



UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA
FACULTAD DE MEDICINA
COMISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO
CURSO DE ESPECIALIZACIÓN EN MEDICINA ONCOLÓGICA
INSTITUTO DE ONCOLOGÍA “Dr. LUIS RAZETTI”

**IMPLICACIONES CLÍNICO-PATOLÓGICAS DE LA EXPRESIÓN DEL
RECEPTOR KIT Y PD-ECGF EN CÁNCER DE CUELLO UTERINO**

Trabajo Especial de Grado que se presenta para optar al título de Especialista en Medicina
Oncológica

Tutor: María Belén Fuentes

Paola Teresa Celedón Arrieta
Yexaira Josefina Laya

Caracas, mayo de 2012

Dra. María Belén Fuentes

TUTOR

Dr. Juan José Rodríguez

DIRECTOR DEL CURSO

Dra. María Belén Fuentes

COORDINADORA DEL CURSO

DEDICATORIA

A Dios, por el regalo de la vida. A nuestros padres, tíos, hermanos, esposo, hija y amigos por el apoyo y la paciencia. A los buenos compañeros del postgrado por su solidaridad. A nuestra tutora, por ser maestra y amiga en su justa medida. Al servicio de ginecología oncológica, en particular al Dr. Jorge Castillo por su alto interés científico en la culminación de este trabajo. A todo el personal del Instituto Oncológico Dr. Luis Razetti; en especial al personal de historias médicas: Sarai, Xiomara, Alexander, Rubén y Sibyl por su ayuda incondicional. A Laboratorios Novartis de Venezuela por el patrocinio para la realización de las pruebas inmunohistoquímicas. A nuestras pacientes, quienes en su lucha por vivir, nos enseñaron que la adversidad se afronta con valor, alegría y esperanza.

INDICE DE CONTENIDO

RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	2
MÉTODOS	12
RESULTADOS	15
DISCUSIÓN	17
REFERENCIAS	20
ANEXOS	24

Implicaciones clínico-patológicas de la expresión del receptor KIT y el PD-ECGF en cáncer de cuello uterino

Paola Teresa Celedón Arrieta, C.I. 13.840742. Sexo: Femenino.
E-mail: paomela@gmail.com. Telf: 0414-6541377. Dirección: Instituto de Oncología Dr. Luis Razetti, Especialización en Medicina Oncológica

Yexaira Josefina Laya, C.I. 13.840742. Sexo: Femenino.
E-mail: yexalay@gmail.com. Telf: 0416-6926014. Dirección: Instituto de Oncología Dr. Luis Razetti, Especialización en Medicina Oncológica

Tutor: María Belén Fuentes, C.I. 13.840742. Sexo: Femenino.
E-mail: mariabelen.fuentes@gmail.com. Telf: 0414-3371357. Dirección: Instituto de Oncología Dr. Luis Razetti, Especialización en Medicina Oncológica

RESUMEN

Objetivo: Establecer la expresión del receptor KIT y el PD-ECGF como factores predictivos de respuesta a tratamiento en cáncer de cuello uterino. Métodos: Se diseñó un estudio prospectivo y observacional. Se realizó detección inmunohistoquímica del receptor KIT y el PD-ECGF en las biopsias de cuello uterino y se evaluó la respuesta clínica y por imágenes al tratamiento concurrente con radioterapia y quimioterapia. Resultados: Se estudiaron cuarenta y cinco pacientes. El 68,3% fueron carcinomas escamosos y el 51,1% eran estadio clínico IIB. El 77,8% de las pacientes (n=32) presentaron respuesta completa al tratamiento. Dos pacientes (4,4%) mostraron positividad para la expresión del receptor KIT. El 93,3% de las muestras fueron positivas para la expresión del PD-ECGF. Al analizar la relación entre las diferentes variables con la expresión de las proteínas estudiadas, no hubo correlación estadística entre las mismas. Conclusiones: El receptor KIT y el PD-ECGF no mostraron utilidad como factores predictivos de respuesta a tratamiento en cáncer cervical.

Palabras clave: KIT, PD-ECGF, cáncer cervical.

