8%), cervix (6.8%) and lymphoma (6.8%). Most frequent clinical stage (CS) for solid malignancies was III (33.9%) and IV (30.1%). Diagnosis of DM was performed before (60.25%), in simultaneous (26.5%) or after neoplasia (13.3%). The treatments were surgery (70.6%), chemotherapy (44.7%), radiotherapy (37.9%) and hormone therapy (7.6%). The 38.8% of patients received metformin, 25.8% Glibenclamide and 39.2% insulin. Female gender ($p = 0.002$), normal body mass index ($p<0.001$), CACI greater than 5 and 9 ($p<0.001$) and advanced stage ($p<0.001$) were associated with lower survival. **Conclusions:** The presence of comorbidities and a high CCACI score were associated with a poor prognosis in patients with cancer and DM.

Keywords: Diabetes Mellitus, Cancer, Prognostic, Charlson Combined Age-Comorbidity Index

Autor para correspondencia:

Carlos A. Castañeda

Departamento de Investigación. Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas, Lima, Perú.

Av. Angamos Este 2520-Surquillo

Lima 34 – Perú

Teléfono: ++51 2016500

Email: carloscastanedaaltamirano@yahoo.com

Recibido el 6 de Junio de 2016

Aceptado para publicación el 22 de Agosto de 2016

INTRODUCCIÓN

Alrededor del 60% de todos los casos nuevos de cáncer en personas mayores de 65 años sufren de al menos una comorbilidad grave.¹ Gross et al. define comorbilidades como las condiciones adicionales a la enfermedad de fondo que requieren tratamiento o producen alteración en la función de los órganos.² Las comorbilidades juegan un rol esencial en el manejo y pronóstico de los pacientes con diferentes neoplasias.^{3,4} La predicción adecuada de la supervivencia es especialmente importante en el escenario de pacientes que requieren hospitalizarse y en los que se requiere evitar exponer a riesgos por terapias inapropiadas.⁵

La Diabetes Mellitus (DM) es una de las comorbilidades más frecuentes y se presenta en el 8 al 18% de los pacientes con cáncer recién diagnosticados. La alta frecuencia de asociación entre ambas entidades está relacionada a que comparten factores de riesgo como edad avanzada y obesidad, y a que los tratamientos antineoplásicos como corticoides se han asociado al desarrollo de DM.⁶⁻⁸

Diversos estudios, incluyendo un meta-análisis de 48 estudios y un análisis del Registro de Cáncer de Eindhoven con 58 498 casos de cáncer, encuentran que la presencia de DM se asoció con un mayor riesgo de cáncer de endometrio, mama, y colon-recto y un incremento en la tasa de mortalidad en comparación con individuos normoglucémicos. Este efecto se asocia a un tratamiento menos agresivo del cáncer o de la DM, a la presencia de comorbilidades de patologías cardiovasculares o renales asociadas a DM, o a lo avanzado de los estadios al diagnóstico de la neoplasia.^{9,10} Algunos estudios de laboratorio y estudios retrospectivos sugieren que algunos agentes hipoglucemiantes como la metformina también tienen actividad anticancerígena y pueden modificar el pronóstico.¹¹⁻¹⁵

El índice de comorbilidad-edad de Charlson (ICEC) es la herramienta pronóstica más estudiada en distintas poblaciones incluyendo pacientes con cáncer y ha sido incorporada a un software libre disponible en internet.^{3, 8,13-18}

El cáncer y la DM tienen alta frecuencia en nuestro medio y son altamente relevantes para la toma de decisiones en Salud Pública, sin embargo, no existe información sobre el pronóstico y las variables que afectan en la población latinoamericana hospitalizada con ambas comorbilidades.^{19,20} El objetivo del presente estudio es evaluar las características clínicas, incluyendo el ICEC, que afectan el pronóstico de los pacientes con cáncer y DM hospitalizados en el Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas durante el periodo 2010-2012.

MATERIALES Y MÉTODOS

Población

La población del estudio fueron todos los pacientes oncológicos hospitalizados en el Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas entre enero 2010 y diciembre 2012 en que se identificó DM. El presente estudio es retrospectivo y la identificación de casos de cáncer y DM se realizó a partir del registro del Servicio de Endocrinología. La fuente de información fue las historias clínicas almacenadas en el archivo del Instituto.

Criterios de selección

Se consideró como criterios de inclusión el contar con un diagnóstico concluyente de cáncer que incluyó al estudio anatomopatológico en la totalidad de los casos. El diagnóstico de DM se realizó según las normas de la Asociación Americana de Diabetes a través del valor de la hemoglobina glicosilada (A1C) ($\geq 6,5\%$), glicemia en ayunas (≥ 126 mg/dl (7 mmol/l)) o glicemia durante prueba de tolerancia a glucosa oral (≥ 200 mg/dl (11,1 mmol/l)), glicemia casual en paciente con síntomas de DM (≥ 200 mg/dl (11,1 mmol/l)); o a través de la anamnesis del paciente en que indica que ha sido diagnosticado y manejado de DM en otra institución.²¹

Cálculo del índice de comorbilidad-edad de Charlson

El índice incluye 19 condiciones médicas a las que se asignan un valor de 1-6 con un puntaje total entre 0 y 37. El peso es asignado a cada condición basada en su riesgo relativo de mortalidad a los 12 meses. El puntaje obtenido es aun modificado de acuerdo a la edad. El cálculo del ICEC se realizó prospectivamente mediante software de acceso libre por médicos con experiencia en manejo de pacientes oncológicos.^{3,4} El ICEC y el pronóstico resultante fueron ingresados a la base de datos creada para este proyecto.

Análisis estadístico

En una ficha de datos se recopilaron los datos clínicos como edad, sexo, índice de masa corporal (IMC), HTA, retención nitrogenada, hemoglobina glicosilada, diagnóstico de la neoplasia, diagnóstico de DM, estadio clínico (EC), ICEC, tratamiento por cáncer y DM, e información relacionada a supervivencia. Con esta información se preparó una base de datos utilizando el programa Microsoft Excel 2000.

Los datos clínicos fueron resumidos mediante tablas de frecuencias. Las comparaciones entre las variables categóricas fueron realizadas mediante la prueba Chi-cuadrado.

El tiempo de supervivencia fue calculado desde la fecha de diagnóstico concomitante hasta la fecha de fallecimiento o fecha de último control. La supervivencia global fue estimada mediante el método de Kaplan-Meier, las curvas de supervivencia fueron comparadas mediante el test de Log-rank o Breslow, y en análisis multivariado mediante el modelo de Cox. Todas las evaluaciones se realizaron a un nivel de significancia de 5%. Los datos fueron analizados utilizando el programa estadístico SPSS versión 24.

Consideraciones éticas

El proyecto fue aprobado por el Comité de Investigación del Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas (INEN) con el N° 16-06. Dado que el estudio se basó en fuente secundaria y no hubo contacto con los pacientes no se aplicó un consentimiento informado; sin embargo, se protegió en todo momento la identidad y los datos personales de las historias clínicas de los pacientes.

RESULTADOS

Características clínicas

Durante el periodo de estudio, se reportaron 472 pacientes hospitalizados con diagnóstico de cáncer y DM. El 69,5% de los casos eran mujeres y la mediana de edad fue de 62 años (21- 95 años). De acuerdo al índice de masa corporal, el 35,8% presentaban sobrepeso y 34,7% tenían problema de obesidad. El 19,2% tenían hipertensión, 9,2% hábito tabáquico, 9,0% retención nitrogenada, 62,1% presentaban índice de Charlson entre 5-9 y 15,7% mayor a 10 puntos. El 12,3% tenían antecedentes familiares de DM y 27,7% antecedentes familiares de neoplasia. El diagnóstico de DM fue antes en 60,2%, en simultáneo o después del diagnóstico de la neoplasia en 26,5% o 13,3%, respectivamente (**Tabla 1**).

Las neoplasias más frecuentemente, de acuerdo al sitio del primario, fueron cáncer de mama (15,9%),

Tabla 1. Características Clínicas de los pacientes con cáncer y DM hospitalizados en el INEN durante el periodo 2010-2012.

Características	(n=472)	%
Sexo		
Femenino	328	69,5
Masculino	144	30,5
Edad: Mediana (rango)		
	62 (21- 95)	
IMC: Mediana (rango)		
	28 (14- 64)	
Bajo Peso	6	1,3
Peso Normal	127	28,1
Sobrepeso	162	35,8
Obesidad	152	34,7
Desconocido	20	-
Hipertensión		
No	379	91,0
Si	90	9,0
Desconocido	3	-
Retención Nitrogenada		
No	423	91,0
Si	42	9,0
Desconocido	7	-
Hemoglobina glucosilada		
Normal: 4,1-5,5%	9	6,1
Pre diabético: 5,6-6,4%	36	24,3
Diabético: ≥6,5	103	69,6
Desconocido	324	-
Hábito de fumar		
No	426	90,8
Si	43	9,2
Desconocido	3	-
Antecedentes familiares de DM		
No	413	87,7
Si	58	12,3
Desconocido	1	-
Antecedentes familiares de Cáncer		
No	341	72,3
Si	131	27,7
Temporalidad de Cáncer y DM		
Primero DM después Cáncer	284	60,2
Primero Cáncer después DM	63	13,3
Sincrónico	125	26,5
Índice de Comorbilidad- Edad de Charlson		
<5	76	22,2
5-9	213	62,1
10+	54	15,7
Desconocido	129	-

Tabla 2. Localización, estadiaje y tratamiento por cáncer.

Localización y tratamiento	(n=472)	%
Tipo de Cáncer		
Mama	75	15,9
Colon- Recto	51	10,8
Cérvix	32	6,8
Linfoma	32	6,8
Cabeza y Cuello	31	6,6
Piel	19	4,0
Estomago	23	4,9
Leucemia	19	4,0
Ovarios	16	3,4
Cerebro	18	3,8
Tiroides	17	3,6
Endometrio	17	3,6
Vesícula Biliar	3	0,6
Próstata	12	2,5
Páncreas	12	2,5
Otros	95	20,1
Estadio clínico		
I	34	9,9
II	90	26,1
III	117	33,9
IV	104	30,1
Desconocido	127	-
Tratamiento de Cáncer		
Cirugía	333	70,6
Quimioterapia	211	44,7
Radioterapia	179	37,9
Hormonoterapia	36	7,6
Ninguno	26	5,5

colon- recto (10,8%), cérvix (6,8%), linfoma (6,8%), CyC (6,6%), y el resto fueron de otras localizaciones. En 345 de los pacientes con tumores sólidos, 36% de los ellos tenían enfermedad en estadio clínico (EC) I-II, 33,9% en EC III y 30,1% en EC IV. El 94,5% de los pacientes habían recibido tratamiento y en la mayoría de los casos esta fue de manejo multidisciplinario. En general, 70,6% de los pacientes habían tenido cirugía, 44,7% quimioterapia, 37,9% radioterapia y 7,6% hormonoterapia (Tabla 2).

La hemoglobina glicosilada fue evaluada en 148

pacientes y se encontró elevado en 103 casos (69,6%). En relación al tratamiento de DM, el 38,8% de los pacientes recibieron metformina, 25,8% glibenclamida, 39,2% insulina, y el resto otros (Tabla 3).

Características clínicas según grupos de edad

De acuerdo a grupos de edad (<60 vs. >60 años), 37,9% de los pacientes mayores de 60 años y 20,7% en menores de 60 años fueron de sexo masculino ($p < 0,001$); la HTA fue elevado en 22,5% de los pacientes mayores de 60 años y en 14,9% de

Tabla 3. Modalidad de tratamiento de DM en pacientes con cáncer.

Tratamiento	n	%
Insulina Regular	151	32,2
Insulina NPH	16	3,4
Insulina glargina	16	3,4
Insulina lispro	1	0,2
Glimepirida	29	6,2
Glibenclamida	121	25,8
Sitagliptina	13	2,8
Metformina	182	38,8
Otros *	10	2,1

*Clorpropamida, Glicazida, Vildagliptina, Nateglimida, Pioglitazona

Tabla 4. Supervivencia global en relación a las características clínicas.

	Mediana de supervivencia	Tasa de supervivencia a 3 años	p
Global	3,3	54,6	
Edad			
<60	3,9	59,7	
>60	3,2	50,6	0,129
Sexo			
Femenino	4,1	60,8	
Masculino	1,4	39,3	0,002
IMC			
Normal	1,4	32,7	
Sobrepeso	no alcanza	65,3	
Obeso	no alcanza	63,9	<0,001
Hipertensión			
No	3,3	52,6	
Si	no alcanza	62,6	0,044
Retención nitrogenada			
No	3,3	55,1	
Si	1,4	48,9	0,153
Temporalidad Cáncer y DM			
DM->Ca	3,9	57,9	
Ca->DM	3,1	50,4	
Sincrónico	2,9	49,3	0,651
Índice de Charlson			
<5	no alcanza	77,9	
5-9	3,1	50,6	
10+	1,1	22,8	<0,001
Estadio clínico			
I-II	no alcanza	84,2	
III	3,3	50,9	
IV	0,6	16,4	<0,001

los pacientes menores de 60 años ($p=0,038$); la retención nitrogenada fue elevada en 12,7% de los pacientes mayores de 60 años y en 4,1% de los pacientes menores de 60 años ($p=0,001$). Por otro lado, el 97,5% de los pacientes mayores de 60 años y 48,9% de los pacientes menores de 60 años tenían índice de Charlson de 5 a más puntos ($p < 0,001$).

Supervivencia global y factores pronóstico

En 388 pacientes que tuvieron diagnóstico concomitante durante el periodo de estudio, la mediana de seguimiento fue de 2,5 años (IC95%: 2,1 -2,9) y 36,9% de los pacientes habían fallecido a la fecha de corte. La Mediana de supervivencia fue de 3,3 años y una tasa de supervivencia a 3 años fue de 54,6%. En análisis univariado, los pacientes de sexo masculino, peso normal, HTA elevada, índice de Charlson alto (mayor de 5 y 9 puntos), estadio avanzado (EC III y IV) se asociaron significativamente ($p < 0,05$) a una menor

supervivencia (Tabla 4 y Figura 1). Sin embargo, de acuerdo al modelo de Cox la única variable con efecto significativo fue EC (EC III: HR=2.6 y EC IV: HR=9.0), las demás características clínicas fueron no significativas ($p > 0,05$).

DISCUSIÓN

Nuestros resultados demuestran el valor pronóstico del estudio clínico en pacientes con cáncer en una población latino americana.

Las neoplasias más frecuentes en asociación con DM en nuestra serie son cáncer de mama (15,89%), cáncer de colon-recto (13,14%) y cáncer de cérvix (6,78%). Las dos primeras neoplasias han sido previamente relacionadas con DM y son altamente prevalentes en nuestro medio. El cáncer de cérvix es una neoplasia etiológicamente asociada al virus papiloma humano pero su alta incidencia en nuestro medio puede explicar su alta frecuencia de asociación con DM en nuestra serie. El cáncer de

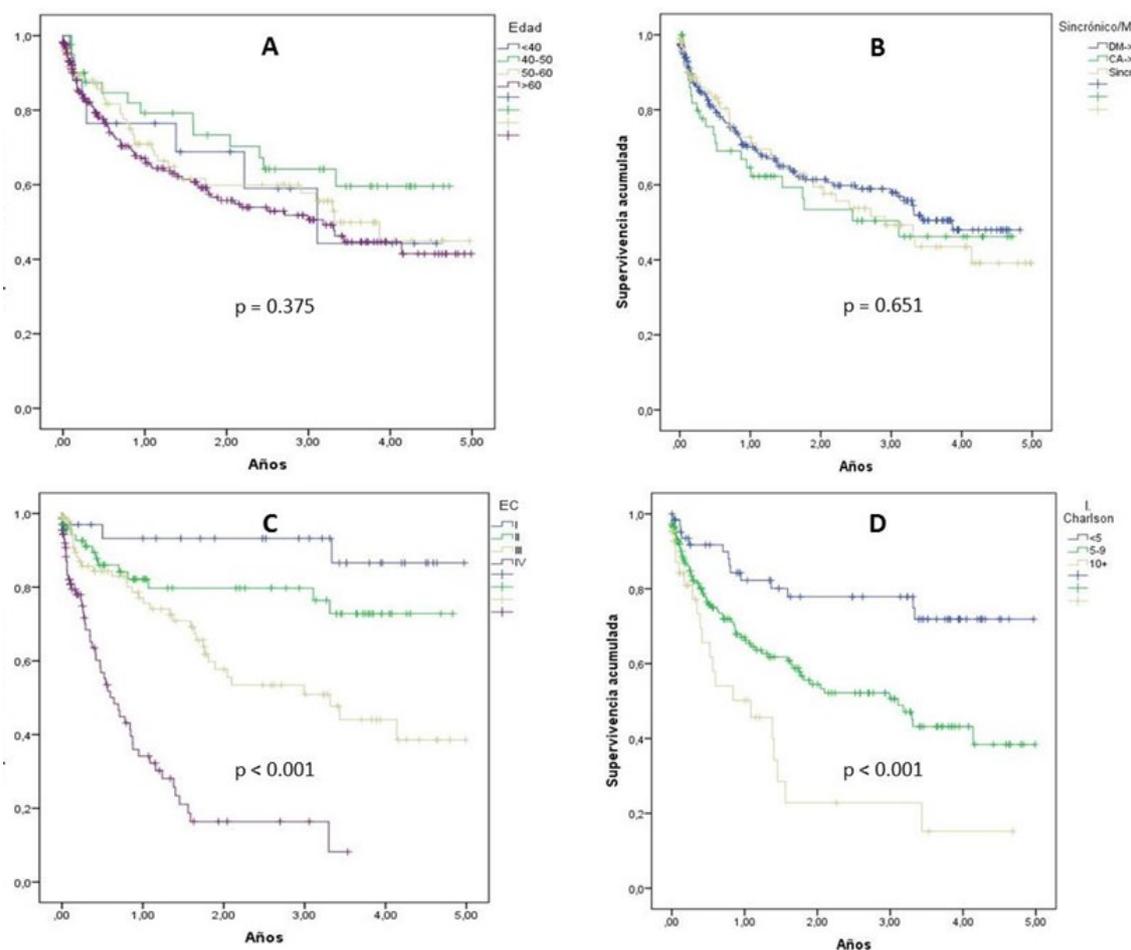


Figura 1. Evaluación de los factores asociados a pronóstico en pacientes con Cáncer y DM. La edad y secuencia diagnóstica no se asociaron a sobrevida global (A y B). El estadio clínico e índice de comorbilidad Edad-Charlson sí se asociaron a sobrevida global (C y D).

próstata fue esporádicamente encontrado en asociación con DM en nuestra serie (2,5%). Esta asociación inversa ha sido descrita también en diversas series.^{9, 10}

Un porcentaje importante de los pacientes con cáncer y DM de nuestra serie presentan adicionalmente las comorbilidades obesidad, HTA y retención nitrogenada. La tasa de prevalencia de HTA y retención nitrogenada es mayor en el grupo de pacientes de mayor edad.

La obesidad y el sobrepeso en adultos son más prevalentes en pacientes con DM y en pacientes con diferentes tipos de cáncer; y están asociados a grandes disminuciones en la expectativa de vida.²² Estudios previos realizados en población no neoplásica de la ciudad de Lima encuentran prevalencias de obesidad y sobrepeso de 21,6% y

37,56%, respectivamente.²³ Nosotros encontramos que más del 70% de los casos presentaron sobrepeso u obesidad, sin embargo encontramos que los casos con IMC normal se asociaron a una menor sobrevida ($p < 0,001$). Esta asociación inversa puede deberse a que la mayoría de los casos de nuestra (cáncer y diabetes) serie tienen estadios clínicos avanzados y en esta población la prevalencia de déficit nutricionales es mayor.

La HTA es más prevalente en pacientes con DM y ha sido previamente asociada con enfermedad coronaria y vascular cerebral.²⁴ Estudios previos realizados en nuestra ciudad encuentra tasa de prevalencia de HTA que varía de 16,5% hasta 33%.^{23, 25} Los casos neoplásicos incluidos en nuestra serie presentaron prevalencia similar de HTA (19,07%) y confirmamos nuestra prueba de concepto, que la presencia de esta comorbilidad se

asoció a una menor sobrevida ($p=0,052$).

La retención nitrogenada en pacientes con cáncer puede ser predispuesta por una acción directa de la neoplasia como el síndrome obstructivo/hidronefrosis, caquexia tumoral o por nefropatía asociada a los tratamientos antineoplásicos. La DM también puede ser el desencadenante de retención nitrogenada.²⁶ Debido que nuestra población de estudio tiene como criterios de inclusión casos hospitalizados con cáncer y DM, hemos encontrado alrededor del 10% de casos con elevación de creatinina. Aunque no alcanzó asociación significativa con la sobrevida, sí mostró tendencia a una menor sobrevida ($p=0,005$).

Distintos estudios han evaluado extensamente el impacto de las comorbilidades en distintos grupos poblacionales, y encuentran que la presencia de comorbilidades se asocia a una mayor sobrevida en distintas neoplasias.⁸ Existen al menos 13 métodos objetivos distintos para medirlas. El método más utilizado es el ICEC que incluye la variable cáncer, agrupa los pacientes por edad, asigna puntajes a cada tipo de comorbilidad y calcula el riesgo del paciente de fallecer. West et al. evaluaron el ICEC en 1196 casos de cáncer de mama y encuentran que las comorbilidades predicen la sobrevida en forma independiente del estadio clínico y de la raza (blanca vs negra). Nosotros calculamos prospectivamente el ICEC a cada uno de los pacientes de nuestra serie y encontramos que la mayoría se encuentra en el grupo 5 - 7 (47,2%) que corresponde a un pronóstico pobre y que está asociado en la mayoría de los casos a cáncer metastásico.^{4,27,28} Nuestra serie confirma, por primera vez a nuestro conocimiento, el valor pronóstico del mencionado índice en una población latina con cáncer y DM. La asociación entre los estadios clínicos avanzados y una menor sobrevida permiten confirmar el seguimiento adecuado de nuestros casos.

Nuestro estudio tiene el objetivo de evaluar los factores que afectan el pronóstico de los pacientes hospitalizados con cáncer y DM. Concluimos así que la edad avanzada, el estadio avanzado y la presencia de una segunda comorbilidad como HTA se asocian a un pobre pronóstico en esta población Latina. Estos resultados son similares a los encontrados por Piccirillo et al. que evalúa en forma prospectiva más de 17 000 pacientes de un hospital de cáncer y encuentra que las comorbilidades son un factor pronóstico independiente en pacientes con cáncer.²⁹

La principal debilidad de nuestro estudio es que ha sido realizado en una sola institución académica, es de tipo retrospectivo y cuenta con un tamaño de muestra pequeño. Sin embargo, los resultados

confirman información previamente publicada en otras poblaciones y permite demostrar la aplicabilidad de la herramienta en nuestros pacientes.

Finalmente, sugerimos incorporar el uso de esta herramienta de pronóstico a las que habitualmente utilizamos para determinar el pronóstico y manejo de los pacientes con cáncer (clasificación TNM y estado de actividad, entre otras). Se requieren futuras investigaciones con poblaciones Latinoamericanas de mayor tamaño para la generación de nuevas herramientas pronósticas que permitan continuar mejorando la evaluación de nuestros pacientes

BIBLIOGRAFÍA

1. Prevention. CfDca. National Diabetes Fact Sheet: General Information and National Estimates on Diabetes in the United States. 2007.
2. Gross PA, Stein MR, van Antwerpen C, DeMauro PJ, Boscamp JR, Hess W, et al. Comparison of severity of illness indicators in an intensive care unit. *Arch Intern Med.* 1991;151:2201-5.
3. Hall WH, Ramachandran R, Narayan S, Jani AB, Vijayakumar S. An electronic application for rapidly calculating Charlson comorbidity score. *BMC Cancer.* 2004;4:94.
4. Charlson ME, Pompei P, Ales KL, MacKenzie CR. A new method of classifying prognostic comorbidity in longitudinal studies: development and validation. *J Chronic Dis.* 1987;40(5):373-83.
5. Maltoni M, Caraceni A, Brunelli C, Broeckeaert B, Christakis N, Eychmueller S, et al. Prognostic factors in advanced cancer patients: evidence-based clinical recommendations--a study by the Steering Committee of the European Association for Palliative Care. *J Clin Oncol.* 2005;23:6240-8.
6. Harris D, Barts A, Connors J, Dahl M, Elliott T, Kong J, et al. Glucocorticoid-induced hyperglycemia is prevalent and unpredictable for patients undergoing cancer therapy: an observational cohort study. *Curr Oncol.* 2013;20:e532-8.
7. Ogawa A, Johnson JH, Ohneda M, McAllister CT, Inman L, Alam T, et al. Roles of insulin resistance and beta-cell dysfunction in dexamethasone-induced diabetes. *The Journal of clinical investigation.* 1992;90:497-504.
8. Janssen-Heijnen ML, Houterman S, Lemmens VE, Louwman MW, Maas HA, Coebergh JW. Prognostic impact of increasing age and co-morbidity in cancer patients: a population-based approach. *Crit Rev Oncol Hematol.* 2005;55:231-40.
9. van de Poll-Franse LV, Houterman S, Janssen-Heijnen ML, Dercksen MW, Coebergh JW, Haak HR. Less aggressive treatment and worse overall survival in cancer patients with diabetes: a large population based analysis. *International journal of cancer Journal international du cancer.* 2007;120:1986-92.
10. Barone BB, Yeh HC, Snyder CF, Peairs KS, Stein KB, Derr RL, et al. Long-term all-cause mortality in cancer patients with preexisting diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis. *JAMA : the journal of the American Medical Association.* 2008;300:2754-64.
11. Evans JM, Donnelly LA, Emslie-Smith AM, Alessi DR,

- Morris AD. Metformin and reduced risk of cancer in diabetic patients. *BMJ*. 2005;330:1304-5.
12. Schneider MB, Matsuzaki H, Haorah J, Ulrich A, Standop J, Ding XZ, et al. Prevention of pancreatic cancer induction in hamsters by metformin. *Gastroenterology*. 2001;120:1263-70.
 13. Post PN, Hansen BE, Kil PJ, Janssen-Heijnen ML, Coebergh JW. The independent prognostic value of comorbidity among men aged < 75 years with localized prostate cancer: a population-based study. *BJU Int*. 2001;87:821-6.
 14. De Marco MF, Janssen-Heijnen ML, van der Heijden LH, Coebergh JW. Comorbidity and colorectal cancer according to subsite and stage: a population-based study. *Eur J Cancer*. 2000;36:95-9.
 15. Firat S, Byhardt RW, Gore E. Comorbidity and Karnofsky performance score are independent prognostic factors in stage III non-small-cell lung cancer: an institutional analysis of patients treated on four RTOG studies. *Radiation Therapy Oncology Group. Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2002;54:357-64.
 16. Hall SF, Groome PA, Rothwell D. The impact of comorbidity on the survival of patients with squamous cell carcinoma of the head and neck. *Head Neck*. 2000;22:317-22.
 17. Birim O, Maat AP, Kappetein AP, van Meerbeeck JP, Damhuis RA, Bogers AJ. Validation of the Charlson comorbidity index in patients with operated primary non-small cell lung cancer. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2003;23:30-4.
 18. Rieker RJ, Hammer E, Eisele R, Schmid E, Hogel J. The impact of comorbidity on the overall survival and the cause of death in patients after colorectal cancer resection. *Langenbecks Arch Surg*. 2002;387:72-6.
 19. Arauco O. Frecuencia de diabetes mellitus y factores de riesgo asociados en el distrito de Villa el Salvador- Lima. Tesis de Maestría, UPCH, Lima, 1999.
 20. Zubieta M. Epidemiología de la diabetes mellitus en el Perú. En *Diabetes Mellitus en el Perú*, 1996, p.24-40.
 21. American Diabetes A. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*. 2013;36 Suppl 1:S67-74.
 22. Yanovsky S, Yanovsky JA. Obesity. *N Engl J Med*. 2002;246:591-602.
 23. Seclén S, Leey J, Villena A. Prevalencia de diabetes mellitus tipo 2, hipertensión arterial, hipercolesterolemia, obesidad como factores de riesgo coronario y cerebro vascular en población adulta de costa sierra y selva del Perú. Premio Rousell 1997. Lima; Hoechst Marion Rousel; 1997, 32 p.
 24. Chobanian AV, Bakris GL, Black HR, Cushman WC, Green LA, Izzo JL, Jr., et al. Seventh report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure. *Hypertension*. 2003;42:1206-52.
 25. Agusti RC. Epidemiology of Arterial Hypertension in Peru. *Acta Medica Peruana*. 2006;23:1.
 26. Humphreys B, Soiffer R, Magee C. Renal Failure Associated with Cancer and Its Treatment: An Update. *Journal of The American Society of Nephology*. 2005;16:151-161.
 27. de Groot V, Beckerman H, Lankhorst GJ, Bouter LM. How to measure comorbidity. a critical review of available methods. *J Clin Epidemiol*. 2003;56:221-9.
 28. West DW, Satariano WA, Ragland DR, Hiatt RA. Comorbidity and breast cancer survival: a comparison between black and white women. *Ann Epidemiol*. 1996;6:413-9.
 29. Piccirillo JF, Tierney RM, Costas I, Grove L, Spitznagel EL, Jr. Prognostic importance of comorbidity in a hospital-based cancer registry. *JAMA*. 2004;291:2441-7.

Fuente de financiamiento:

Este estudio fue financiado por el III Concurso de Financiamiento de Proyectos de Investigación 2014 del instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas

Declaración de conflictos de intereses:

CF es editor de Carcinosis. Los demás autores declaran que no existen potenciales conflictos de intereses con esta publicación.



Esta obra está bajo una licencia de Creative Commons Reconocimiento 4.0 Internacional. <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

Polimorfismos CYP2C8 y ABCB1 en pacientes con cáncer de mama tratados con paclitaxel

CYP2C8 and ABCB1 polymorphisms in paclitaxel-treated breast cancer patients

Carol Flores-Fernández,¹ Amparo I. Zavaleta,¹ Víctor Izaguirre,¹ Carlos A. Castañeda,² Henry L Gomez,² Tatiana Vidaurre-Rojas²

1, Laboratorio de Biología Molecular, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú

2, Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas. Lima, Perú

RESUMEN

Introducción: El objetivo del presente estudio fue determinar las frecuencias de las variantes CYP2C8*2 y CYP2C8*3 del gen CYP2C8 y la variante 1236 C>T del gen ABCB1 en pacientes con cáncer de mama que reciben tratamiento con paclitaxel y reportar los efectos adversos producidos por este fármaco. **Métodos:** En un estudio descriptivo se seleccionaron 39 pacientes mujeres con cáncer de mama que recibieron quimioterapia neoadyuvante con paclitaxel, quienes acudieron al Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas entre marzo y diciembre del 2013. El ADN genómico fue analizado mediante PCR-RFLP. **Resultados:** Las frecuencias alélicas relativas para CYP2C8*2, CYP2C8*3 y ABCB1 1236 C>T fueron 0,0; 0,06 y 0,46, respectivamente. Se observó que el 87,2 % presentó alguno de los efectos adversos relacionados con el paclitaxel. **Conclusiones:** Las frecuencias alélicas para las variantes del gen CYP2C8 fueron bajas, en tanto que las frecuencias de la variante 1236 C>T del gen ABCB1 fueron similares a las reportada en otros estudios realizados en otras poblaciones sudamericanas no afectas. Además, un alto porcentaje de pacientes presentó efectos adversos.

Palabras clave: CYP2C8, ABCB1, Cáncer de Mama, Paclitaxel, PCR-RFLP.

ABSTRACT

Background: Our aim was to determine frequencies of CYP2C8*2 and CYP2C8*3 variants of CYP2C8 gene and 1236 C>T variant of ABCB1 gene in breast cancer patients receiving treatment with paclitaxel and describe the adverse effects to this drug. **Methods:** In this descriptive study, thirty nine patients with breast cancer receiving neoadjuvant chemotherapy with paclitaxel and attended the National Institute of Neoplastic Diseases between March and December 2013 were evaluated. Genomic DNA was analyzed by PCR-RFLP. **Results:** Allele frequencies for CYP2C8*2, CYP2C8*3 and 1236 C>T were 0.0; 0.06 and 0.46, respectively. In addition, it was found that 87.2% of the patients presented side effects to paclitaxel. **Conclusions:** Allele frequencies for CYP2C8 gene variants were low, while, the frequency of the variant 1236 C>T gene ABCB1 was similar to prior studies in not affected South American populations. Moreover, a high percentage of patients had adverse effects.

Keywords: CYP2C8, ABCB1, Breast Cancer, Paclitaxel, PCR-RFLP

Autor para correspondencia:

Carol Flores

Laboratorio de Biología Molecular, Facultad de Farmacia y Bioquímica, UNMSM. Lima, Perú

Jr. Javier Heraud 183 Lucyana, Carabayllo.

Lima 6 – Perú

Teléfono: ++51 980553650

Email: nathalifloresf@gmail.com

Recibido el 10 de Junio de 2015

Aceptado para publicación el 24 de Julio de 2016

INTRODUCCIÓN

El cáncer de mama es el más frecuente en mujeres y constituye la segunda causa de muerte en el Perú.¹ Paclitaxel es un agente antineoplásico del grupo de los taxanos cuyo mecanismo de acción consiste en unirse a la subunidad beta de la tubulina de los microtúbulos, estabilizarlos, evitar su despolimerización e inducir la catástrofe mitótica y de esta manera la apoptosis celular.² Este fármaco forma parte de los esquemas de tratamiento del

cáncer de mama, pero puede presentar distintas respuestas o efectos adversos. Las causas de esta variabilidad en los efectos puede estar relacionada con la presencia de polimorfismos en los genes que codifican las enzimas responsables de su metabolismo y proteínas de transporte.³

Paclitaxel es metabolizado en el hígado a un metabolito inactivo mayor (6 α -hidroxipaclitaxel) por CYP2C8 y posteriormente por la CYP3A4 a dos metabolitos inactivos menores que son el 3-p-hidroxipaclitaxel y el 6 α , 3-p-dihidroxipaclitaxel.⁴

Para su eliminación, paclitaxel y sus metabolitos son transportados por la glicoproteína P (P-gp).

El gen *ABCB1* codifica la glicoproteína P-gp que se expresa en el hígado, intestino, riñones, barrera hematoencefálica y células tumorales. Su función es secretar los xenobióticos como el paclitaxel y sus metabolitos hacia el canalículo biliar, al lumen intestinal o difundirlos al plasma.⁵

La presencia de variantes polimórficas en el gen *CYP2C8* puede afectar la función de la enzima.⁶ Las variantes más estudiadas en este gen son *CYP2C8*2* y *CYP2C8*3* y han sido asociadas con una menor actividad catalítica de la enzima. Además, se ha descrito que pacientes que presentan la variante *CYP2C8*3* tienen mayor probabilidad de lograr respuesta completa, pero también mayor riesgo de presentar neurotoxicidad grave inducida por paclitaxel.⁷ Las variantes *CYP2C8*2* y *CYP2C8*3*, son mutaciones no sinónimas, localizadas en los exones 5 y 8 del gen *CYP2C8* respectivamente. *CYP2C8*2* codifica una proteína con la sustitución de Ile269Phe y *CYP2C8*3* codifica una proteína con dos sustituciones aminoacídicas, Arg139Lys y Lys399Arg.^{8,9} El gen *ABCB1* también presenta variantes polimórficas que pueden afectar la expresión o función de este transportador.^{10,11} Una de las variantes más estudiadas en este gen es la 1236 C>T, una mutación sinónima localizada en el exón 12.¹² Esta variante ha sido asociada con una alteración en la expresión de la proteína, lo cual podría llevar a una disminución en la secreción o distribución del fármaco y sus metabolitos, causando alteraciones en la respuesta y toxicidad.^{13,14}

El estudio de las variantes *CYP2C8*2* y *CYP2C8*3* del gen *CYP2C8* y de la variante 1236 C>T del gen *ABCB1* puede ayudar a individualizar la terapia con el objetivo de optimizar la respuesta y disminuir la toxicidad, lo cual tendría un impacto positivo en la reducción del costo en el tratamiento del cáncer de mama. En Perú, no se han realizado estudios sobre la frecuencia de estas variantes en pacientes con cáncer de mama que reciben quimioterapia neoadyuvante con paclitaxel.

Los objetivos del presente estudio son determinar las frecuencias de las variantes *CYP2C8*2* y *CYP2C8*3* del gen *CYP2C8* y de la variante 1236 C>T del gen *ABCB1* y reportar los efectos adversos que presentaron las pacientes.

MATERIALES Y MÉTODOS

Pacientes

Se seleccionaron pacientes con diagnóstico de cáncer de mama localmente avanzado (estadios IIB-IIC) que acudieron al consultorio de oncología

médica del Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas (INEN) entre marzo y diciembre del 2013. Los criterios de inclusión fueron pacientes con diagnóstico reciente de cáncer de mama localmente avanzado sin tratamiento quimioterápico previo y pacientes sin contraindicaciones para el uso de quimioterapia neoadyuvante con taxanos. Se excluyeron a las pacientes con predisposición o que presentaban enfermedades hepáticas, neurológicas o hematológicas, las cuales no podían recibir quimioterapia a dosis estándar. Las pacientes recibieron quimioterapia neoadyuvante con el esquema estándar del INEN que consiste en 12 ciclos semanales de paclitaxel, administrado como infusión a una dosis de 80 mg/m² por 1 h, seguidos de 4 ciclos de doxorubicina-ciclofosfamida cada 21 días.

En este estudio sólo se evaluó la quimioterapia con paclitaxel. Se obtuvo información clínica de las historias de cada paciente mediante una ficha de recolección de datos, la cual incluyó: estadio del cáncer de mama, tipo histológico y grado. Además, se registraron los efectos adversos del paclitaxel, los cuales incluyeron: neuropatía, leucopenia, anemia, trombocitopenia e incremento de los niveles de transaminasas. El estudio fue aprobado por el comité de ética del INEN y se obtuvo el consentimiento informado de todas las pacientes para la toma y uso de muestras de sangre y el análisis de la información clínica (protocolo, INEN 14-59).

Análisis genético

Se extrajo el ADN genómico de muestras de sangre total usando el kit *DNA Blood GF-1 Extraction Kit* siguiendo las instrucciones del fabricante, y se almacenó a -20 °C hasta su análisis. Las variantes *CYP2C8*2* (805A>T, I269F) y *CYP2C8*3* (1196 A>G, K399R) del gen *CYP2C8* fueron identificadas mediante la Reacción en Cadena de la Polimerasa-Polimorfismo en Longitud de Fragmentos de Restricción (PCR-RFLP). Los cebadores empleados fueron F:5'-AAGATACATATATCTTATGACATG-3' y R:5'-ATCCTTAGTAAATTACAGAAGG-3' (*CYP2C8*2*) y F: 5'-CTTCCGTGCTACATGATGACG-3' y R:5'-CTGCTGAGAAAGGCATGAAG-3' (*CYP2C8*3*), en donde el nucleótido G de la secuencia del cebador F es un *mismatch* con la secuencia del exón 8, diseñado para crear un sitio de restricción en el producto de PCR del alelo silvestre. Las condiciones de la PCR fueron desnaturalización a 94°C por 30s, hibridación a 55°C por 30 s y polimerización a 72°C por 30s, las cuales se repitieron por 35 ciclos. La polimerización final se realizó a 72°C por 7min.¹⁵ Los productos de PCR fueron digeridos con las enzimas BclI y PmlI (Xmnl) para *CYP2C8*2* y *CYP2C8*3* respectivamente. Los productos de PCR digeridos fueron analizados mediante electroforesis en geles de agarosa NuSieve® 3:1 al 3% para

Tabla 1. Características clínicas y patológicas de las pacientes con cáncer de mama tratadas con paclitaxel.