Clinical and pathological implications of the expression of KIT receptor and PD-ECGF in cervical cancer:

ABSTRACT

Objective: To establish the expression of KIT receptor and PD-ECGF as predictive factors for treatment response in cervical cancer. Methods: A prospective and observational study was design. KIT receptor and PD-ECGF were detected by immunohistochemistry on the cervical biopsies. Imagenologic and clinical response to concurrent radiotherapy and chemotherapy was evaluated. Results: Forty five patients were studied. 68, 3% were squamous carcinomas and 51, 1% were in clinical stage IIB. 77, 8% (n=32) had complete response to treatment. Two patients (4, 4%) showed positivity to the expression for KIT receptor. 93, 3% of the samples were positive for the expression of PD-ECGF. There were no statistical correlation between the expression of the proteins and the variables studied. Conclusions: KIT receptor and PD-ECGF did not show utility as predictive factors for treatment response in cervical cancer.

Key words: KIT, PD-ECGF, cervical cancer.

INTRODUCCIÓN

Actualmente; el cáncer de cuello uterino constituye un problema de salud pública en el país; ocasionando la muerte de un numeroso grupo de mujeres en edad productiva. Esta patología es propia de países subdesarrollados; es por ello que las investigaciones dirigidas al estudio de la misma deben generarse de manera autóctona. Por tanto, se planteó evaluar la expresión del receptor KIT y un factor promotor de angiogénesis como el factor de crecimiento celular endotelial derivado de plaquetas (PD-ECGF) y su relación con características clínicas y respuesta a tratamiento convencional con quimioterapia y radioterapia; en un grupo de mujeres venezolanas con cáncer de cuello uterino localmente avanzado.

Planteamiento y Delimitación del Problema

El cáncer de cuello uterino es una de las principales causas de mortalidad en mujeres alrededor del mundo; y es el segundo diagnóstico oncológico en mujeres principalmente en África Oriental y América Latina ⁽¹⁾. Según la Organización Panamericana de la Salud; alrededor de setenta mil mujeres fallecieron por cáncer de cuello uterino entre los años de 1996 y 2001; y de esas mujeres más de cincuenta mil tenían edades comprendidas entre los 25 y 64 años. En la última década; se ha observado una disminución en la incidencia de cáncer de cuello uterino en los países desarrollados; sin embargo en Latinoamérica las tasas anuales de cuello uterino se encuentran por encima de los 20 casos por cada cien mil mujeres ⁽²⁾. En Venezuela, representa la primera causa de muerte en mujeres entre los 25 y 44 años, constituyendo un problema de salud pública en nuestro país. El diagnóstico se hace principalmente en mujeres mayores de cincuenta años y aproximadamente la mitad de los casos se presenta antes de los treinta y cinco años ⁽³⁾.

A pesar de todos los avances desde el punto de vista tecnológico y de investigación en biología molecular que se han hecho en otros tipos de cáncer, el tratamiento del cáncer de cuello uterino no ha experimentado mayores cambios desde hace por lo menos 50 años; siendo la radioterapia la piedra angular de la terapia.

En las últimas décadas, se han realizado múltiples estudios con el fin de mejorar los resultados obtenidos en los estadios localmente avanzados; que representan el 70 a 80% de los casos donde la sobrevida no supera el 40% a los 5 años ⁽⁴⁾. Estos estudios han incorporado

el uso de la quimioterapia basada en cisplatino de manera concurrente a la radioterapia, traduciéndose en un discreto incremento de la sobrevida del 12% a los 5 años ⁽⁵⁾. A pesar de ello, las tasas de recaída son muy altas; manteniendo una elevada morbilidad y mortalidad en general.

En general, las investigaciones clínicas más relevantes dirigidas al diagnóstico y tratamiento del cáncer de cuello uterino provienen de países desarrollados; donde la patología no es un problema de salud pública; y se requiere entonces realizar estudios propios dirigidos a la comprensión de la enfermedad y sus mecanismos de origen y diseminación en la población latinoamericana.