Características	Pacientes (n)
Estadio del cáncer	
IIB	4
IIIA	4
IIIB	28
IIIC	3
Grado tumoral	
1	1
2	9
3	29
Receptor de estrógeno	
Positivo	15
Negativo	24
Receptor de progesterona	
Positivo	15
Negativo	24
HER2	
Positivo	15
Negativo	24
Efectos adversos	
Si	34
No	5

HER2: Receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico humano

CYP2C8*2 y 3,5% para CYP2C8*3 con buffer TBE 0,5X. Se utilizó el marcador de peso molecular 50 bp DNA Ladder y como buffer de carga el *fluorescent DNA loading dye* para visualizar el ADN en un transiluminador UV. Aproximadamente el 10% de los productos de PCR de CYP2C8*2 fueron seleccionados y secuenciados con la finalidad de confirmar los resultados obtenidos por PCR-RFLP. Los productos amplificados del gen ABCB1 variante 1236 C>T fueron secuenciados. Las condiciones de la PCR fueron similares a CYP2C8*2 y CYP2C8*3, con la diferencia en la hibridación que fue a 60 °C. Los cebadores empleados fueron ABCB11236 F: 5'-TATCCTGTGTCTGTGAATTGCC-3' y ABCB11236R:5'-CCTGACTCACCACACCAATG-3'.¹⁶ Las secuencias nucleotídicas se analizaron usando los programas BLAST y ClustalX2.

Análisis estadístico

La estadística descriptiva de los datos fue presentada como promedios y desviaciones estándar para las variables continuas, mientras que los porcentajes y las frecuencias se utilizaron para las variables categóricas. El nivel de significancia estadística considerado en este estudio fue de $p < 0,05$. Todo el análisis se realizó con el software SPSS versión 17.0.

RESULTADOS

Pacientes

Se incluyeron a 39 pacientes mujeres con diagnóstico reciente de cáncer de mama localmente avanzado cuya edad promedio fue de 49 años

Tabla 2. Frecuencia genotípicas y alélicas de la variante CYP2C8*3 del gen CYP2C8 en pacientes con cáncer de mama tratadas con paclitaxel

CYP2C8*3 (1196 A>G, K399R)		
Genotipo	Nº de pacientes	Frecuencia relativa
AA	36	0,92
AG	1	0,03
GG	2	0,05
Alelos	Nº de alelos	Frecuencia relativa
A	73	0,93
G	5	0,06

Tabla 3. Frecuencias genotípicas y alélicas de la variante 1236 C>T del gen *ABCB1* en pacientes con cáncer de mama tratadas con paclitaxel.

Variante del gen <i>ABCB1</i> [*]	Efecto †	Frecuencia genotípica [£]			Frecuencia alélica	
		CC ^a	CT	TT	C	T
<i>ABCB1</i> 1236C>T	G412G	14 (0,36)	14 (0,36)	11 (0,28)	0,54	0,46

^a, paciente homocigótico silvestre;

^{*}, El número representa la posición en la secuencia nucleotídica;

†, El número representa el codón del aminoácido;

£, El número representa el número de pacientes con el porcentaje entre paréntesis;

(rango entre 30 y 75 años). Las características clínicas de las pacientes se muestran en la **tabla 1**. Además, se encontró que el 87,2 % presentó efectos adversos, de las cuales el 56,4 % presentó neuropatía.

Frecuencias genotípicas y alélicas de las variantes *CYP2C8*2* y *CYP2C8*3* del gen *CYP2C8*

Se estudiaron las frecuencias genotípicas y alélicas de las variantes *CYP2C8*2* y *CYP2C8*3* del gen *CYP2C8* en 78 alelos correspondientes a 39 pacientes. Para la variante *CYP2C8*2* (805A>T), se encontró que todas las pacientes presentaron el genotipo silvestre con el alelo 805A. Para la variante *CYP2C8*3* (1196 A>G), la frecuencia relativa de genotipos fue: AA= 0,92; AG= 0,03 y GG= 0,05 y la frecuencia para el alelo polimórfico 1196 G fue de 0,06 (**tabla 2**).

Frecuencias genotípicas y alélicas de la variante 1236 C>T del gen *ABCB1* y su asociación con la respuesta a la quimioterapia neoadyuvante con paclitaxel

La variante 1236 C>T del gen *ABCB1* fue estudiada en 39 pacientes. La frecuencia relativa de los genotipos fue: CC= 0,36; CT= 0,36 y TT= 0,28. La frecuencia alélica relativa para el alelo polimórfico (T) fue de 0,46 (**tabla 3**).

DISCUSIÓN

El cáncer de mama constituye un problema de salud pública en el mundo cuya incidencia y la mortalidad se están incrementando en el Perú. La quimioterapia neoadyuvante tiene como objetivo reducir el tamaño tumoral previo a la cirugía y constituye la base del manejo del cáncer de mama localmente avanzado. El paclitaxel es uno de los agentes antineoplásicos para el tratamiento del cáncer de mama; sin embargo, la respuesta terapéutica y los efectos adversos presentan gran variabilidad interindividual. Las variantes *CYP2C8*2*

y *CYP2C8*3* del gen *CYP2C8*, que codifica la principal enzima implicada en el metabolismo de este fármaco; y la variante 1236 C>T del gen *ABCB1*, que codifica la P-gp implicada en su transporte y eliminación, han sido asociadas con dicha variabilidad. Se estudió la presencia de estas variantes en pacientes con cáncer de mama que recibieron quimioterapia neoadyuvante con paclitaxel y se reportó los efectos adversos causados por este fármaco. En Sudamérica, no se han reportado estudios de estas variantes asociadas al metabolismo del paclitaxel en pacientes con cáncer de mama, pero sí a la de otros fármacos metabolizados por la enzima *CYP2C8* y transportados por la P-gp en distintas poblaciones. No se encontró la variante *CYP2C8*2* en la población estudiada. Carmona *et al.*, reportaron una frecuencia alélica relativa de 0,01 en una población de Colombia.¹⁵ *CYP2C8*2* ha sido reportado principalmente en poblaciones africanas y asociada a la disminución del metabolismo del paclitaxel con frecuencias alélicas relativas entre 0,1 y 0,22.¹⁷⁻¹⁹ Se han detectado frecuencias alélicas menores en otras poblaciones tales como Hindú (0,03), Malasia (0,008) y Caucásica (0,007).^{10,20,21}

En el estudio de la variante *CYP2C8*3* se observó una frecuencia alélica de 0,06, valor similar al 0,65 reportado en una población ecuatoriana mestiza. Asimismo, en una población española se reportó una frecuencia alélica de 0,11.²² *CYP2C8*3* se ha detectado principalmente en poblaciones caucásicas con frecuencias alélicas relativas entre 0,09 y 0,17.^{6,10,17,23} Se han descrito frecuencias alélicas menores en India (0,04), Senegal (0,02), Malasia (0,01) y Ghana (0,00).^{17,19-21} La presencia de las variantes *CYP2C8*2* y *CYP2C8*3* ha sido asociada con una menor actividad catalítica de la enzima *CYP2C8*, lo cual incrementaría la concentración plasmática y la exposición del paciente al paclitaxel, induciendo de esta manera efectos adversos. La frecuencia genotípica encontrada para la variante 1236 C>T fue de 0,36; 0,36 y 0,28 para CC, CT y TT respectivamente, siendo las frecuencias alélicas relativas para C y T

de 0,54 y 0,46, respectivamente. Estos resultados son similares a los descritos en poblaciones sudamericanas. Wielandt *et al.*, reportaron frecuencias genotípicas de 0,36; 0,46 y 0,18 para CC, CT y TT respectivamente en una población mestiza de Chile. Las frecuencias alélicas para C fue de 0,59 y para T de 0,41.²⁴ Estrela *et al.*, reportaron frecuencias genotípicas de 0,40; 0,39 y 0,21 para CC, CT y TT respectivamente en una población de Brasil. Las frecuencias alélicas para C y T fueron de 0,59 y 0,41, respectivamente.²⁵ Además, frecuencias genotípicas y alélicas similares han sido reportadas en una población caucásica para CC (0,34); CT (0,49) y TT (0,16), así como para C (0,59) y T (0,41).²⁶ Frecuencias mayores para el genotipo TT (0,44) y el alelo T (0,65) han sido reportadas en una población asiática.²⁷ En tanto frecuencias menores para el genotipo TT (0,0) y para el alelo T (0,15) han sido descritas en una población africana.²⁸ La presencia de la variante 1236 C>T del gen ABCB1 ha sido asociada a una menor expresión de la P-gp, lo cual generaría una disminución en el eflujo del fármaco, aumentando su concentración en el interior de las células normales y tumorales e incrementando la respuesta pero también la presentación de efectos adversos.¹³

En conclusión, las frecuencias alélicas para las variantes del gen *CYP2C8* fueron bajas, ya que éstas difieren según la raza y el origen étnico; en tanto, la población peruana es producto de un mestizaje entre españoles, africanos, asiáticos y amerindios; existiendo variaciones de una región a otra en relación al componente étnico que predomina en cada zona. Por otro lado, la frecuencia genotípica y alélica de la variante 1236 C>T del gen *ABCB1* fue similar a la reportada en otros estudios realizados en otras poblaciones sudamericanas no afectas, ya que no se han realizado estudios en pacientes con cáncer de mama. Además, un alto porcentaje de pacientes presentó efectos adversos (87,2%).

BIBLIOGRAFÍA

1. Registro de Cáncer de Lima Metropolitana. 2014. Volumen IV: Estudio de Incidencia y Mortalidad 2004-2005.
2. Tommasi S, Mangia A, Lacalamita R, Bellizzi A, Fedele V, Chiriatti A, et al. Cytoskeleton and paclitaxel sensitivity in breast cancer: The role of b-tubulins. *Int. J. Cancer.* 2007; 120: 2078-2085.
3. Leskelä S, Jara C, Leandro-García LJ, Martínez a, García-Donas J, Hernando S, et al. Polymorphisms in cytochromes P450 2C8 and 3A5 are associated with paclitaxel neurotoxicity. *Pharmacogenomics J.* 2011; 11:121-129.
4. Quiñones L, Rosero M, Roco A, Moreno I, Sasso J, Varela N, et al. Role of cytochrome P450 enzymes in the metabolism of antineoplastic drugs. *Rev Méd Chile.* 2008; 136: 1327-1335.
5. Leskelä S. Pharmacogenetics of taxanes: Identification and characterization of molecular mechanisms underlying toxicity and lack of response [tesis doctoral]. España: Universidad Autónoma de Madrid Facultad de Ciencias; 2009.
6. Bahadur N, Leathart JBS, Mutch E, Steimel-Crespi D, Dunn SA, Gilissen R, et al. CYP2C8 polymorphisms in caucasians and their relationship with paclitaxel 6alpha-hydroxylase activity in human liver microsomes. *Biochem Pharmacol.* 2002; 64:1579-1589
7. Hertz DL, Roy S, Motsinger-Reif A, Drobish A, Clark LS, McLeod HL, et al. CYP2C8*3 increases risk of neuropathy in breast cancer patients treated with paclitaxel. *Ann Oncol.* 2013; 24:1472-8.
8. Hruska MW. Characterization of cytochrome P450 2C8 activity in vivo: pharmacogenetic and pharmacokinetic studies of rosiglitazone metabolism [tesis doctoral]. Pittsburgh: University of Pittsburgh; 2004.
9. Kaspara R, Narahariseti S, Evangelista E, Marciante K, Psaty B, Totah R. Drug metabolism by CYP2C8.3 is determined by substrate dependent interactions with cytochrome P450 reductase and cytochrome b5 τ . *Biochem Pharmacol.* 2011; 82:681-691.
10. Henningsson A, Marsh S, Loos W, Karlsson M, Garsa A, Mross K, et al. Association of CYP2C8, CYP3A4, CYP3A5, and ABCB1: Polymorphisms with the Pharmacokinetics of Paclitaxel. *Clin Cancer Res.* 2005; 11:8097-8104.
11. Lévy P, Gligorov J, Antoine M, Rezai K, Lévy E, Selle F, et al. Influence of ABCB1 polymorphisms and docetaxel pharmacokinetics on pathological response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer patients. *Breast Cancer Res Treat.* 2013; 139:421-8.
12. Reed K, Parissenti AM. The effect of ABCB1 genetic variants on chemotherapy response in HIV and cancer treatment. *Pharmacogenomics.* 2011; 12:1465-1483.
13. Chaturvedi P, Tulsyan S, Agarwal G, Lal P, Agarwal S, Mittal RD, et al. Influence of ABCB1 genetic variants in breast cancer treatment outcomes. *Cancer Epidemiology.* 2013; 37:754-761.
14. Hertz DL, Motsinger-Reif A, Drobish A, Winham SJ, McLeod HL, Carey L, et al. CYP2C8*3 predicts benefit/risk profile in breast cancer patients receiving neoadjuvant paclitaxel. *Breast Cancer Res Treat.* 2012; 134:401-410.
15. Carmona J, Guzmán V, Maestre A. Malaria: eficacia de amodiaquina-sulfadoxina-pirimetamina, estado nutricional y variantes alélicas del gen CYP2C8 *. *Colomb Med.* 2009; 40:103-113.
16. Yoo HD, Cho HY, Lee YB. Population pharmacokinetic analysis of cilostazol in healthy subjects with genetic polymorphisms of CYP3A5, CYP2C19 and ABCB1. *Br J Clin Pharmacol.* 2010; 69:27-37.
17. Dai D, Zeldin DC, Blaisdell JA, Chanas B, Coulter SJ, Ghanayem BI, et al. Polymorphisms in human CYP2C8 decrease metabolism of the anticancer drug paclitaxel and arachidonic acid. *Pharmacogenetics.* 2001; 11:597-607.
18. Paganotti GM, Gramolelli S, Tabacchi F, Russo G, Modiano D, Coluzzi M, et al. Distribution of human CYP2C8*2 allele in three different African populations. *Malaria Journal.* 2012; 11:125.
19. Kudzi W, Dodoo AN, Mills JJ. Characterisation of CYP2C8, CYP2C9 and CYP2C19 polymorphisms in a Ghanaian population. *BMC Medical Genetics.* 2009; 11:124.
20. Minhas S, Setia N, Pandita S, Saxena R, Verma IC, Aggarwal S. Prevalence of CYP2C8 polymorphisms in a North Indian population. *Genet Mol Res.* 2013; 12:2260-2266.
21. Muthiah YD, Lee WL, Teh LK, Ong CE, Ismail R. Genetic polymorphism of CYP2C8 in three Malaysian ethnics: CYP2C8*2 and CYP2C8*3 are found in

- Malaysian Indians. *J Clin Pharm Ther.* 2005; 30:487–490.
22. Vicente J, González-Andrade F, Soriano A, Fanlo A, Martínez-Jarreta B, Sinués B. Genetic polymorphisms of CYP2C8, CYP2C9 and CYP2C19 in Ecuadorian Mestizo and Spaniard populations: a comparative study. *Mol Biol Rep.* 2014; 41:1267–1272.
23. Martínez C, García-Martín E, Blanco G, Gamito FJG, Ladero JM, Agúndez JAG. The effect of the cytochrome P450 CYP2C8 polymorphism on the disposition of (R)-ibuprofen enantiomer in healthy subjects. *Br J Clin Pharmacol.* 2005; 59:62–68.
24. Wielandt AM, Vollrath VR, Chianale J. Polymorphisms of the multiple drug resistance gene (MDR1) in Mapuche, Mestizo and Maori populations in Chile. *Rev Med Chil.* 2004; 132:1061–1068.
25. Estrela R, Ribeiro F, Carvalho R, Gregório S, Dias-Neto E, Struchiner C, et al. Distribution of ABCB1 polymorphisms among Brazilians: impact of population admixture. *Pharmacogenomics.* 2008; 9:267–276.
26. Cascorbi I, Gerloff T, John A, Meisel C, Hoffmeyer S, Schwab M, et al. Frequency of single nucleotide polymorphism in the P-glycoprotein drug transporter MDR1 gene in white subjects. *Clin Pharmacol Ther.* 2001; 69: 169-174.
27. Tanabe M, Ieiri I, Nagata N, Inoue K, Ito S, Kanamori, et al. Expression of P-glycoprotein in human placenta: relation to genetic polymorphism of the multidrug resistance (MDR-1) gene. *J Pharmacol Exp Ther.* 2001; 297: 1137-1143.
28. Kim R, Leake B, Choo E, Dresser G, Kubba S, Schwarz U, et al. Identification of functionally variant MDR1 alleles among European Americans and African Americans. *Clin Pharmacol Ther.* 2001; 70: 189-99.

Fuente de financiamiento:

Este estudio fue financiado por el Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas y el Vicerrectorado de Investigación de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (130403011, 130403057).

Declaración de conflictos de intereses:

HLG es editor de Carcinosis. Los demás autores declaran que no existen potenciales conflictos de intereses con esta publicación.



Esta obra está bajo una licencia de Creative Commons Reconocimiento 4.0 Internacional. <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

Análisis del uso de sonoelastografía cuantitativa en un paciente sano

Analysis of the use of quantitative sonoelastography in a healthy patient

Stefano Romero,¹ Eduardo González,¹ Benjamín Castañeda.¹

1, Laboratorio de Imágenes Médicas (LIM), Sección Electricidad y Electrónica, Departamento de Ingeniería, Pontificia Universidad Católica del Perú. Lima-Perú

RESUMEN

Introducción: El cáncer de mama ocupa el segundo lugar como el cáncer más letal en mujeres a nivel mundial. Por ello, es necesario establecer técnicas de imagenología adicionales a las convencionales que puedan medir las propiedades mecánicas del tejido, mejorando el diagnóstico para cáncer de mama. En este contexto, la sonoelastografía cuantitativa es un método basado en ultrasonido donde se estima elasticidad de un tejido excitándolo con fuentes de vibración mecánica, acoplados convencionalmente en forma paralela. **Métodos:** Se construyó un maniquí de simulación de tejido a base de gelatina y se realizaron experimentos de sonoelastografía cuantitativa con tres métodos de excitación. Asimismo, se realizó la adquisición de datos ultrasónicos para una glándula mamaria sana. **Resultados:** Para los tres métodos de excitación, la inclusión está bien definida con un valor medio similar de velocidad de onda de corte (SWS) entre ellos. La excitación paralela (PES) presenta más variabilidad en los experimentos con diferentes frecuencias en el fondo (CV: 3,74%). Por otro lado, en cuanto a placas superficiales (SP), el valor de SWS estaba más cerca (3,43 m/s) al valor verdadero del fondo (3,45 m/s), presentando una variación similar en comparación con PES. Del mismo modo, si bien los valores RH se encuentran subestimados en el fondo (Bias RH: 3,76%) y en la inclusión (Bias HR: 9,61%), se genera una menor variabilidad que en las otras dos configuraciones en el fondo (CV: 2,11%) mas no en la inclusión (CV: 6,25%). Finalmente, su señal a ruido (SNR) de inclusión tiene menos desviación estándar que en el otros métodos (PSA: 2,84 dB, SP: 2,02 dB, HR: 1,56 dB), pero no es la más baja en la SNR de fondo (PES: 2,84 dB, SP: 2,02 dB, HR: 2,99 dB). **Conclusiones:** Los resultados son prometedores, debido a que la imagen reconstruida poseía variabilidad tolerable para elasticidades típicas en tejidos homogéneos, validando los valores estimados con los encontrados en la literatura. Sin embargo, estudios adicionales son requeridos a fin de contar con una base de datos amplia para la validación de la técnica en detección de cáncer de mama.

Palabras clave: Sonoelastografía Cuantitativa, Diagnóstico por Imágenes, Cáncer de Mama.

ABSTRACT

Background: Breast cancer is the second most lethal cancer in women worldwide. Therefore, it is necessary to establish additional imaging techniques to conventional ones, able to measure the mechanical properties of the tissue, improving the diagnosis for breast cancer. In this context, quantitative sonoelastography is an ultrasound-based method where elasticity of a tissue is estimated by excitation with mechanical vibration sources, conventionally coupled in parallel. **Methods:** A gelatin-based tissue simulation manikin was constructed and quantitative shear-wave experiments were performed with three excitation methods. Also, the acquisition of ultrasonic data for a healthy mammary gland was performed. **Results:** For the three excitation methods, the inclusion is well defined with a similar mean value of shear wave velocity (SWS) between them. Parallel excitation (PES) presents more variability in experiments with different frequencies in the background (CV: 3.74%). On the other hand, in relation to surface plates (SP), the value of SWS was closer (3.43 m/s) to the true value of the bottom (3.45 m/s), presenting a similar variation compared to PES. Similarly, although the RH values are underestimated in the background (Bias RH: 3.76%) and in inclusion (Bias HR: 9.61%), less variability is generated than in the other two configurations in the background (CV: 2.11%) but not in the inclusion (CV: 6.25%). Finally, its inclusion signal-to-noise (SNR) has less standard deviation than the other methods (PSA: 2.84 dB, SP: 2.02 dB, HR: 1.56 dB), but it is not the lowest in SNR of background (PES: 2.84 dB, SP: 2.02 dB, HR: 2.99 dB). **Conclusions:** The results are promising because the reconstructed image possessed tolerable variability for typical elasticities in homogeneous tissues validating the estimated values with those found in the literature. However, additional studies are required in order to have a comprehensive database for the validation of the technique in breast cancer screening.

Keywords: Quantitative Sonoelastography, Imaging Diagnostic, Breast Cancer.

Autor para correspondencia:

Benjamín Castañeda

Laboratorio de Imágenes Médicas, Pontificia Universidad Católica del Perú, Lima, Perú.

Av. Universitaria 1801

Lima 32 – Perú

Teléfono: ++51 626-2000

Email: castaneda.b@pucp.edu.pe

Recibido el 11 de Junio de 2015

Aceptado para publicación el 22 de Agosto de 2016

INTRODUCCIÓN

El cáncer de mama es una enfermedad degenerativa cuya tasa de mortalidad es una de las más altas a nivel mundial. En el Perú, durante el periodo 2006-2011, se han presentado aproximadamente 11 340 casos de los cuales sólo 49 casos fueron diagnosticados mediante un programa de tamizaje.¹ Así mismo, en el 2014, el Ministerio de Salud realizó un estudio del registro de cáncer entre los años 2004 y 2005 en la ciudad de Lima en donde se encontró que de las 16 319 mujeres, el 33,8% tenían tumores en el seno.² Considerando estas estadísticas, es importante realizar una detección temprana a fin de aplicar el tratamiento adecuado para curar la enfermedad.

Existen distintas técnicas que permiten detectar tumores en el tejido, en especial en el cáncer de mama. Entre las más seguras se encuentra la palpación; sin embargo, este es un método preventivo el cual no diagnostica el tipo de tratamiento a seguir. Por otro lado, uno de los métodos de diagnóstico más comunes en pacientes con tumores detectados es la biopsia. Sin embargo, esta técnica invasiva se basa en la correcta extracción de una región sospechosa a fin de diagnosticar un tumor como maligno o benigno. Por ello, es necesario establecer técnicas de imagenología adicionales que puedan medir las propiedades mecánicas del tejido para ser usados en combinación con otras técnicas de imagenología convencionales en biopsias guiadas, mejorando el diagnóstico para cáncer de mama

Alternativamente, existen técnicas que utilizan radiación no ionizante las cuales han venido siendo estudiadas a lo largo de los últimos 20 años. Entre dichas técnicas se encuentra la elastografía, donde el tejido es excitado con cierto estímulo para luego analizar su respuesta y generar una imagen que representa la elasticidad del mismo. Tal y como está descrito en el trabajo de Parker et al.³ existen diversas técnicas por las cuales es posible generar una imagen elastográfica. Estas técnicas se dividen según la información que brindan (cualitativa o cuantitativa), la naturaleza de excitación aplicada al tejido (excitación mecánica externa o fuerza de radiación acústica) y el modo de adquisición (ultrasonido o resonancia magnética). En la actualidad, existen diversos grupos de investigación a nivel mundial que validan estas técnicas y evalúan su desempeño en la detección de cáncer. Sin embargo, cabe recalcar que cada técnica tiene limitaciones las cuales hacen que la adquisición de datos pueda tornarse complicada e inexacta. En el caso de los métodos cualitativos, si bien son de bajo costo computacional y pueden ser implementados en sistemas en tiempo real, están asimismo sujetos a la interpretación del especialista, cuyo criterio está en función a su formación y experiencia en el campo. Por tal motivo, es conveniente trabajar con

resultados cuantitativos ya que estos generan datos numéricos, los cuales reducen el análisis subjetivo del especialista y pueden ser usados para evaluar el desempeño de la técnica en comparación con valores de elasticidad conocidos en el tejido y resultados de otras técnicas.

Entre las técnicas elastográficas, la imagenología por fuerza de radiación acústica posee gran penetración al utilizar la potencia del transductor (excitación interna) para generar la vibración en el tejido. Sin embargo, existe el riesgo de dañar el tejido si es que se sobrepasan los límites de tiempo de exposición o el nivel de la energía suministrada al tejido. En otros sistemas de generación de imágenes médicas, la resonancia magnética destaca por presentar resolución submilimétrica y alto contraste, distinguiendo entre tejido sano y ciertas tumoraciones. No obstante, además del estrés que se le genera al paciente por la larga duración del examen, el costo de dicho equipo es considerablemente elevado en comparación al de un equipo de ultrasonido. Por lo expuesto, se requiere evaluar y validar una técnica que brinde resultados cuantitativos, cuya generación implique una excitación mecánica externa y pueda realizarse con un equipo de ultrasonido.

La sonoelastografía por ondas de arrastre o *crawling waves* es un método de elastografía cuantitativa el cual brinda una imagen de elasticidad a partir del análisis de una interferencia de patrones, según lo descrito por Wu et al.⁴ A pesar de la validación de esta técnica en maniqués de simulación de tejidos así como en órganos *ex vivo*, la principal limitación de su método radica en la utilización de dos fuentes de vibración de forma paralela, como se puede observar en la **Figura 1**, lo cual hace que dicho experimento presente complicaciones al trasladar las pruebas en tejido *in vivo*. Así mismo, la mayoría de los algoritmos de estimación de velocidad onda de corte, el cual es proporcional a la elasticidad de un tejido, fueron desarrollados considerando una interferencia de patrones generada de forma paralela. Sin embargo, la excitación más apropiada para aplicaciones *in vivo* se da cuando las fuentes se encuentran en la superficie del tejido y en el mismo plano de examinación que el transductor. A esto se le conoce como excitación normal.

Hoyt et al., realizaron un primer acercamiento al uso de este método en músculo *in vivo* para estimar su dureza en estado de contracción y relajamiento, valiéndose de una estructura con dos pistones y un acople en cada uno en forma de "L".⁵ Sin embargo, sólo analizaba la región en la cual la onda se propagaba de forma similar a la paralela, sub estimando y sobre estimando los valores de elasticidad en otras regiones. Por tal motivo, Partin et al., se basó en dicho estudio para plantear correctamente las durezas en maniqués

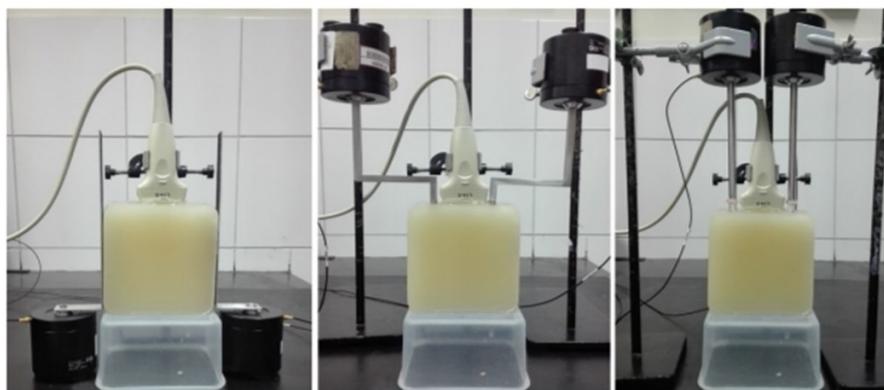


Figura 1. Métodos de excitación en sonoelastografía cuantitativa sobre un maniquí homogéneo. (a) Paralela, (b) Excitación por placas, (c) Excitación con cabezas redonda.

experimentales y tejido *ex vivo*, no se llevaron a cabo pruebas *in vivo* dado que su diseño no podía ser utilizado adecuadamente por un radiólogo.⁶ Por tales motivos, este trabajo busca presentar el equipo apto para realizar pruebas *in vivo* en mama así como la primera imagen obtenida por medio del método de *crawling waves* en un tejido de mama sano utilizando una frecuencia de excitación dentro del rango convencional de operación de la técnica (i.e. 120 Hz).

MATERIALES Y MÉTODOS

Con el fin de validar la técnica en excitación normal, en el Laboratorio de Imágenes Médicas (LIM) de la Pontificia Universidad Católica del Perú (PUCP) se construyó un maniquí de simulación de tejido a base de gelatina y se realizaron experimentos de sonoelastografía cuantitativa con tres métodos de excitación, como se puede apreciar en la Figura 1. La excitación paralela (PES) consistió en acoplar barras a los lados laterales del maniquí, mientras placas superficiales (SP) y acoples con cabeza redonda se utilizaron para la excitación normal. El maniquí consistió en un paralelepípedo de 3,5 m/s SWS (36,75 kPa) y una lesión de 5,1 m/s SWS (78,03 kPa) y 15 mm de diámetro a 18 mm de profundidad. Los experimentos se realizaron utilizando un rango de frecuencias desde 200 Hz a 360 Hz en pasos de 20 Hz ajustando la frecuencia

de repetición de pulso (PRF).

Asimismo, se realizó la adquisición de datos ultrasónicos para una glándula mamaria sana. Para este primer estudio, se contó con una paciente voluntaria a la cual se le explicó el objetivo y procedimiento del estudio realizado. Las tomas fueron realizadas por un transductor lineal (Ultrasonix, Richmond, Canadá) L14-5/38 de 128 elementos, 7.5 MHz de frecuencia central y 80% de ancho de banda, conectado a un equipo de investigación SonixTOUCH Research (Ultrasonix, Richmond, Canadá). Asimismo, se contó con un módulo de vibroelastografía (Clarison Medical, British Columbia, Canadá) para la generación de excitación del tejido y generación de los patrones de interferencia. El hardware consistió en dos actuadores, ubicados a los extremos de un soporte metálico, los cuales eran controlados en amplitud por el vibroelastógrafo y configurados por software para generar frecuencias en orden de los Hz con un grado de precisión de 0,01 Hz. El diseño del acople con el transductor ultrasónico se pudo observar en la **Figura 3**. El peso del acople es de aproximadamente 165 gr lo cual representa una gran ventaja al no generar incomodidad en el radiólogo para realizar las adquisiciones de forma transversal y longitudinal.

Dado los requerimientos en la generación de las



Figura 3. Acople mecánico de los *voice coil* en el transductor del ecógrafo

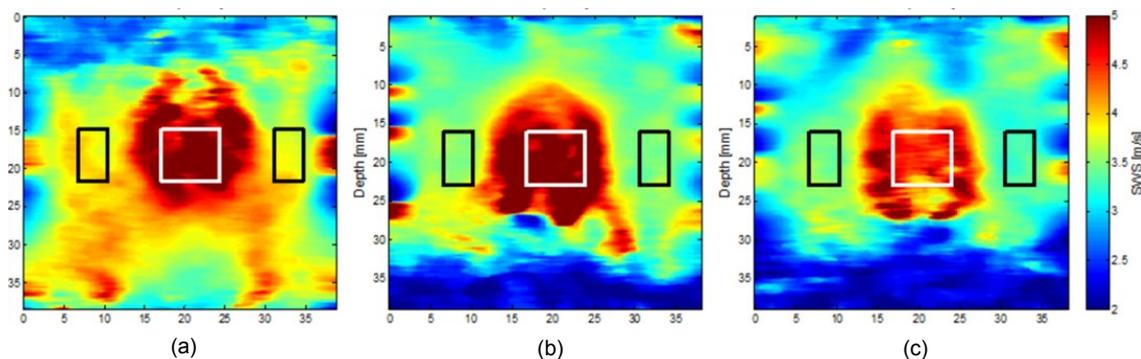


Figura 4. Imágenes elastográficas en maniqués a base de gelatina usando excitadores paralelos. (a) Placas de acople normal, (b) cabezas redondas de acople normal, (c) Unidades laterales y axiales expresadas en mm.

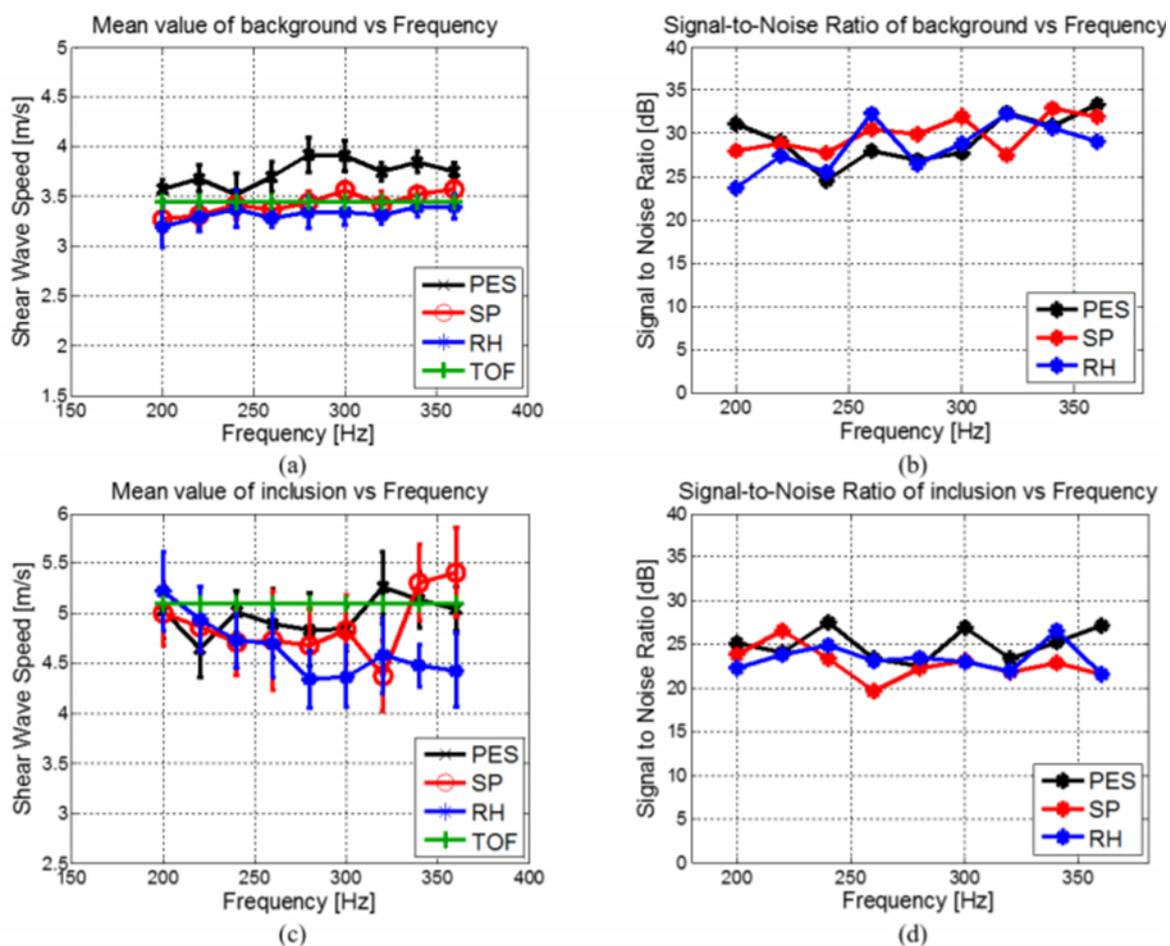


Figura 5. (a) SWS estimation of region of interest from the background, (b) SNR estimation of region of interest from the background. (c) SWS estimation of region of interest from the inclusión, (d) SNR estimation of region of interest from the inclusion.

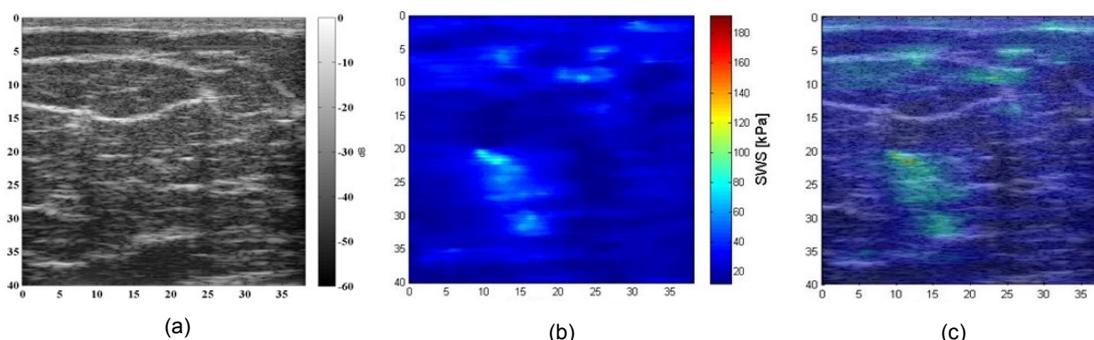


Figura 4. (a) Ecografía de mama adquirida de forma longitudinal. (b) Mapa de elasticidad en velocidad de onda de corte de la región analizada. (c) Mapa de elasticidad de la región analizada sobre puesta en la imagen en modo B. Unidades lateral y axial en mm.

crawling waves, se configuró el equipo para que trabaje con una frecuencia 120 Hz en un *voice coil* y el otro trabajó con 120.4 Hz. Dicha diferencia leve de frecuencias entre los actuadores permitió el desplazamiento del patrón de interferencia en el tiempo para su correcto análisis. Finalmente, para los parámetros de adquisición en el equipo SonixTouch, la modalidad de adquisición fue Color Doppler con 555 Hz de PRF, tamaño de paquete de 14 y una profundidad de examinación de 40 mm. Las tomas se realizaron colocando el dispositivo de forma longitudinal encima del seno.

RESULTADOS

La **Figura 4** muestra la elasticidad expresada en velocidad de onda de corte para las tres configuraciones mecánicas de uno de los 30 experimentos en el maniquí. La estimación del SWS fue calculada considerando una región de interés de $3,5 \text{ mm} \times 7 \text{ mm}^2$ para el tejido sano (dos rectángulos negros) y $7 \times 7 \text{ mm}^2$ para la lesión (cuadrado blanco). Se puede apreciar una región subestimada en la parte inferior de la imagen para la el SP y el RH. Las mediciones de velocidad de onda de corte y relación señal a ruido (SNR) a diferentes frecuencias están presentadas en la **figura 5**. Como se puede apreciar, el valor medio en la sección de tejido sano sigue un patrón similar en los diferentes métodos de excitación para las frecuencias probadas.

En la **figura 6a** se muestra la imagen ecográfica del tejido analizado con un rango dinámico de 60 dB. Para este estudio, el foco está centrado en 15 mm. Esta imagen sirve de referencia como entorno homogéneo ya que se puede observar que no existe ningún tumor aparente.

En la **figura 6b**, se muestra la imagen de

sonoelastografía cuantitativa a 120 Hz de frecuencia de excitación. Tal como se puede apreciar en dicha imagen, se observan artefactos a 5 mm y 22 mm de profundidad, con una velocidad de onda de corte (shear wave speed o SWS) de m/s y m/s, respectivamente. El valor promedio del SWS en toda la región es de m/s.