Importancia y Justificación

En vista del real problema que constituye el cáncer de cuello uterino; especialmente el estadio localmente avanzado en nuestro país; se hace necesario plantear estudios hechos en nuestra población dirigidos a entender de manera más adecuada la biología de estos tumores y poder identificar nuevos biomarcadores que permitan el desarrollo de terapias dirigidas contra alteraciones moleculares específicas. De esta manera, se podrían obtener beneficios clínicos mayores que permitan cambiar el curso natural de la enfermedad a través del aumento de las tasas de respuesta, la sobrevida libre de recaída y la sobrevida global en este grupo de pacientes. Actualmente, no existen biomarcadores establecidos en cáncer de cuello uterino; es por ello que la realización del presente estudio estaba justificada para establecer si la expresión del receptor KIT y PD-ECGF constituían marcadores predictivos de repuesta a tratamiento convencional en cáncer de cuello uterino localmente avanzado.

Delimitaciones

El estudio se realizó durante nueve meses en la consulta de medicina interna oncológica del Instituto Oncológico “Dr. Luis Razetti” en el período comprendido entre junio de 2008 y marzo de 2009; el cual se encuentra ubicado en el sector San José de Cotiza del municipio Libertador del estado Miranda en Venezuela. Las pacientes recibieron el tratamiento con radioterapia y quimioterapia dentro de la institución; y la braquiterapia fue administrada en el servicio de radioterapia del Hospital Universitario de Caracas.

Por otra parte, el diagnóstico histopatológico de rutina fue realizado en el servicio de anatomía patológica del Instituto Oncológico “Dr. Luis Razetti”. Las pruebas

inmunohistoquímicas fueron realizadas en el laboratorio privado de inmunopatología de la Dra. Miriam Naranjo ubicado en la ciudad de Caracas; y el costo de dichas pruebas fue financiado por Laboratorios Novartis de Venezuela.

Antecedentes

En 1994; Inoue, Kyo, Fujita, Enomoto y Kondoh (1994)⁽⁶⁾; estudiaron la co-expresión del receptor c-kit y el stem cell factor (SCF) en líneas celulares de tumores ginecológicos incluyendo tumores cervicales y observaron expresión de ARNm de c-kit y SCF; sugiriendo que el sistema c-kit/SCF podría tener un rol importante en la carcinogénesis del tracto genital femenino. Posteriormente, otro grupo de autores japoneses estudian la expresión del PD-ECGF en lesiones metastásicas de cánceres de cuello uterino; y encontró que en aquellos pacientes que tenían altos niveles de expresión de la proteína el pronóstico fue muy pobre, en comparación con aquellas que tenían baja expresión ($p < 0.05$). Concluye entonces; que el PD-ECGF podría contribuir con el avance de las lesiones metastásicas y que los niveles del mismo podrían ser usados como marcador pronóstico⁽⁷⁾. En el 2001; se publica un estudio realizado en la Universidad Autónoma de Méjico el cual evaluó la implicación del SCF y el receptor c-kit en el crecimiento celular dependiente de la densidad en cánceres cervicales y leucemias y encontraron que las líneas celulares estudiadas mostraban un patrón de expresión del SCF y c-kit similar al de los tumores primarios. Utilizaron oligonucleótidos antisentido para bloquear al SCF y pudieron definir la importancia de la estimulación paracrina en la estimulación y supervivencia de estas células tumorales⁽⁸⁾. Dos años más tarde; Oka, Suzuki, Lida y Nakano (2003) y colaboradores toman setenta y una biopsias de pacientes con carcinoma cervical de células escamosas que habían sido tratadas con radioterapia y estudian la expresión inmunohistoquímica del PD-ECGF. Encontraron, que el 56% fueron positivas y la sobrevida global a los cinco años fue mejor en este grupo ($p = 0.026$) que en las pacientes PD-ECGF negativas; por lo que se consideró un factor pronóstico favorable⁽⁹⁾. El mismo año; se publica otro un estudio de cuarenta y siete biopsias de adenocarcinomas cervicales en pacientes tratadas con radioterapia. Analizaron la expresión inmunohistoquímica del PD-ECGF y el VEGF y lo correlacionaron con variables clínicas. Encontraron que el 44,6% de las muestras analizadas fueron positivas para PD-ECGF y hubo una correlación significativa ($p = 0.0032$) entre la expresión y buen control local de la enfermedad así como una prolongada sobrevida a los cinco años⁽¹⁰⁾.