Adicionalmente, se muestra la **figura 6c**, la cual es la imagen de elasticidad superpuesta a la imagen en modo B. Para fines prácticos, el coeficiente de transparencia usado fue de 0,6, donde un valor de 1 mostraría únicamente la imagen de elasticidad, similar a la **figura 6b**. De este resultado, se obtuvo que la media de la imagen elastográfica fue de 2,73 0,5 m/s con un coeficiente de variación de 18,32% de toda la imagen. En la imagen se puede apreciar una ligera sobreestimación a los 20 mm lo cual es el factor por el cual el coeficiente de variación presenta dicho valor.

DISCUSIÓN

Los resultados en el maniquí hecho a base de gelatina con lesión simulada sugieren un desempeño positivo de la técnica. Para los tres métodos de excitación, la inclusión está bien definida con un valor medio similar de SWS entre ellos. Por un lado, PES presenta más variabilidad en los experimentos con diferentes frecuencias en el fondo, aunque leve (Coeficiente de variabilidad: CV de PES: 3,74%, SP: 3,21% y RH: 2,11%). Por otro lado, en cuanto a SP, el valor de SWS estaba más cerca (3,43 m/s) al valor verdadero del fondo (3,45 m/s), presentando una variación similar en comparación con PES. Del mismo modo, si bien los valores RH se encuentran subestimados en el fondo (Bias RH: 3,76%) y en la inclusión (Bias HR: 9,61%), se genera una menor variabilidad que en las otras dos configuraciones en el fondo (CV 2,11%) mas no

en la inclusión (CV 6,25%). Finalmente, su SNR de inclusión tiene menos desviación estándar que en el otros métodos (PSA: 2,84 dB, SP: 2,02 dB, HR: 1,56 dB), pero no es la más baja en la SNR de fondo (PES: 2,84 dB, SP: 2,02 dB, HR: 2,99 dB).

El caso presentado en este estudio muestra como la elastografía cuantitativa puede ser aplicada en la mama de una paciente. Asimismo, es importante recalcar la importancia de la exploración de esta técnica por medio de excitadores externos los cuales son de bajo costo y no requieren de módulos de control complejos para su implementación. Como se puede apreciar en la imagen en modo B, esta ecografía mamaria no muestra lesión alguna en la posición en la que fue tomada. Por tal motivo, sirve como una referencia en un entorno homogéneo el cual permitió generar una imagen elastográfica utilizando el método de sonoelastografía - cuantitativa *crawling waves*. En relación al resultado, se observa que la imagen presenta un valor en promedio de 2,73 0,5 m/s lo cual es coherente con investigaciones que aplican diferentes técnicas elastográficas.⁷

La selección del valor de frecuencia de vibración es dependiente de la elasticidad esperada en la zona de examinación. Por un lado, para el método de sonoelastografía cuantitativa, el patrón de interferencia generado por la superposición de señales de excitación debe ser lo suficientemente detallado a fin de no comprometer la resolución lateral. Es decir, se debe contar con una cantidad significativa de ondas de arrastre, lo cual se obtiene aumentando la frecuencia de vibración, a fin de diferenciar pequeñas lesiones en un tejido sano. Por otro lado, un número excesivo de ondas de arrastre afecta el contraste del patrón de interferencia, perjudicando la precisión en la estimación de velocidad de onda de corte por derivación de fase. En el presente estudio, se observaron ondas de arrastre con 11,37 mm de separación lateral entre ellas (longitud de onda). A pesar de que la resolución del estimador usado en el presente estudio (derivación de fase) no se ve afectada en gran medida por esta separación, otros estimadores menos sensibles a la degradación de contraste en el patrón de interferencia pueden disminuir la resolución lateral de la imagen final. Los siguientes estudios analizaran el desempeño de diferentes estimadores de velocidad de onda de corte bajo adquisiciones por excitación normal en la glándula mamaria.

Tal como se menciona en los resultados, se obtuvo un coeficiente de variación de 18,32% respecto a la media de la región total de examinación. Este resultado se debe principalmente a los pocos artefactos que se han generado en el cálculo de la imagen de elastografía. Sin embargo, cabe resaltar que dichos efectos pueden ser atribuidos parcial o totalmente a movimientos involuntarios de la

paciente o del examinador durante la adquisición. Si bien el módulo de vibroelastografía opera a frecuencias constantes controladas por el software, es necesario ejercer cierta presión sobre el tejido a fin de que la propagación de vibración sea adecuada. Por ello, en futuros trabajos es recomendable realizar repeticiones del examen así como comparar el desempeño de la técnica al utilizar un soporte fijo que ejerza presión controlada sobre la glándula mamaria.

Finalmente, al ser esta una prueba preliminar con una frecuencia de excitación específica (120 Hz), es conveniente analizar cuál sería la respuesta de un tejido sano con un rango de frecuencias entre 60 Hz y 200 Hz, así como la relación entre el nivel de propagación de la señal y la morfología del órgano, variando la sección de examinación entre transversal y longitudinal con mamas de diferente tamaño y forma. Estudios adicionales en controles y pacientes con tumores brindarían un análisis estadístico más amplio, el cual contribuiría en los lineamientos de la técnica para su correcto uso dependiendo las características de la mama. Actualmente, el Laboratorio de Imágenes médicas de la Pontificia Universidad Católica del Perú se encuentra en coordinación con el instituto de ONCOSALUD para evaluar el desempeño esta técnica en adquisiciones ultrasónicas de mama de pacientes voluntarios de control y pacientes con tumores detectados, diferenciando entre benignos y malignos.

En este estudio, se logró generar una imagen elastográfica utilizando el método de sonoelastografía cuantitativa-crawling waves con una frecuencia de 120 Hz y una diferencia de 0,4 Hz entre las fuentes. Esto fue posible con la instalación de un módulo de vibración adaptable de bajo costo a un transductor de ultrasonido, de forma que la sujeción sea ergonómica para el radiólogo. Los estudios preliminares de elastografía en una paciente sana han presentado resultados prometedores debido a que la imagen reconstruida poseía variabilidad tolerable para elasticidades típicas en tejidos homogéneos, validando los valores estimados con los encontrados en la literatura. Sin embargo, es altamente recomendable realizar múltiples exámenes donde se varíen los parámetros de adquisición y excitación de la técnica, así como el análisis su desempeño en pacientes de control y con tumores variando la morfología del órgano. Así, se contará con una amplia base de datos que permitirá obtener conclusiones más completas sobre la validación de la técnica.

BIBLIOGRAFÍA

1. Ramos W, Venegas D, Medina J, Guerrero C, Cruz A. Análisis de la situación del cáncer en el Perú 2013. Lima: MINSA/DGE.

2. Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas. Registro de Cáncer de Lima Metropolitana. Volumen IV Estudio de incidencia y mortalidad 2004- 2005. Ministerio de Salud, 2014.
3. Parker KJ, Dooley MM, Rubens DJ. Imaging the elastic properties of tissue: the 20 year perspective. *Phys Med Biol.* 2011;56:R1-R29.
4. Wu Z, Taylor LS, Rubens DJ, Parker KJ. Sonoelastographic imaging of interference patterns for estimation of the shear velocity of homogeneous biomaterials. *Phys Med Biol.* 2004 Mar 21;49:911-22.
5. Hoyt K, Kneezel T, Castaneda B, Parker KJ. Quantitative sonoelastography for the in vivo assessment of skeletal muscle viscoelasticity. *Phys Med Biol.* 2008;53:4063-80.
6. Partin A, Hah Z, Barry CT, Rubens DJ, Parker KJ. Elasticity estimates from images of crawling waves generated by miniature surface sources. *Ultrasound Med Biol.* 2014;40:685-94.
7. Barr RG, Cosgrove D, Brock M, Cantisani V, Correas JM, Postema AW, et al. WFUMB Guidelines and Recommendations on the Clinical Use of Ultrasound Elastography: Part 5. Prostate. *Ultrasound Med Biol.* 2016. pii: S0301-5629:30151-X.

Agradecimientos:

Los autores agradecen al proyecto 012-2014-FONDECYT, financiado por el gobierno peruano.

Declaración de conflictos de intereses:

Los autores declaran que no existen potenciales conflictos de intereses con esta publicación.



Esta obra está bajo una licencia de Creative Commons Reconocimiento 4.0 Internacional. <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

Reporte de caso: detección de la mutación *BRAF* V600 en cáncer papilar de tiroides y melanoma maligno sincrónicos.

Case report: *BRAF* V600 mutation in synchronous papillary thyroid cancer and malignant melanoma

María del Carmen Castro-Mujica,¹ Claudia Barletta-Carrillo,¹ Roberto Mejía-Farro¹

¹, Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas, Lima-Perú

RESUMEN

La detección de mutaciones somáticas V600 en el gen *BRAF* en cáncer papilar de tiroides es un marcador de agresividad y metástasis ganglionar, mientras que en melanoma maligno permite identificar a pacientes candidatos para tratamiento con vemurafenib. Debido al riesgo incrementado a desarrollar cáncer papilar de tiroides en pacientes con melanoma maligno *BRAF* V600 positivo, y viceversa, es necesario realizar el estudio molecular en pacientes con alguna de estas neoplasias a fin de desarrollar medidas de seguimiento y detección oportuna para anticiparnos al desarrollo del cáncer. Presentamos el caso de una mujer de 43 años, con diagnóstico de melanoma maligno y cáncer papilar de tiroides, sincrónicos, ambos *BRAF* V600 positivos. Este es el primer caso reportado en el país en el que se ha realizado la caracterización molecular de ambos tumores.

Palabras clave: *BRAF* V600, Análisis Molecular, Melanoma Maligno, Cáncer Papilar de Tiroides.

ABSTRACT

Detection of *BRAF* V600 somatic mutations in papillary thyroid cancer is a lymph node metastasis marker, while in malignant melanoma can identify candidates for treatment with vemurafenib. Due the increased risk for develop papillary thyroid cancer in patients with malignant melanoma *BRAF* V600 positive, and viceversa, it is necessary perform the molecular analysis in patients with any of these tumors for surveillance and early cancer detection. We report the case of a 43 year old woman with synchronous malignant melanoma and papillary thyroid cancer, both with *BRAF* V600 mutation. This is the first case report in our country with molecular characterization in both tumors.

Keywords: *BRAF* V600, Molecular Analysis, Malignant Melanoma, Papillary Thyroid Cancer.

Autor para correspondencia:

María del Carmen Castro Mujica
Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas, Lima, Perú.
Av. Angamos Este 2520-Surquillo
Lima 34 – Perú
Teléfono: ++51 2016500
Email: mcastro@inen.sld.pe

Recibido el 6 de Junio de 2016

Aceptado para publicación el 13 de Julio de 2016

INTRODUCCIÓN

El protooncogen *BRAF*, isoforma B de la proteína quinasa Raf, un componente de la vía de señalización RAS/RAF/MAPK, cumple un rol importante en la regulación del crecimiento, división y proliferación celular (1). Las mutaciones en *BRAF* resultan en una ganancia de función de la quinasa, con activación constitutiva de la vía RAF-MEK-ERK en ausencia de factores de crecimiento. La mayoría de las mutaciones en *BRAF* se producen en melanoma maligno (MM) (~66%) y cáncer papilar de tiroides (CPT) (~36%).^{2,3} Según la base de datos COSMIC (*Catalog of Somatic Mutations in Cancer*), el 90% de mutaciones en *BRAF* corresponde a la mutación T1799A, que resulta a nivel proteico en la

sustitución de valina por ácido glutámico en el codón 600 (V600E), observándose también otras mutaciones menos frecuentes en esa misma posición (V600K, V600R y V600D).⁴

El CPT corresponde al 80% de neoplasias de la tiroides, asociándose los casos *BRAF* V600 positivos a un subtipo histológico más agresivo, extensión extratiroidea y metástasis linfática.⁵ El MM es un cáncer de piel muy agresivo, debido a la transformación maligna de los melanocitos. Los casos de MM *BRAF* V600 positivos presentan mayor ulceración y profundidad Breslow, así como infiltración linfocítica incrementada.⁶ La detección de la mutación *BRAF* V600 en MM permite identificar a los pacientes candidatos a recibir tratamiento con

vemurafenib, un inhibidor de BRAF, prolongando la supervivencia con disminución relativa en el riesgo de muerte y de progresión tumoral.⁷

Algunos estudios han demostrado que existe un riesgo incrementado a desarrollar CPT como un segundo primario en pacientes con MM *BRAF* V600 positivos y viceversa.⁸ Ante esta evidencia sería necesario realizar la detección molecular en pacientes con alguna de estas neoplasias a fin de desarrollar medidas de seguimiento y detección oportuna, y así anticiparnos al desarrollo del cáncer.

Presentamos el caso de una mujer de 43 años de edad, con diagnóstico de MM de pierna izquierda y CPT con metástasis ganglionar, sincrónicas, ambos *BRAF* V600 positivos. Este es el primer caso de CPT y MM sincrónicas reportado en el país en el que se ha realizado la caracterización molecular de ambos tumores.

REPORTE DE CASO

Mujer de 43 años de edad, con MM en la pierna izquierda y nódulos hipocogénicos y microcalcificaciones en ambos lóbulos tiroideos. La paciente fue sometida a una resección local amplia de la lesión en la pierna izquierda, con diagnóstico de MM invasivo, tipo epiteloide, Breslow 1,4 mm, Clark IV, sin invasión linfática ni vascular, ausencia de nódulos satélites, márgenes libres y ganglio centinela negativo. Posteriormente fue sometida a tiroidectomía total con resultado anatomopatológico de CPT clásico, variante folicular, multifocal, con invasión capsular, sin extensión extra tiroidea y metástasis ganglionar. La paciente fue referida al consultorio de genética, donde se le solicitó el estudio molecular *BRAF* V600 por PCR en tiempo real, detectándose la mutación en ambos tumores. Posteriormente se realizó el análisis en sangre periférica para descartar una mutación germinal, el cual resultó negativo.

DISCUSIÓN

La capacidad proliferativa de los melanocitos depende de factores liberados por los queratinocitos, siendo la radiación ultravioleta (RUV) responsable de estimular la secreción de estos factores. Frente a la RUV, la activación de p53 a nivel de queratinocitos induce la transcripción de proopiomelanocortina (POMC), un precursor de la hormona estimulante de α -melanocitos (α -MSH). La unión de α -MSH a su receptor melanocortina 1 (MC1R) activa la vía de señalización de AMPc/PKA/CREB y estimula la transcripción del factor MITF, el cual regula la expresión de genes relacionados con la biogénesis del melanosoma, síntesis de melanina y tráfico de melanosomas.⁹ Se ha propuesto que BRAF podría ser activado directamente por AMPc, un segundo mensajero regulado por la unión de α -MSH a MC1R.¹⁰ Por otra parte, AMPc cumple un rol

importante a nivel de los tirocitos, ya que es activado por la hormona estimulante de tiroides (TSH), desencadenando proliferación celular.¹¹ De acuerdo con Xu et al. es probable que la mutación de BRAF a nivel de melanocitos y tirocitos esté relacionada al AMPc, ya que el crecimiento de ambos tipos celulares es regulado positivamente por este segundo mensajero activando la vía de MEK1 y otras quinasas reguladas por señales extracelulares a través de mecanismos que convergerían sobre BRAF.¹²

Algunos estudios han reportado mayores niveles de expresión de TSH en nevi displásicos que en nevi benignos y también que, nevi displásicos de pacientes con MM presentan mayores niveles de expresión de TSH que nevi de individuos sanos, proponiéndose que TSH cumpliría un rol importante en la transformación maligna del melanocito a melanoma.¹³ El receptor de TSH (TSHR) acoplado a proteína G induce la formación de AMPc. A nivel de los tirocitos, son tres las vías de señalización activadas por AMPc: la vía de la proteína quinasa A (PKA), la vía de la proteína quinasa activada por mitógeno (MAPK) y la vía del fosfatidil-inositol-3 quinasa (PI3K), las mismas que cumplen un rol crítico en el desarrollo del MM. La presencia de TSHR sobre la superficie de células de MM, apoya la hipótesis de que TSH pueda ejercer un rol como factor de crecimiento del MM.¹³

Se ha sugerido que las células de MM podrían inducir hipotiroidismo que conducen a altos niveles de TSH. Bajo este escenario, se ha propuesto un rol clave para la hormona liberadora de tirotrópina (TRH) en respuesta a bajos niveles de hormonas tiroideas el cual tiene afinidad por el receptor MC1R en los melanocitos. De acuerdo con Ellerhorst et al., si las células del MM tienen la habilidad de producir TRH, esta hormona podría funcionar como un factor de crecimiento autocrino por la unión a MC1R sobre las células de MM.¹⁴

La convergencia sobre BRAF de varias vías de señalización a nivel de melanocitos y tirocitos hace plausible que estos dos tipos celulares presenten una vulnerabilidad única a la mutagénesis de BRAF, como lo sugieren hallazgos encontrados por diversos estudios que reportan que la tasa de mutación de BRAF en CPT es la segunda más alta (36%) después de la reportada para MM (66%).^{2,3}

El gran porcentaje de casos de CPT y de MM con mutaciones *BRAF* V600E, asociadas a características clínico-patológicas agresivas, podría ser un nexo genético en el desarrollo de ambas neoplasias. Un estudio realizado en Utah analizó la asociación del riesgo entre estas dos neoplasias, reportando que pacientes con MM tenían 2.3 veces más riesgo a desarrollar CPT y que pacientes con CPT poseían un 1.8 veces más riesgo a desarrollar MM.⁸ En ese mismo estudio, de nueve pacientes

con CPT y MM, tres presentaron mutación BRAF V600 en ambos tumores. Goggins et al. observó que pacientes con MM tenían 2.2 veces más riesgo a desarrollar CPT y un riesgo leve, pero no significativo, de desarrollar MM en pacientes que presentaron previamente CPT.¹⁵

Este es el primer reporte de CPT y MM sincrónicos en el país, en el que se ha realizado la caracterización molecular de ambos tumores. Sería recomendable que pacientes con CPT BRAF V600 positivo tengan una vigilancia y examen físico a fin de identificar lesiones cutáneas, así mismo que pacientes con MM con esta mutación tengan controles periódicos de la función tiroidea y ecografía de tiroides. Finalmente, consideramos que es necesario realizar estudios de familias para determinar si existe una predisposición genética a desarrollar CPT y MM en un mismo paciente.

BIBLIOGRAFÍA

1. Peyssonaux C, Eychène A. The Raf/MEK/ERK pathway: new concepts of activation. *Biol Cell Auspices Eur Cell Biol Organ.* septiembre de 2001;93:53-62.
2. Davies H, Bignell GR, Cox C, Stephens P, Edkins S, Clegg S, et al. Mutations of the BRAF gene in human cancer. *Nature.* 2002;417:949-54.
3. Chakraborty A, Narkar A, Mukhopadhyaya R, Kane S, D'Cruz A, Rajan MGR. BRAF V600E mutation in papillary thyroid carcinoma: significant association with node metastases and extra thyroidal invasion. *Endocr Pathol.* junio de 2012;23:83-93.
4. COSMIC: Cancer Gene census [Internet]. [citado 9 de abril de 2016]. Recuperado a partir de: <http://cancer.sanger.ac.uk/census>
5. Xing M, Westra WH, Tufano RP, Cohen Y, Rosenbaum E, Rhoden KJ, et al. BRAF mutation predicts a poorer clinical prognosis for papillary thyroid cancer. *J Clin Endocrinol Metab.* diciembre de 2005;90:6373-9.
6. Ellerhorst JA, Greene VR, Ekmekcioglu S, Warneke CL, Johnson MM, Cooke CP, et al. Clinical correlates of NRAS and BRAF mutations in primary human melanoma. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res.* 2011;17:229-35.
7. Sosman JA, Kim KB, Schuchter L, Gonzalez R, Pavlick AC, Weber JS, et al. Survival in BRAF V600-mutant advanced melanoma treated with vemurafenib. *N Engl J Med.* 2012;366:707-14.
8. Oakley GM, Curtin K, Layfield L, Jarboe E, Buchmann LO, Hunt JP. Increased melanoma risk in individuals with papillary thyroid carcinoma. *JAMA Otolaryngol--Head Neck Surg.* 2014;140:423-7.
9. Bertolotto C. Melanoma: from melanocyte to genetic alterations and clinical options. *Scientifica.* 2013;2013:635203.
10. Buscà R, Abbe P, Mantoux F, Aberdam E, Peyssonaux C, Eychène A, et al. Ras mediates the cAMP-dependent activation of extracellular signal-regulated kinases (ERKs) in melanocytes. *EMBO J.* 2000;19:2900-10.
11. Kimura T, Van Keymeulen A, Golstein J, Fusco A, Dumont JE, Roger PP. Regulation of thyroid cell proliferation by TSH and other factors: a critical evaluation of in vitro models. *Endocr Rev.* 2001;22:631-56.
12. Xu X, Quiros RM, Gattuso P, Ain KB, Prinz RA. High prevalence of BRAF gene mutation in papillary thyroid carcinomas and thyroid tumor cell lines. *Cancer Res.* 2003;63:4561-7.
13. Ellerhorst JA, Sendi-Naderi A, Johnson MK, Cooke CP, Dang SM, Diwan AH. Human melanoma cells express functional receptors for thyroid-stimulating hormone. *Endocr Relat Cancer.* 2006;13:1269-77.
14. Ellerhorst JA, Naderi AA, Johnson MK, Pelletier P, Prieto VG, Diwan AH, et al. Expression of thyrotropin-releasing hormone by human melanoma and nevi. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res.* 2004;10:5531-6.
15. Goggins W, Daniels GH, Tsao H. Elevation of thyroid cancer risk among cutaneous melanoma survivors. *Int J Cancer.* 2006;118:185-8.

Declaración de conflictos de intereses: Los autores declaran que no existen potenciales conflictos de intereses con esta investigación.



Esta obra está bajo una licencia de Creative Commons Reconocimiento 4.0 Internacional. <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

Imágenes de atenuación ultrasónica en el diagnóstico médico.

Ultrasonic attenuation imaging for medical diagnosis.

Andrés L. Coila,¹ Roberto J. Lavarello.¹

1, Laboratorio de Imágenes Médicas (LIM), Sección Electricidad y Electrónica, Departamento de Ingeniería, Pontificia Universidad Católica del Perú. Lima-Perú

RESUMEN

Las imágenes de ultrasonido son utilizadas en la etapa de diagnóstico para muchos tipos de cáncer. Este tipo de imágenes aún tiene algunas desventajas que evitan su uso en el diagnóstico de cáncer, por la que el análisis microscópico de muestras tomadas en procedimientos de biopsias es el test de referencia para el diagnóstico actualmente. El ultrasonido cuantitativo permite construir imágenes paramétricas de propiedades de los tejidos independientes del equipamiento de ultrasonido utilizado y que podrían complementar a las imágenes modo-B. El parámetro que se presenta en esta revisión es el coeficiente de atenuación. Se explican algunos inconvenientes de las imágenes paramétricas construidas con el coeficiente de atenuación y además se describe cómo el uso de una técnica de regularización puede mejorar el compromiso existente entre el tamaño de los bloques de datos usados para construir las imágenes de atenuación, y el contraste de la imagen de modo que se obtengan imágenes con mejor resolución que puedan ser de utilidad para el diagnóstico de cáncer.

Palabras clave: Atenuación Ultrasónica, Ultrasonido, Diagnóstico, Cáncer.

ABSTRACT

Ultrasound images have been used in the diagnostic stage of many type of cancer. However, ultrasonic images show disadvantages that prevent using these images as the gold standard. Nowadays, the microscopic analysis from samples taken by biopsy procedures remains the gold standard for cancer diagnosis. Quantitative ultrasound allows constructing parametric images of tissue properties that are independent of the particular ultrasound acquisition system used. This kind of parametric images could complement the well-known ultrasound B-mode images. The parameter presented is the ultrasonic attenuation coefficient. Some disadvantages of the ultrasonic attenuation images obtained using nowadays methods are described. In addition, a regularization technique that improves the compromise between size of data blocks to construct the attenuation image and attenuation image contrast are depicted. These regularized attenuation images aim to obtain higher resolution parametric images that could be useful in medical diagnosis.

Keywords: Ultrasonic Attenuation, Ultrasound, Diagnostic, Cancer.

Autor para correspondencia:

Roberto J. Lavarello.

Sección Electricidad y Electrónica, Pontificia Universidad Católica del Perú, Lima, Perú.

Avenida Universitaria 1801, San Miguel.

Lima 12 – Perú

Teléfono: ++51 626-2000

Email: rlavarell@gmail.com

Recibido el 27 de Junio de 2015

Aceptado para publicación el 9 de Agosto de 2016

INTRODUCCIÓN

El ultrasonido está siendo utilizado en el campo médico desde hace décadas. Szabo menciona cinco aplicaciones médicas del ultrasonido: el uso diagnóstico a partir de imágenes, el uso terapéutico para rehabilitación de músculos y articulaciones, la generación de hipertermia para obstaculizar la reproducción de células cancerosas, el uso ondas de choque para destruir cálculos biliares, y el uso de ultrasonido de alta intensidad en cirugía para producir lesiones en zonas muy focalizadas.¹ La presente revisión está enmarcada dentro del uso del ultrasonido como herramienta para diagnóstico médico utilizando imágenes. Para construir las imágenes de tejidos blandos (órganos, ligamentos,

piel, tejidos adiposos, músculos, etc.) típicamente se emplea el principio pulso-eco. En primer lugar, el escáner de ultrasonido genera una señal eléctrica de unos pocos microsegundos de duración que es transmitida a un tejido por el transductor. Un transductor de ultrasonido típicamente está fabricado a partir de un material piezo-eléctrico que puede convertir señales eléctricas en ondas mecánicas (como las ondas acústicas), y viceversa. En segundo lugar, el transductor cambia su estado a recepción o 'escucha' de ondas acústicas que representan las interacciones producidas entre el haz de ultrasonido y las estructuras del tejido. Sucesivas emisiones adyacentes (por ejemplo 64 o 128 transmisiones) permiten obtener señales del tejido en dos dimensiones. Estas señales recibidas son

procesadas compensando por tiempo (es decir aumentando la ganancia de las señales provenientes de estructuras más lejanas para mitigar los efectos de atenuación), y luego se realiza una compresión logarítmica para reducir su rango de valores antes de ser digitalizadas y mostradas en una pantalla. A este tipo de imágenes se les conoce como ecografías o imágenes de ultrasonido modo-B (la B es por brillo o brightness en inglés). Construir una imagen modo-B requiere algunos cientos de microsegundos y dado que la velocidad del sonido en tejidos blandos está alrededor de 1540 m/s significa que se pueden construir varias decenas de imágenes por segundo. En otras palabras, construir imágenes de un tejido en tiempo real. Esta es una de las mayores ventajas del ultrasonido frente a otras modalidades de generación de imágenes médicas. **La Fig. 1** muestra la obtención de imágenes de ultrasonido.

Por otra parte, el cáncer es una patología cuyo estudio es actualmente de gran importancia porque es una de las principales causas de mortalidad.² Desde los inicios del ultrasonido se ha intentado utilizar estas imágenes para determinar si lo que se observa es un tejido canceroso o no. Las imágenes de ultrasonido modo-B poseen poco contraste, haciendo la tarea de diagnóstico muy compleja. Además existe un grado de sesgo al formar las imágenes de ultrasonido pues cada fabricante, en su afán de construir la mejor imagen posible, normalmente introduce cierto grado de procesamiento propietario. Finalmente, el adiestramiento de un radiólogo para ser capaz de reconocer patologías (no solo cáncer) es un proceso que puede ser prolongado. Actualmente, el análisis de muestras obtenidas por biopsia es considerada el test de referencia para el diagnóstico de muchos tipos de cáncer. Para realizar el diagnóstico, se analiza la estructura de muestras de potenciales tejidos cancerosos a nivel microscópico. Estas muestras son obtenidas utilizando diversas

modalidades de biopsias, que es un método invasivo que requiere anestesia o realizar una incisión, según las particularidades del órgano o tejido. Las imágenes de ultrasonido son utilizadas como complemento del análisis microscópico o como primer análisis en muchos tipos de cáncer. Entonces la pregunta es si se podría explotar más los datos que sirven para la construcción de las imágenes de ultrasonido clásicas o modo-B para el diagnóstico médico.

ULTRASONIDO CUANTITATIVO Y ATENUACIÓN

El avance en el campo del ultrasonido permitió obtener de los escáneres de ultrasonido las señales recibidas antes de ser procesados. Con estos datos se han desarrollado técnicas que permiten estimar propiedades del tejido, en otras palabras, realizar caracterización de tejidos que permitan diferenciar tejidos con una patología y tejidos sanos basados no únicamente en observaciones de la imagen modo-B sino complementar dichas imágenes con imágenes paramétricas que son independientes del método de adquisición. Por ejemplo, existen modalidades de elastografía que intentan estimar de forma cuantitativa la elasticidad de un tejido, dado que típicamente los tejidos cancerosos pierden elasticidad en comparación con los tejidos normales.³ De forma similar, otros parámetros cuantitativos como el coeficiente de retro dispersión o el coeficiente de atenuación hacen referencia a cómo las estructuras del tejido interactúan con las ondas de ultrasonido. El parámetro que motiva esta revisión es el coeficiente de atenuación. Se han realizado estimaciones del coeficiente de atenuación en hígado, tiroides, mama, bazo, músculo, piel, cuello uterino, entre otros.⁴⁻¹⁶

El coeficiente de atenuación es un parámetro que cuantifica cuánto decrece la señal acústica por centímetro que se adentra en un tejido. Entonces, si



Figura 1. Formación de imágenes de ultrasonido. El transductor alterna entre transmisión de un pulso y recepción de señales que representan la interacción del haz acústico y las estructuras de los tejidos. En una pantalla se muestra la imagen digitalizada luego de post-procesamiento (compensación por tiempo y compresión logarítmica)

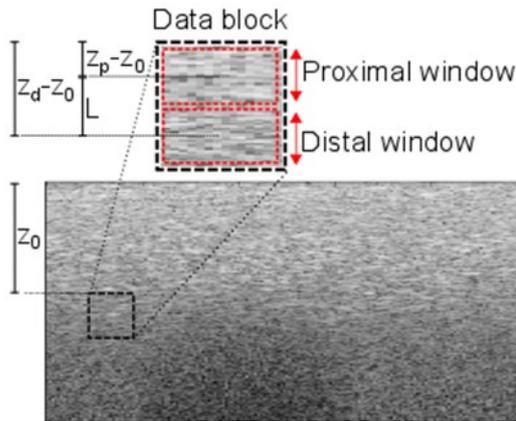


Figura 2. Bloque de análisis. El inicio de bloque está a la profundidad z_0 . En líneas punteadas rojas, se muestran la ventana próxima (centrada a la profundidad z_p) y la ventana distante (centrada a la profundidad z_d). La distancia entre las ventanas es $L = z_d - z_p$.

$P(z)$ es la presión de la onda acústica en función de la distancia z y $\alpha(f)$ es el coeficiente de atenuación, se tiene la siguiente relación entre ellos.

$$P(z) = P(z = 0) \times e^{-\alpha(f)z}$$

La señal recibida correspondiente a una estructura localizada a una mayor profundidad decrece exponencialmente (las unidades del coeficiente de atenuación se suelen expresar en decibelios por cm). Entonces, la atenuación es una de los principales limitantes de la profundidad que se puede obtener en las imágenes de ultrasonido. Más aún, las señales de ultrasonido de mayor frecuencia se atenúan más que las señales de ultrasonido de menor frecuencia para la misma región. Esta relación entre el coeficiente de atenuación y la frecuencia se puede expresar con la relación de potencias:

$$\alpha(f) = \beta \times f^N$$

donde $\alpha(f)$ es el coeficiente de atenuación en [dB/cm], β es la pendiente del coeficiente de atenuación o attenuation coefficient slope (en adelante se le llamará ACS por sus siglas en inglés) en [dB/(cm.MHz^N)] y f es la frecuencia en [MHz].

Típicamente para tejidos blandos se cumple que N es aproximadamente igual a 1 lo que significa que la relación entre $\alpha(f)$ y f es lineal.

DIFERENCIA LOGARÍTMICA ESPECTRAL E IMÁGENES DE ATENUACIÓN

Para estimar el coeficiente de atenuación de un bloque de datos correspondiente a una región de tejido se pueden utilizar técnicas como *Spectral shift*, *Spectral difference*, *Spectral log difference*, o *Hybrid method*.¹⁷ Todas estas técnicas proveen estimaciones de ACS cuya precisión depende del tamaño de los bloques elegidos (tanto axialmente como lateralmente). Además para que la estimación de ACS sea correcta, el bloque debe ser homogéneo. Estudios previos han encontrado que las estimaciones de ACS para las técnicas *Spectral log difference* y *Hybrid method* son más robustas y con resultados similares incluso cuando existen heterogeneidades en concentración de dispersores en los bloques de análisis. La técnica *Spectral log difference* que se describirá en adelante consiste en dividir un bloque de análisis homogéneo en dos sub-bloques o ventanas llamadas ventana próxima y ventana distante como se muestra en la **Fig. 2**. Luego para cada sub-bloque se determina el

	1	2	...	n		1	2	...	n
1	$Y_{1,1}$	$Y_{1,2}$...	$Y_{1,n}$	1	$\beta_{1,1}$	$\beta_{1,2}$...	$\beta_{1,n}$
2	$Y_{2,1}$	$Y_{2,2}$...	$Y_{2,n}$	2	$\beta_{2,1}$	$\beta_{2,2}$...	$\beta_{2,n}$
3	$Y_{3,1}$	$Y_{3,2}$...	$Y_{3,n}$	3	$\beta_{3,1}$	$\beta_{3,2}$...	$\beta_{3,n}$
...
m	$Y_{m,1}$	$Y_{m,2}$...	$Y_{m,n}$	m	$\beta_{m,1}$	$\beta_{m,2}$...	$\beta_{m,n}$

Figura 3. Razones $Y(f)$ y ACS correspondientes a bloques distribuidos axialmente y lateralmente en la región analizada.

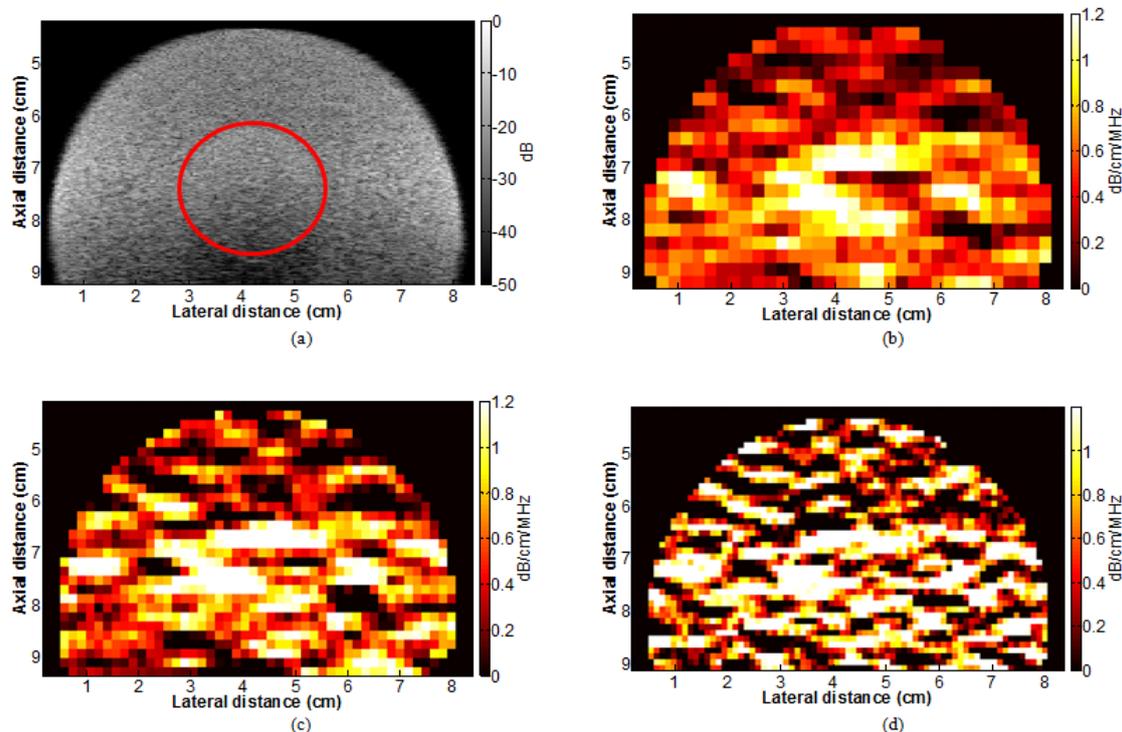


Figura 4. (a) Imagen modo-B de un maniquí que representa un tejido con una inclusión (delimitada en rojo) con distinto coeficiente de atenuación. (b)-(d) Imágenes de atenuación obtenidas utilizando la técnica *Spectral log difference* para tamaños de bloque de $40\lambda \times 40\lambda$, $30\lambda \times 30\lambda$, y $20\lambda \times 20\lambda$ respectivamente.

espectro de potencia.¹⁷ La razón $Y(f)$ entre los espectros de potencia de la ventana próxima y ventana distante, mantiene una relación lineal con la frecuencia de modo que el ACS se puede estimar a partir de la pendiente de la curva $Y(f)$.

Utilizando las razones $Y(f)$ y las estimaciones β de ACS para bloques distribuidos axialmente (a lo largo de la dirección del transductor) y lateralmente (perpendicular a la dirección del transductor) como se muestra en la **Fig. 3**, se puede construir una imagen de atenuación con resolución $m \times n$.

Mientras menor sea el tamaño de bloques (normalmente el tamaño de los bloques se expresa en cantidad longitudes de onda (λ) correspondiente a la frecuencia central del pulso transmitido) la curva $Y(f)$ estará más corrompida por el ruido coherente característico de las adquisiciones con equipos de ultrasonido y por ende las estimaciones de ACS tendrán mayor variabilidad.

La **Fig. 4(a)** muestra una imagen modo-B para un maniquí fabricado a base de agar y grafito. El maniquí fabricado consiste de un fondo cilíndrico de 7,5 cm de diámetro con ACS igual a 0,54 dB/(cm.MHz) y una inclusión cilíndrica (remarcada en rojo) de 2,5 cm de diámetro con ACS igual a 1,04

dB/(cm.MHz). En este experimento la adquisición de datos se realizó con un sistema de posicionamiento 3D y un transductor mono-elemento de 7,5 MHz con número focal $F/4$. El transductor fue trasladado lateralmente desde -43 to $+43$ mm con pasos de 0,5 mm en el eje horizontal dando como resultado 172 señales adyacentes recibidas. Las **Fig. 4(b)-(d)** muestran las imágenes de atenuación utilizando la técnica *Spectral log difference* para bloques de $40\lambda \times 40\lambda$, $30\lambda \times 30\lambda$, y $20\lambda \times 20\lambda$ respectivamente con superposición de 80% para todos los casos. De las imágenes de atenuación se puede observar que utilizando bloques de $40\lambda \times 40\lambda$ a pesar de que no se puede observar la forma cilíndrica de la inclusión, sí se distingue una región con mayor ACS en el centro de la imagen. Cuando se reduce el tamaño del bloque a $30\lambda \times 30\lambda$, o $20\lambda \times 20\lambda$ se observa como la variabilidad de la imagen hace cada vez menos perceptible la inclusión.