En el 2006; un grupo de investigadores japoneses, estudian la sobreexpresión de c-kit en carcinomas neuroendocrinos de células pequeñas de cuello uterino; encontrando que el 46% de las muestras analizadas fueron positivas para el receptor. No hubo correlación entre la positividad de la expresión con el pronóstico de las pacientes. Sin embargo se concluyó que debido a la alta sobreexpresión de c-kit en este subtipo histológico; se podría considerar como un futuro blanco de terapia molecularmente dirigida con inhibidores de tirosina cinasa ⁽¹¹⁾. Recientemente, Martinho et al. (2008), estudiaron treinta casos de carcinomas adenoescamosos de cérvix y determinaron la expresión por inmunohistoquímica de KIT ó CD117 y SCF; así como mutaciones activadoras en el gen de KIT. Observaron expresión de CD117 en el 13% de los casos con 7% coexpresando SCF. No detectaron mutaciones activadoras en el gen de KIT. En vista de ello, concluyeron que la activación de KIT en estos tumores es a través de la coexpresión del SCF y no por alteraciones moleculares ⁽¹²⁾.

Marco Teórico

Actualmente se considera que la infección por el virus del papiloma humano (VPH) es un factor fundamental en la carcinogénesis del cáncer cervical a través de las proteínas E6 y E7⁽¹³⁾. Sin embargo, estas proteínas por si solas no pueden transformar a las células y requieren otras alteraciones genéticas y epigenéticas para el desarrollo del fenotipo maligno, tales como la activación de los oncogenes myc y ras^(14,15) y en especial las alteraciones de los receptores de crecimiento^(16,17).

El protooncogen c-kit codifica un receptor transmembrana con función de tirosina cinasa que pertenece a la familia de los receptores β -PDGFR/CSF-1 estrechamente relacionados con los receptores del factor de crecimiento derivado de las plaquetas. Se expresa normalmente en las células progenitoras hematopoyéticas, las células mastocíticas, células germinales y en las células marcapasos del intestino o las células intersticiales de Cajal⁽¹⁸⁾. El ligando para el receptor KIT se identificó y se denominó stem cell factor (SCF), mast cell growth factor, o kit ligando^(19,20).

Estudios recientes han sugerido que el mecanismo de interacción parénquima-estroma a través de la unión del receptor KIT a su ligando se encuentra involucrado en la hematopoyesis, gametogénesis y melanogénesis⁽²¹⁾. Se ha reportado además, que la estimulación autocrina y paracrina del sistema c-kit/factor de Steel participa en el desarrollo de varios tumores sólidos^(22,23). La unión del ligando al receptor KIT resulta en la homodimerización de este receptor y activación de la función de la tirosina cinasa que deriva en la fosforilación de varios sustratos. En la mayoría de los casos, estos sustratos son en sí mismos cinasas y sirven como efectores de la señalización intracelular que participa en el crecimiento y duplicación de la célula⁽²⁴⁾.

La expresión de KIT se ha documentado en una gran variedad de neoplasias humanas, incluyendo tumores de células germinales, cáncer de pulmón de células pequeñas, tumores del estroma gastrointestinal, neuroblastomas, melanoma, carcinoma de ovario y cancer de mama. Se han descrito tres mecanismos generales de activación de KIT: Estimulación autocrina o paracrina del receptor por su ligando, activación cruzada por otras cinasas ó pérdida de la actividad reguladora de la fosfatasa y adquisición de mutaciones activadoras⁽⁸⁾.

La función tirosina cinasa del receptor KIT puede ser activada por mutaciones en diferentes exones del gen c-kit. Estas mutaciones activadoras producen actividad de la cinasa independiente del ligando, a través de la autofosforilación del receptor y estimulación de las diferentes vías de señalización incluyendo la vía de las cinasas activadas por mitógenos y la cinasa del fosfatidil inositol 3⁽²⁵⁾. Las mutaciones de c-kit son comúnmente encontradas en células que normalmente dependen para su crecimiento del eje kit ligando/KIT⁽²⁶⁾.