REGULARIZACIÓN PARA MEJORA DE IMÁGENES DE ATENUACIÓN

La variabilidad que caracteriza a las imágenes de atenuación se ha intentado reducir anteriormente utilizando *Spatial compounding* el cual consiste en utilizar varias adquisiciones con el mismo transductor pero variando la posición del transductor durante la

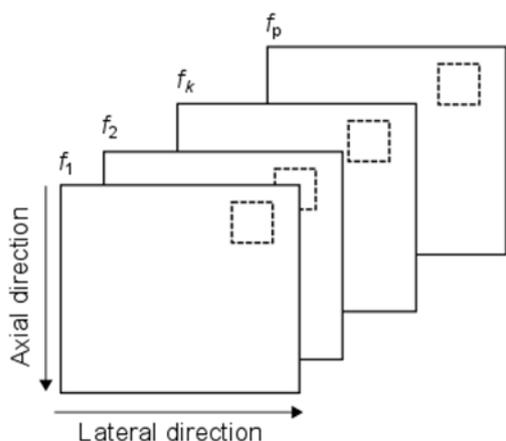
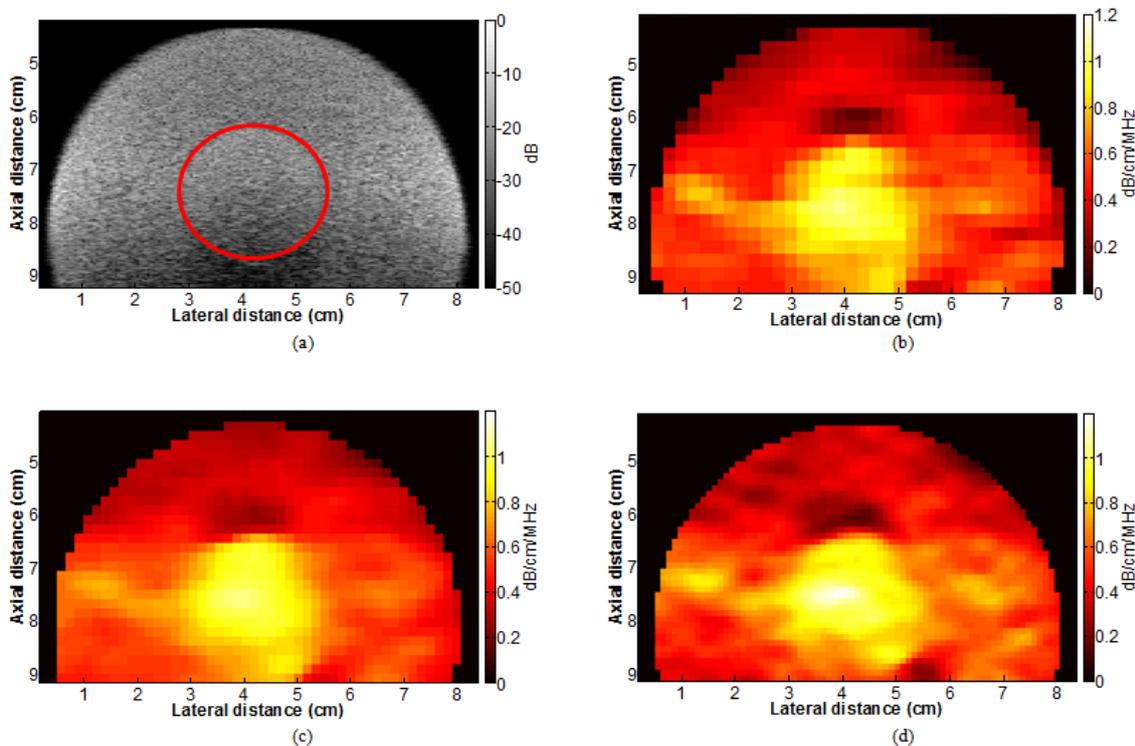


Figura 4. (a) Imagen modo-B de un maniquí que representa un tejido con una inclusión (delimitada en rojo) con distinto coeficiente de atenuación. (b)-(d) Imágenes de atenuación obtenidas utilizando la técnica *Spectral log difference* para tamaños de bloque de $40\lambda \times 40\lambda$, $30\lambda \times 30\lambda$, y $20\lambda \times 20\lambda$ respectivamente.

adquisición. El objetivo del uso de *spatial compounding* es realizar un promediado de las señales de modo que el ruido coherente se reduzca. Sin embargo, en ocasiones por la ubicación del tejido no es posible realizar tomas desde muchos ángulos. Por otra parte para la técnica *Spectral log difference* se ha propuesto previamente un método de regularización.¹⁸ El método de regularización empleado es un algoritmo matemático que utiliza simultáneamente las relaciones lineales que derivan de aplicar el método *Spectral log difference* para calcular los ACS de todos los bloques analizados, y agrega una restricción conocida que se cumple entre dichos ACS. En este caso, para los tejidos se asume

como restricción que el coeficiente de atenuación (y como consecuencia las razones $Y(f)$) no varían drásticamente entre bloques adyacentes. Entonces, se procede a realizar una regularización de los término $Y_{i,j}(f)$ donde $i \in [1,m]$, $j \in [1,n]$, para cada frecuencia f_k donde $k \in [1, p]$.

La reducción de ruido se aplica espacialmente en cada frecuencia del rango útil del transductor como se muestra en la **Fig. 5**. La **Fig. 6(a)** muestra la misma imagen modo-B de la sección anterior. Las **Fig. 6(b)-(d)** muestran las imágenes luego de utilizar regularización de las razones $Y(f)$ en cada frecuencia del rango útil del transductor y la técnica



Spectral log difference para bloques de $40\lambda \times 40\lambda$, $30\lambda \times 30\lambda$, y $20\lambda \times 20\lambda$ respectivamente con superposición de 80% para todos los casos. De las imágenes regularizadas se observa que para los tres tamaños de bloques de datos se obtienen imágenes de atenuación en las cuales la ubicación espacial de la inclusión es observable. También se observa que al utilizar tamaños de bloque menores, se mejora la resolución de la imagen. Otro aspecto importante que brinda la mejora de resolución al usar tamaños de bloque más pequeños, es poder mantener el requisito de homogeneidad en el bloque que requiere la técnica *Spectral log difference*. Actualmente, el Laboratorio de Imágenes médicas de la Pontificia Universidad Católica del Perú se encuentra en coordinación con el instituto de ONCOSALUD para evaluar el desempeño esta técnica en pacientes voluntarios de control y pacientes con tumores detectados en la adquisiciones ultrasónicas de mama y tiroides, diferenciando entre tumores benignos y malignos.

CONCLUSIONES

El uso del coeficiente de atenuación es una propiedad que permite construir imágenes paramétricas que podrían complementar a las clásicas imágenes de modo-B para realizar el diagnóstico de cáncer. Las pruebas en maniqués experimentales de agar-grafito muestran que el contraste entre inclusión y fondo se puede mejorar utilizando técnicas matemáticas de regularización. De igual manera, las imágenes de atenuación obtenidas luego de aplicar regularización pueden reducir el compromiso existente entre tamaño de bloques utilizados y contraste entre inclusión y fondo. Por último al construir imágenes con menor tamaño de bloques la resolución de la imagen aumenta. Esto es especialmente importante porque en la práctica las estructuras de los tejidos pueden ser muy pequeñas y los tamaños de bloques que se deben elegir deben ser lo más pequeños posibles para que sean homogéneos. Los resultados experimentales en maniqués son alentadores para realizar experimentos en datos *ex vivo* o *in vivo*.

BIBLIOGRAFÍA

- Szabo TL. Diagnostic Ultrasound Imaging: Inside Out. Elsevier, 2004.
- Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, et al. GLOBOCAN 2012. Int J Cancer. 2015;136:E359-86.
- Saavedra A, Guerrero J, Pinto J, González E, Castañeda B. Aspectos físicos de las técnicas elastográficas basadas en ultrasonido. Carcinosis.2014;4:34-44.
- Kuc R. Clinical Application of an Ultrasound Attenuation Coefficient Estimation Technique for Liver Pathology Characterization. IEEE Trans Biomed Eng. 1980;27:312-9.
- Maklad NF, Ophir J, Balsara V. Attenuation of ultrasound in normal liver and diffuse liver disease in vivo. Ultrason Imaging. 1984;6:117-25.
- Fujii Y, Taniguchi N, Itoh K, Shigeta K, Wang Y, Tsao JW, et al. A new method for attenuation coefficient measurement in the liver: comparison with the spectral shift central frequency method. J Ultrasound Med. 2002 ;21:783-8.
- Fujii Y, Taniguchi N, Itoh K, Omoto K. Attenuation coefficient measurement in the thyroid. J Ultrasound Med. 2003;22:1067-73.
- Zenteno O, Ridgway W, Sarwate S, Oelze M, Lavarello R. Ultrasonic attenuation imaging in a rodent thyroid cancer model. Proc. IEEE Ultrasonics Symp.2013; 88-91.
- Rouyer J, Cueva T, Yamamoto T, Portal A, Lavarello R. In vivo estimation of attenuation and backscatter coefficients from human thyroids. IEEE Trans. Ultrason. Ferroelectr. Freq. Control.2016;63:1253-1261.
- D'Astous FT, Foster FS. Frequency dependence of ultrasound attenuation and backscatter in breast tissue. Ultrasound Med. Biol.1986;12:795-808.
- K. Nam, J. A. Zagzebski, and T. J. Hall, "Quantitative assessment of in vivo breast masses using ultrasound attenuation and backscatter," in Ultrason. Imaging, vol. 35, no. 2, pp. 146-161, Apr. 2013.
- Wilson LS, Robinson DE, Griffiths KA, Manoharan A, Doust BD. Evaluation of ultrasonic attenuation in diffuse diseases of spleen and liver. Ultrason Imaging. 1987;9:236-47.
- Ophir J, Maklad NF, Bigelow RH. Ultrasonic attenuation measurements of in vivo human muscle. Ultrason. Imaging.1982;4: 290-295.
- Raju BI, Srinivasan MA. High-frequency ultrasonic attenuation and backscatter coefficients of in vivo normal human dermis and subcutaneous fat. Ultrasound Med Biol. 2001;27:1543-56.
- Piotrkowska-Wroblewska H, Litniewski J, Szymanska E, Nowicki A. Quantitative sonography of basal cell carcinoma. Ultrasound Med Biol. 2015;41:748-59.
- Kiss MZ, Varghese T, Kliewer MA. Ex vivo ultrasound attenuation coefficient for human cervical and uterine tissue from 5 to 10 MHz. Ultrasonics. 2011;51: 467-471.
- Mamou J, Oelze ML. Quantitative Ultrasound in Soft Tissues.2013. Springer.
- Coila A, Rouyer J, Lavarello R. Improving local attenuation estimation using a spatial regularization strategy over frequencies. Proc. IEEE Ultrasonics Symp. 2016.

Agradecimientos: Los autores agradecen al proyecto 012-2014-FONDECYT, financiado por el gobierno peruano.

Declaración de conflictos de intereses: Los autores declaran que no existen potenciales conflictos de intereses con esta publicación.



Esta obra está bajo una licencia de Creative Commons Reconocimiento 4.0 Internacional. <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

X Congreso Peruano de Oncología Médica 2016

14-16 de julio, Lima 2016

01

Melanoma de mucosas en el Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas: experiencia de 11 años

Karina Aliaga¹, Johana Muñiz¹, Nelly Polo¹.

1, Departamento de Medicina Oncológica, Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas. Lima-Perú.

Correspondencia:

Karina Aliaga Llerena

Departamento de Medicina Oncológica, Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas.

Angamos Este 2520, Surquillo, Lima 34 – Perú

Teléfono: ++511 2016500

Email: karinamayraaliagallerena@gmail.com

Introducción: El primer caso de Melanoma de mucosas (MM) en la Literatura Americana fue reportado por Lincoln *et al.* en el año 1885. Los melanomas primarios de la mucosa surgen de melanocitos localizados en las membranas mucosas que recubren las vías respiratorias, gastrointestinal y el tracto urogenital, por ser lugares no expuestos no se asocia a exposición solar, asimismo se encuentran en sitios ocultos y muy vascularizados diagnosticándose en etapas más avanzadas, lo que explicaría una tasa de mortalidad más alta comparado al melanoma cutáneo. Por lo tanto, Identificar las características epidemiológicas, clínicas e histopatológicas del MM y describir la sobrevida global (SG) de esta entidad, es el primer paso para poder diagnosticar tempranamente y de esta forma tratar a los pacientes de una forma más oportuna. **Métodos:** Se seleccionaron 199 pacientes de un total de 322. La SG se estimó con el método de Kaplan-Meier. En el análisis estadístico, se utilizó el software SPSS 19 y un valor $p < 0,05$ fue considerado como estadísticamente significativo. **Resultados:** El MM correspondió al 0,2% (199/98361) del total de pacientes con cáncer. Del total de melanomas, el tipo mucoso representó el 11%. El sexo femenino (N=117), representó el 58,8% de los pacientes. La mediana de edad fue 63 años (rango 17 - 96 años). La localizaciones más frecuentes fueron cabeza y cuello (N=99;49,7%) y ano-recto (N = 66; 33,2%). La

mediana del tiempo de sobrevida fue de 14 meses. La SG a los 12, 36 y 60 meses se estimó en 53,7%, 25,0% y 15,8%, respectivamente. **Conclusión:** El MM, en la era de la inmunoterapia, es considerado aún una de las neoplasias con mal pronóstico y poco estudiadas. Es vital incorporar a estos pacientes en ensayos clínicos para poder obtener información dada la escasa data que se tiene al momento.

02

Cáncer neonatal en el Perú: 18 años de experiencia en el Hospital Nacional Edgardo Rebagliati Martins

Gloria Paredes,¹ Esmeralda León,¹ Otilia Calderón,¹ Shudey Tarazona,¹ Mónica Oscanoa,¹ Fernando Huerta,² Luis Pachas,² Luis Ormeño⁴ y German Posadas.⁴

1, Unidad de Oncología Pediátrica y del Adolescente, Hospital Nacional Edgardo Rebagliati Martins. Lima-Perú.

2, Departamento de cirugía de cabeza y cuello del Hospital nacional Edgardo Rebagliati Martins. Lima-Perú.

3, Departamento de Patología Clínica, Hospital Nacional Edgardo Rebagliati Martins. Lima-Perú.

4, Departamento de Cirugía Pediátrica, Hospital Nacional Edgardo Rebagliati Martins. Lima-Perú.

Correspondencia:

Gloria Paredes

Departamento de Oncología y Radioterapia, División de

Oncología Pediátrica y del Adolescente,

Hospital Nacional Edgardo Rebagliati Martins.

Av Rebagliati 490 Jesús María. Lima 11 – Perú

Teléfono: ++511 2654901

Email: gloriaparedes2000@yahoo.com

Introducción: El cáncer neonatal es detectado intra-útero y su diagnóstico demanda un manejo multidisciplinario, que a pesar de la inmadurez de sus órganos y gracias al aporte de la lactancia materna, los pacientes toleran un tratamiento oncológico. El objetivo de este trabajo fue describir la epidemiología del cáncer neonatal, su detección y manejo multidisciplinario, el aporte de la lactancia materna durante su tratamiento y sobrevida global. **Métodos:** Estudio epidemiológico descriptivo-retrospectivo longitudinal tipo serie

de casos y análisis de sobrevida, periodo enero 1999 a marzo 2016, edad 0-28 días de vida en 2305 casos de cáncer infantil. **Resultados:** De los 33 pacientes, 36,36% (12 casos) fueron diagnosticados al nacer, de los cuales 4 (12,12%) por ecografía fetal (un caso tumor germinal mixto subtipo saco vitelino + teratoma inmaduro y 3 casos de localización abdominal: neuroblastoma, hepatoblastoma y tumor de Wilms); el 63,63% restante (21 casos) fueron diagnosticados durante el primer mes de vida. Relación varón/mujer 2,6/1, masculino 72,72% y femenino 27,27%. Tumores sólidos 93,93% y solo dos casos tumores líquidos (leucemia linfática y leucemia mielode aguda primaria de teste izquierdo). Todos los casos debutaron con deshidrogenasa láctica mayor de 480 ng/dl, evidenciando elevación de alfa feto proteína (AFP) mayor de 10 ng/dl en hepatoblastoma, sarcoma embrionario y tumor germinal mixto y elevación de ferritina sérica y ácido vanil-mandélico en los casos de neuroblastoma. Histología: tumor germinal (24,24%), seguido de neuroblastoma (18,18%), hepatoblastoma (18,18%), retinoblastoma (15,15%), sarcoma (9,09%) y otros (15,15%: astrocitoma, tumor de wilms y leucemias). Localización más frecuente abdomen (30,3%), gonadal (24,24%) y ocular (15,15%). Metástasis en 27,2%: dos casos en pulmón, ganglionar y sistema nervioso, un caso en hígado y un caso en tejido subcutáneo. Un caso de retinoblastoma presentó mutación genética Rb1(+), un caso de neuroblastoma cervical con amplificación del gen *N-MYC* negativo debutó con síndrome de Horner por compresión de la cadena simpática y un caso de polihidramnios gestacional se asoció a tumor de wilms. Al 51,51% (17 casos) se les realizó biopsia al debut y al 36,36% (12 casos) cirugía radical al debut (un caso de neuroblastoma retro-orbitario, un caso de retinoblastoma, dos casos de tumor cerebral y 8 casos de tumor germinal). El 72,2% de casos recibió cirugía y quimioterapia al 50% de la dosis y a medida que incrementaban de peso se les incrementaba la dosis, hasta recibir dosis completa al obtener 10 kg de peso y de ellos el 91,6% obtuvo remisión; el 15,15% de casos recibió solo quimioterapia, 9%, solo cirugía, y 3% (1 caso: tumor cerebral) no recibió tratamiento por enfermedad diseminada. El 93,9% de casos recibió

lactancia materna la cual actuó como barrera inmunológica, falleciendo solo el 12,9% de estos por neutropenia febril y sepsis. En remisión 69,69% (23 casos) y 10 casos fallecidos (30,3%) por sepsis 60%, por recaída 10%, por abandono 10%, por insuficiencia renal 10% y por progresión de enfermedad 10%. Sobrevida global 64,06 +- 2,6 meses. **Conclusión:** La ecografía fetal contribuye a un diagnóstico precoz del cáncer infantil y un tratamiento oportuno. Debemos realizar *screening* ocular neonatal a través de la búsqueda del reflejo rojo pupilar. Los neonatos presentan una variedad de patologías oncológicas predominando los tumores sólidos; siendo el abdomen, la localización más frecuente. Los neonatos alimentados con leche materna toleran mejor la neutropenia febril post-quimioterapia, incrementando su sobrevida. Este es el primer trabajo a nivel nacional y latinoamericano donde se describe las diferentes patologías oncológicas del recién nacido y su alto nivel de sobrevida a pesar de la inmadurez de sus órganos y la contribución de la lactancia materna como barrera protectora inmunológica.

03

Cáncer renal ECIII :¿Son todos Wilms? se debería biopsiar al debut para optimizar el tratamiento e incrementar la sobrevida.

Gloria Paredes¹, Otilia Calderon¹, Shudey Tarazona¹, Esmeralda Leon¹, Luis Barreto,² Luis Ormeño³, Luis Pachas.³

1, Departamento de Oncología y Radioterapia División de Oncología Pediátrica y del Adolescente, Hospital Nacional Edgardo Rebagliati Martins. Lima-Perú.

2, Departamento de Cirugía Pediátrica, Hospital Nacional Edgardo Rebagliati Martins. Lima-Perú.

3, Departamento de Patología, Hospital Nacional Edgardo Rebagliati Martins. Lima-Perú.