La región de KIT codificada por el exon 11, funciona como un dominio de antidimerización. Las mutaciones en este dominio resultan en la activación de la cinasa permitiendo la dimerización del receptor independiente del ligando⁽²⁷⁾. La mutación en el exón 13 también permite la activación independiente del ligando, sin embargo el estado de la dimerización de esta isoforma no se ha reportado⁽²⁸⁾. La mutación del exón 9 se localiza en el dominio extracelular de KIT y apoya la activación independiente del ligando⁽²⁹⁾.

En vista de que las mutaciones activadoras de KIT son comunes en muchos cánceres humanos, hacen a esta cinasa un blanco lógico para el desarrollo de una droga que la inhiba. La eficacia antitumoral de un inhibidor de tirosina cinasa pudiera no solo depender de la inhibición de KIT sino también del bloqueo de otras cinasas que estimulan el crecimiento de un tumor, como por ejemplo el receptor del factor de crecimiento derivado de las plaquetas⁽³⁰⁾.

Por otra parte, en ratones transgénicos que expresan proteínas E6 y E7 del VPH 16, se evidenció una alta incidencia de tumores de Leydig; observándose coexpresión del receptor KIT en todos los tumores analizados. Al bloquear la expresión de c-kit en estos ratones transgénicos, se suprimió el desarrollo tumoral. Estos resultados indican que la actividad de c-kit es un factor determinante en el desarrollo de tumores testiculares; sin embargo, la función de c-kit en la biología de tumores ginecológicos inducidos por el virus del papiloma humano está aún por determinarse⁽³¹⁾.

Las investigaciones en cánceres primarios de cuello uterino se han dificultado por el hecho de que estas células no crecen en cultivo; ya que las interacciones célula-célula son primordiales en la supervivencia de las mismas. Recientemente se estableció en dos líneas celulares de cáncer cervical que lograron cultivarse, CALO e INBL que exhiben comportamiento similar al tumor en vivo, que el factor de Steel y c-kit estaban coexpresados y eran determinantes fundamentales en las interacciones yuxtacelulares⁽⁸⁾. Estudios recientes

han relacionado c-kit con la activación del receptor de interleucina 2 en células neoplásicas de cuello uterino infectadas con VPH y esta activación se traduce en señales antiapoptóticas y por ende a la radioterapia ⁽³²⁾.

La radioterapia y quimioterapia sensibilizante basada en platino tienen como objetivo principal, inducir apoptosis en las células tumorales de cuello uterino; por tanto, la estimulación por señales de proliferación y antiapoptóticas mediadas por c-kit podría conferir cierta resistencia a estos tratamientos considerados estándar, en cáncer cervical. Por otra parte, en modelos murinos se ha demostrado que la estimulación de células hematopoyéticas y de mucosa intestinal por SCF ó kit ligando confiere resistencia al tratamiento con radioterapia ⁽³³⁾.

Otros factores de crecimiento que participan en las fases de iniciación y promoción del cáncer de cuello uterino son los factores de crecimiento angiogénicos, que estimulan de manera autocrina a la célula tumoral y de forma paracrina participan en la angiogénesis ó formación de nuevos vasos sanguíneos ⁽³⁴⁾. La angiogénesis es crítica para la transición de lesiones premalignas a un estado hiperproliferativo, que permita el crecimiento tumoral indiscriminado, invasión local y la metástasis ⁽³⁵⁾. En el cérvix, la elevación significativa en la densidad microvascular ha sido evidenciada en la progresión de células normales hacia estadios I, II y III de lesiones intraepiteliales y carcinoma invasivo de células escamosas ⁽³⁶⁾.

El factor de crecimiento endotelial derivado de plaquetas (PD-ECGF) es un factor proangiogénico recientemente clonado en múltiples cánceres del tracto genital femenino, y que estimula la quimiotaxis de las células endoteliales *in vitro* y la actividad angiogénica *in vivo*. La expresión elevada del PD-ECGF está asociada con una elevada densidad microvascular, que se relaciona con actividad angiogénica del tumor y pobre evolución clínica. En cáncer cervical, el significado clínico de la expresión del PD-ECGF no ha sido claramente establecido.

Un número limitado de reportes sobre el rol de los factores angiogénicos en cáncer cervical indican que su expresión elevada, se correlaciona con tamaño tumoral, metástasis ganglionares y respuesta a radioterapia en adenocarcinomas del cuello uterino ^(37,38). Recientemente, algunos autores reportaron que el PD-ECGF más que el VEGF es el factor angiogénico de mayor importancia en adenocarcinoma cervical, sugiriendo la existencia de una vía angiogénica diferente en los carcinomas escamosos ⁽³⁹⁾.

Estos datos en conjunto, apoyan el planteamiento de que la expresión del receptor KIT y/o el PD-ECGF; pudiera estar relacionada con resistencia a la radioterapia y quimioterapia a través de señales antiapoptóticas y de proliferación intracelulares y yuxtacelulares. Por otra parte, el bloqueo de esta vía de señalización pudiera tener aplicaciones terapéuticas en cáncer de cuello uterino; ya que, a pesar los beneficios clínicos obtenidos hasta el momento con la terapia estándar de quimioterapia basada en platino concurrente con radioterapia, la tasa de recaída en esta patología es muy alta ⁽⁴⁰⁻⁴²⁾.

Hipótesis

La expresión del receptor KIT y el PD-ECGF se relacionan con tumores poco diferenciados, pobre respuesta clínica y resistencia a terapia estándar en cáncer de cuello uterino.

Variables

Variable Independiente

Expresión de KIT y PD-ECGF en tumores primarios del cuello uterino.

Variable Dependiente

Relación con tumores poco diferenciados, pobre respuesta clínica y resistencia a terapia estándar.

Objetivo General

Determinar la expresión de la proteína KIT y PD-ECGF en tumores primarios de cuello uterino y su relación con parámetros clínico-patológicos.

Objetivos Específicos

1. Señalar que la expresión de KIT ó PD-ECGF se relaciona con tumores de pobre diferenciación histológica.
2. Definir si la expresión de KIT ó PD-ECGF puede utilizarse como factor predictivo de respuesta a quimioterapia basada en platino concurrente con radioterapia.
3. Plantear al receptor KIT y PD-ECGF como futuros blancos moleculares para el diseño de nuevas estrategias terapéuticas.

MÉTODOS

Tipo de estudio

Se diseñó un estudio observacional, descriptivo, prospectivo, de campo, transversal y no experimental.

Población y Muestra

Se invitaron a participar en el estudio, sesenta pacientes femeninas que asistieron a la consulta de medicina interna oncológica del Instituto Oncológico “Dr. Luis Razetti” con el diagnóstico de cáncer de cuello uterino en estadios IB2 al IVA de la FIGO. De ellas, cinco pacientes no aceptaron participar en el estudio por razones personales. Al revisar la cantidad de tejido incluido en los bloques de parafina se determinó que el material fue insuficiente en diez pacientes por lo que no fueron admitidas en el estudio. En definitiva, la muestra del estudio estuvo constituida por un total de cuarenta y cinco pacientes; que cumplieron con todos los criterios de inclusión y exclusión.

Los criterios de inclusión fueron: paciente femenina, mayor de 18 años, sin evidencia de enfermedad metastásica, escala del estado de salud del grupo oncológico cooperativo del este (ECOG) grado 0-2, planificación para recibir tratamiento de quimioterapia con cisplatino concurrente con radioterapia según esquema descrito en las técnicas y procedimientos.

Los criterios de exclusión fueron: historia previa de enfermedad maligna (con excepción de carcinoma in situ de cuello uterino ó carcinomas basocelulares), terapia citotóxica o endocrina previa, proceso infeccioso activo u otra enfermedad que pudiera afectar la tolerancia al tratamiento, insuficiencia renal aguda ó crónica en estadio III al IV, trastorno cognitivo significativo, demencia ó imposibilidad para proveer el consentimiento informado.