Correspondencia:

Gloria Paredes
Departamento de Oncología y Radioterapia, División de Oncología Pediátrica y del Adolescente,
Hospital Nacional Edgardo Rebagliati Martins.
Av Rebagliati 490 Jesús María. Lima 11 – Perú
Teléfono: ++511 2654901

Introducción: Un diagnóstico etiológico anatómo-patológico preciso de todo tumor renal conlleva a un tratamiento específico y oportuno, incrementando su sobrevida. El objetivo de este estudio fue determinar la importancia de la biopsia en pacientes con tumor renal estadio clínico (EC) III. **Métodos:**

Estudio epidemiológico descriptivo retrospectivo longitudinal tipo serie de casos, periodo enero 2000 a diciembre del 2015, edad 0 a 14 años en 51 casos de tumor renal de una población de 2033 casos de cáncer infantil Hospital Rebagliati Lima Perú. Resultados: De los 51 pacientes con tumor renal ECIII, 40 (78,43%) fueron Wilms y 11 (21,57%) no Wilms. Relación mujer/varón 1,12 El grupo etareo más frecuente fue pre-escolares 70%. De los 11 pacientes no Wilms :4 sarcomas (36,36%), quiste renal 3 (27,27 %), Neuroblastoma 2 (18,18%) . PNET 1 (9 %) y Linfoma non Hodgkin 1. De los 51 casos con tumor renal ECIII, se realizó biopsia al debut a 33 pacientes, reportándose: Wilms 26 casos (78,78%) y 7(21,22%) no Wilms. De los 26 casos de tumor de Wilms confirmados por biopsia al debut, el 61,5% fueron de estirpe blastemal de los cuales 6 casos presentaron anaplasia difusa; 30,76% no blastemales (epitelial y/o estromal) y 7,69% nefrona mesoblástico. Ningún paciente biopsiado presentó diseminación de la enfermedad siendo el abordaje anterior y no posterior para evitar riesgo de infecciones. De acuerdo a su histología recibieron los Wilms blastemales quimioneoadyuvante de alto riesgo con 3 drogas: actinomicina D, vincristina y doxorubicina por 6 cursos; los Wilms de estirpe no blastemal recibieron quimioterapia neoadyuvante de riesgo estándar con dos drogas: actinomicina D y vincristina por 4 cursos y los dos casos de nefrona mesoblástico sólo cirugía. Los 24 casos de tumor de Wilms postquimioneoadyuvante fueron nefrectomizados y 23 casos recibieron quimioadyuvante de alto riesgo con etoposido + carboplatino alternado con ciclofosfamida + doxorubicina y radioterapia de consolidación por su histología blastemal o necrosis <60% y un caso de histología epitelial y necrosis >60% recibió sólo quimioadyuvante de riesgo estándar: vincristina+ actinomicina D + doxorubicina. De este grupo el 84,6% se encuentra en remisión. Los 18 pacientes no biopsiados recibieron quimioneoadyuvante riesgo estándar y solo pudieron ser nefrectomizados el 50% y al subgrupo inoperable se le administró 3 cursos más de quimioterapia de alto riesgo reduciéndose la masa tumoral pudiendo ser nefrectomizados. Post-nefrectomía se reportó 4 casos no Wilms (2 quistes renales, un neuroblastoma y un

Linfoma non Hodgkin) cambiándose inmediatamente a su protocolo de tratamiento específico y los 14 restantes fueron confirmados tumor de W, de los cuales el 85,7% (12 casos) fueron blastemales (alto riesgo) y dos de bajo riesgo: uno estromal y uno mixto (epitelial + estromal) De estos 14 casos de tumor de Wilms no biopsiados al debut el 100% se encuentra en remisión postquimioterapia + radioterapia el subgrupo de alto riesgo y postquimioterapia los de riesgo estándar. Fallecidos 4 casos de tumor de Wilms (10%), uno por hemorragia transoperatoria por lesión de la vena cava y tres blastemales con anaplasia difusa por recaída ; de los 11 pacientes no Wilms 5 fallecieron (45,45%) . uno por neutropenia febril y sepsis y 4 por recaída. Cáncer renal EC III en remisión 81.63%. Sobrevida global 84,07 +- 2,3 en 10 años. . Conclusión: La biopsia en tumor renal EC III contribuye a un diagnóstico certero y un tratamiento específico, evitando errores en la etiología y un tratamiento inadecuado o insuficiente, en tumor de Wilms histología blastemal u otra patología renal.

04

Estudio epidemiológico descriptivo de neuroblastoma en el Hospital Nacional Edgardo Rebagliati Martins durante el periodo 1999-2015, Lima-Perú.

Gloria Paredes¹, Shudey Tarazona¹, Otilia Calderon¹, Esmeralda Leon¹, Mónica Oscanoa,¹ Luis Ormeño², Luis Pachas².

1, Departamento de Oncología y Radioterapia División de Oncología Pediátrica y del Adolescente, Hospital Nacional Edgardo Rebagliati Martins. Lima-Perú.

2, Departamento de Patología, Hospital Nacional Edgardo Rebagliati Martins. Lima-Perú.

Correspondencia:

Gloria Paredes
Departamento de Oncología y Radioterapia, División de Oncología Pediátrica y del Adolescente,
Hospital Nacional Edgardo Rebagliati Martins.
Av Rebagliati 490 Jesús María. Lima 11 – Perú
Teléfono: ++511 2654901

Introducción: El Neuroblastoma es el tumor sólido extracraneal más frecuente en pediatría, se origina en las células de la cresta neural; por lo cual su presentación, localización, sintomatología y evolución es variable por lo cual puede confundirse con una variedad de patologías. En los últimos 10 años la

estratificación por grupos de riesgo ha permitido un diagnóstico temprano y nuevas pautas para una mejoría importante en su tratamiento. Nuestro objetivo fue determinar su epidemiología, evolución y manejo multidisciplinario. **Métodos:** Estudio epidemiológico, observacional, descriptivo, retrospectivo de 42 casos de Neuroblastoma, entre 0 y 18 años de edad, periodo enero 1999 a Diciembre 2015. Realizándose la revisión de las historias clínicas y el posterior análisis estadístico de las variables. **Resultados:** Se incluyeron en el estudio 42 casos de Neuroblastoma, durante un periodo de 16 años, siendo la relación mujer /varón: 1,08, masculino 48% y femenino 52%. La edad de presentación más frecuente fue de 6 años: neonatos 12%, lactantes 9%, pre-escolares 19% y escolares 60%. El cuadro clínico caracterizado por tumor 100% de casos, dolor 80%, disminución de peso 24%, fiebre 19%, 7,14% casos presentaron proptosis y un caso nódulos subcutáneos *blueberry*. Dos casos presentaron síndromes paraneoplásicos: diarrea y síndrome de Horner por compresión del sistema parasimpático. La deshidrogenasa láctica elevada >1000 en 92% de casos, ferritina en el 83% de casos y el ácido vanil mandélico en el 72%, disminuyendo a rango normal al final del tratamiento en un 70%. Localización: abdominal: 50% (18 casos suprarrenal), paravertebral y columna 11,9%, mediastinal 11,9%, cervical 9,52%, retro-orbitario 9,52% y cerebro 7,14%. Metástasis al debut 42,85% (médula ósea 5, SNC 5, hueso 4, hígado 3 y uno piel caracterizado por nódulos subcutáneos). El estadio clínico al debut con mayor frecuencia fue Estadio III 38% y estadio IVs solo el 14,2%. En un neonato se realizó la amplificación del N-MYC reportándose negativo y aberración 11q en 42% de casos. Inmunohistoquímica (+) a enolasa,

sinaptofisina y cromogranina 100% de casos. Cuatro casos evolucionaron a ganglioneuroma cuyo primario fue columna vertebral. Hasta diciembre 2009 recibieron 80% protocolo SIO-99 (carboplatino +etoposido alternado con ciclofosfamida + adriamicina y vincristina) y desde enero 2010 a diciembre del 2015 protocolo COG (cisplatino + adriamicina + ciclofosfamida + etoposido). Irresecables al debut el 76% y resecables postquimioneo adyuvante el 95,23%. Estadios III y IV recibieron radioterapia. Todos se consolidaron con ácido cis-retinoico. Ninguno caso presentó remisión espontánea. En cuatro casos con compromiso de médula ósea se realizó trasplante autólogo estando en remisión tres casos. Estadio IVs de neonatos y lactantes se encuentran en remisión el 83,3% y los pacientes en estadio IV solo el 38,8% obtuvieron remisión. Sobrevida global 64% a 10 años. **Conclusiones:** Un examen físico e imagenológico completo es fundamental en Neuroblastoma debido a su presentación multivariada. La estratificación por grupos de riesgo del neuroblastoma basado en el análisis de un panel amplio de variables clínicas y biológicas ha permitido un diagnóstico preciso y un tratamiento específico basados en grupos de riesgo. El mejor conocimiento de la biología del neuroblastoma ha permitido distinguir entre aquellos tumores que pueden curarse con un tratamiento mínimo y los que requieren de un tratamiento multidisciplinario y complejo para tener posibilidades de curación. El mejor conocimiento de su biología permite distinguir entre aquellos que se pueden curar con un tratamiento mínimo y los que requieren un tratamiento multidisciplinario y complejo.



Esta obra está bajo una licencia de Creative Commons Reconocimiento 4.0 Internacional. <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

INSTRUCCIONES PARA LOS AUTORES

Carcinos es una revista de investigación científica cuyo objetivo es la divulgación científica de investigaciones originales, temas de revisión, casos clínicos y otros artículos de naturaleza científica orientada a la oncología.

Los editores de la revista *Carcinos* dan la bienvenida a las contribuciones realizadas por los investigadores y que ven en nosotros un medio de difusión de sus investigaciones científicas. Nuestra revista está dirigida principalmente a profesionales de la salud que se desempeñan en las diferentes áreas que la oncología pueda involucrar y, en forma secundaria, pero no menos importante, esta dirigida a cualquier lector interesado en obtener conocimientos sobre los temas tratados en nuestra revista, y en quienes esperamos, el cáncer se torne en un tema de interés.

Buscamos una alta calidad en los artículos publicados, por lo que los manuscritos enviados a la revista *Carcinos* deben ser inéditos y reunir una serie de requisitos tanto de forma como de fondo.

Los manuscritos son recibidos con el entendimiento de que estos no están siendo considerados simultáneamente para la publicación en otra revista o medio de difusión y que el estudio cuenta con la aprobación de las autoridades de la Institución donde se llevó a cabo la investigación. Ni Oncosalud, ni los editores, tendrán responsabilidad legal si hubiera reclamos por compensaciones.

1. RESPONSABILIDAD DE LOS AUTORES

La principal responsabilidad de los autores es asegurar que todos los individuos incluidos como coautores hayan contribuido en la investigación que originó en manuscrito. Los requerimientos para autoría pueden verificarse en la web del ICMJE (http://www.icmje.org/ethical_1author.html). Aquellas personas que hayan contribuido pero que no reúnan los requerimientos para autoría, deben ser incluidas en "agradecimientos".

Cambios en la autoría: Luego de haber enviado el manuscrito a *Carcinos*, todos los cambios que se realicen, incluyendo orden de los autores, adición o retiro de un autor, deben ser aprobados por todos los autores y debe solicitarse al Director de la revista con una carta que consigne la firma de todos los autores (o cartas independientes dando a conocer el hecho).

Material contenido en otras publicaciones: Los autores que deseen incluir figuras tablas o pasajes de textos incluidas en otras publicaciones, debe obtener un permiso de quién posea el derecho de autor, e incluir la evidencia de que el permiso ha sido otorgado. Se asumirá que cualquier material sin tal evidencia es original de los autores.

Consideraciones éticas: Los trabajos realizados deben contar con la aprobación de la Institución donde se llevó a cabo la investigación. Las investigaciones realizadas en humanos deben haber sido aprobadas por un comité de ética; asimismo, los individuos incluidos en el estudio deben haber firmado un consentimiento informado aceptando su participación. Las investigaciones en seres humanos deben haber sido conducidas de acuerdo a los principios expresados en la Declaración de Helsinki (<http://www.wma.net/en/30publications/10policies/b3/index.html>)

En ciertos estudios, en los cuales no es posible obtener el consentimiento informado (ejemplo, trabajos retrospectivos), el autor debe contar con una aprobación del comité de ética que explique que no se requiere del consentimiento informado de los pacientes.

Cuando se reporte investigaciones realizadas en animales de experimentación, se debe indicar las guías institucionales o internacionales que fueron seguidas.

Consideraciones estadísticas: Si el artículo reporta un ensayo clínico randomizado u otros estudios prospectivos comparativos, los autores deben incluir un diagrama CONSORT (<http://www.consort-statement.org/>). Se debe reportar los valores reales de significancia P (por ejemplo, no incluir $P < 0.05$, sino $P = 0.048$). Los autores pueden reportar las diferencias en Odds Ratios o Hazards Ratios y además incluir comparación de las diferencias absolutas de la medición primario (ejemplo, sobrevida a "x" años, o diferencias en la proporción de éxitos de tratamiento).

Manipulación de las imágenes: Las figuras enviadas son responsabilidad de los autores. Los editores de *Carcinos* consideran como falta a la ética, la edición de las imágenes que incluyen cambios en el color, brillo, contraste o cualquier procedimiento usado para alterar la calidad de la imagen.

2. AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN

Una vez que el artículo ha sido aprobado para su publicación, cada autor recibirá una invitación por correo electrónico para firmar una declaración jurada de autoría y autorización de publicación, confirmando que el manuscrito no contiene material cuya publicación violaría los derechos de autor de otras personas o instituciones. Los artículos no serán aceptados hasta que los autores no hayan firmado dicho documento.

3. ACEPTACIÓN DE LOS MANUSCRITOS:

Para que un artículo sea publicado en *Carcinos*

debe ser aprobado por dos revisores.

4. PREPARACIÓN DEL MANUSCRITO

El manuscrito debe ser enviado en formato "DOC" o "DOCX", en formato A4, letra arial 12 y con márgenes de 3 cm. Las tablas deben haber sido creadas en Microsoft Word y enviadas en el formato "DOC" o "DOCX". Las imágenes pueden estar en el formato "JPG", "BMP", "GIF", "PNG" y deben tener la suficiente resolución (>300 dpi) para poder apreciarse sin problemas.

El manuscrito debe tener la siguiente estructura:

4.1. Página del título: Debe incluir los siguientes elementos:

Título: Considerar un título breve e informativo,

evitar el uso de abreviaciones, Incluir en el título palabras clave que identifiquen la naturaleza de la investigación. Adicionalmente se debe incluir el título traducido al idioma inglés.

Autores y afiliación: Los autores deben incluir nombres y apellidos completos. No se deben incluir los grados académicos. Se debe incluir los nombres y lugar de ubicación de la Institución a la cual los autores están afiliados.

Título abreviado: Se debe incluir un título breve (hasta 60 caracteres) que describa perfectamente el trabajo realizado.

Financiamiento del Trabajo: Indicar como fue financiada la investigación. Debe empezar con la siguiente oración: "Este estudio fue financiado por..."

Declaración de conflicto de intereses: Indicar potenciales conflictos de intereses de los autores con la investigación. Existe conflicto de intereses cuando la interpretación o presentación de los resultados puede ser influenciada por relaciones personales o financieras con otras personas u organizaciones.

Agradecimientos: Indicar que personas contribuyeron con la realización del estudio

Palabras Clave (descriptores): Seleccione 4 palabras de los descriptores en ciencias de la salud (DeCS) (http://decs.bvs.br/E/DeCS2010_Alfab.htm). Adicionalmente incluir la traducción al idioma inglés de las palabras clave (key words).

Autor para la correspondencia: Nombre del autor a la que la correspondencia debe ser

dirigida. Se debe Incluir la dirección postal y el correo electrónico.

4.2. Resumen:

El resumen del artículo no debe contar más de 300 palabras y debe estar estructurado de la siguiente manera: Introducción, describe el contexto y objetivos del estudio; Métodos, describe cómo fue realizado el estudio y el tipo de análisis utilizado; Resultados, Incluir los principales hallazgos; Conclusiones, breve resumen de las principales implicaciones del estudio. Adicionalmente se debe incluir el resumen en inglés.

4.3. Introducción:

Debe ser escrito desde el punto de vista de los investigadores, es una exposición breve del estado actual y los antecedentes del tema a desarrollar. Debe incluir además la justificación y los objetivos del estudio.

4.4. Métodos:

Debe describir el diseño del estudio, las características de la población o de las muestras biológicas incluidas. Debe detallar los aspectos éticos involucrados en el desarrollo de la investigación (revisar aspectos éticos). Detallar los procedimientos realizados y, si estos han sido descritos anteriormente, citar las referencias. Describir como se midieron o describieron las variables de interés. Describir las pruebas estadísticas realizadas así como los niveles de significancia.

4.5. Resultados:

Se debe incluir los resultados, en forma clara y sin interpretaciones. Los resultados se pueden complementar con tablas y figuras. Cuando sea apropiado incluir riesgos relativos o absolutos o disminución de riesgo e intervalos de confianza.

4.6. Discusión:

En esta sección se deben interpretar los resultados obtenidos, se debe discutir los hallazgos con los encontrados por otros investigadores. Se deben incluir las limitaciones del estudio. El último párrafo de esta sección corresponde a las conclusiones.

4.7. Referencias:

Listar las referencias utilizadas en el orden en el que aparecen en el manuscrito. Las referencias se redactarán siguiendo las normas del *Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to*

Biomedical Journals. Ver ejemplos en: http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html.

5.- CATEGORÍAS DE LOS MANUSCRITOS:

Editorial:

El editor puede solicitar un editorial para acompañar a un artículo aceptado en el mismo número de la revista. El editorial no debe tener más de 1500 palabras y puede incluir referencias bibliográficas.

Artículos originales:

Los editores revisan todos los artículos originales. Los artículos seleccionados serán evaluados por revisores externos y, cuando sea requerido, por un bioestadístico.

No debe tener más de 3000 palabras (sin tener en cuenta el título, resumen, referencias, los cuales no tienen límite de palabras).

No debe contener más de 6 tablas o figuras. Las tablas o figuras adicionales serán publicadas online próximamente como material suplementario.

En algunos casos excepcionales se pueden incluir más de 6 tablas o figuras.

Debe contener una página de título, resumen, introducción, métodos, resultados, discusión y referencias.

Reporte de casos:

Contiene una página de título, un resumen en español (no mayor a 200 palabras), un resumen en inglés, una introducción, el reporte del caso, la

discusión y las referencias. El reporte del caso no debe exceder de las 1500 palabras.

Artículos de Revisión:

Típicamente, el Director de la revista solicita artículos de revisión; no obstante, los investigadores pueden enviar a la revista una propuesta con un breve resumen del tópico que van revisar. El artículo de revisión no debe exceder las 4000 palabras (sin considerar la página del título, resumen, resumen en inglés y referencias).

Correspondencia:

Expresa una breve opinión a un artículo publicado en la revista. El Director de la revista puede invitar al autor del artículo a una réplica al comentario en algunas ocasiones, las observaciones que no califiquen como artículos originales pueden ser publicados con el formato de correspondencia. La correspondencia no debe exceder las 1200 palabras.

Erratum:

Cuando es necesario corregir un error, el autor en un artículo publicado, el autor principal puede enviar un erratum, el cual será revisado por el comité editorial y de ser aprobado, será publicado en el siguiente número de la revista.

6.- ENVÍO DE LOS MANUSCRITOS:

Los manuscritos deben ser enviados por correo electrónico a carcinomas@oncosalud.com.pe, o en forma impresa en las oficinas de la revista (Guardia Civil 571, San Borja).

Únicos con
250 especialistas
con más de
13 mil vidas
salvadas



ncosalud

Tu lucha, mi lucha.

Ya somos más
de **800,000** Afiliados



Afíliate en línea **oncosalud.pe**
o llámanos **513-7900** (Opción 2)

oncosalud

Tu lucha, mi lucha.

Clínica Oncosalud de Alta Especialización



Hospitalización, Centro Quirúrgico, UCI, Emergencia,
Quimioterapia y Housepital (nuevo servicio de atención médica a domicilio*).

*La atención se inicia con la interconsulta de su médico tratante en Clínica Oncosalud. Servicio que aplica a los pacientes que cumplan los criterios de ingreso a la unidad. (HOUSEPITAL)

Oncosalud

Tu lucha, mi lucha.