Técnicas y Procedimientos

El estudio se llevó a cabo en concordancia con los principios de la declaración de Helsinki. El protocolo y el consentimiento informado fueron aprobados por el comité de ética del hospital el veintiocho de marzo del año 2008, antes de iniciar el reclutamiento. Las pacientes fueron sometidas a una historia clínica y examen físico completo.

Se revisaron los estudios complementarios traídos por la paciente para su evaluación rutinaria: hematología completa, urea, creatinina, glicemia ayunas, perfil hepático, fosfatasa

alcalina, prueba de embarazo si fuere pertinente, calcio y fósforo, depuración de creatinina y proteinuria en 24 horas, cistoscopia y rectosigmoidoscopia si estaban disponibles, radiografía de tórax en proyección antero posterior y lateral izquierda, biopsia por aguja gruesa inmersa en bloque de parafina disponible al momento de ingreso en el estudio, tomografía axial computada abdominal y pélvica con doble contraste ó resonancia magnética nuclear con gadolinium de pelvis para definir el estadio clínico inicial. Una vez verificados los criterios de inclusión y exclusión se procedió a la obtención del consentimiento informado por escrito (ver apéndice 1).

Se recolectaron las muestras de tejido tumoral incluidas en bloques de parafinas para la evaluación rutinaria con tinción de hematoxilina eosina bajo microscopio de luz según los criterios de la organización mundial de la salud. Las biopsias del tumor se tomaron antes de que se aplicara cualquier tratamiento. Los cortes se desparafinaron en xileno y se rehidrataron a través de etanol graduado con agua bidestilada. Los cortes se sometieron a inmersión con solución recuperadora de antígeno Dako precalentada a 95°C en baño de maría y después se trataron con calor a 95°C por cuarenta minutos.

Posterior a un período de enfriamiento de veinte minutos a temperatura ambiente, los cortes se lavaron con solución buffer PBS. El bloqueo de la peroxidasa endógena se realizó con peróxido de hidrógeno al 0.3% con metanol, durante cinco minutos a temperatura ambiente. Los cortes se incubaron por treinta minutos a temperatura ambiente con los siguientes anticuerpos: Receptor KIT de Leica Microsystems Novocastra liofilizado con el código NCL-CD117 y PD-ECGF de Leica Microsystems Novocastra liofilizado con el código NCL-PDEGF.

Se llevó a cabo la incubación con el anticuerpo secundario unido a polímero, para su posterior revelado con diaminobencidina. Los cortes se contrastaron con hematoxilina. Se utilizaron controles positivos. En los controles negativos se omitió el anticuerpo primario y en su lugar se agregó solución tamponada de fosfato a pH 7,2. Se consideró positivo cuando 5% ó más de la población celular maligna mostró señal en el caso de c-kit ó CD117 y cuando 5% ó más del estroma ó la población celular maligna mostró señal en el caso de PD-ECGF.

La radioterapia consistió en radiación pélvica con técnica de cuatro campos administrada con acelerador de al menos 4-MV fotones a una distancia de 100 cm. El campo de tratamiento

se extendió tres centímetros por fuera de la enfermedad conocida e involucró los ganglios ilíacos comunes. Se dieron fracciones de 1.8 a 2.0 Gy cinco días a la semana por un período de cinco semanas para una dosis total de 45 Gy.

La braquiterapia de baja dosis se administró en dos a cuatro aplicaciones intracavitarias después de la culminación de la radioterapia externa. La dosis al punto A fue de 30 Gy (dos centímetros laterales y dos centímetros por arriba del orificio cervical externo) para una dosis acumulada de 75 Gy, y la dosis acumulada del punto B (pared pélvica) fue de 55 Gy. El cisplatino se administró de forma intravenosa una vez por semana a dosis de 40 mg/m², con una dosis total no mayor de 70 mg por semana. Se cumplió un máximo de seis dosis de cisplatino y la dosis final se pudo administrar durante la braquiterapia intracavitaria (28-30)

La respuesta a tratamiento se determinó a través del examen físico y ginecológico y bajo los criterios del grupo RECIST aplicados a los estudios de imagen en caso de haber enfermedad mensurable bajo estos criterios. El examen físico ginecológico fue realizado en conjunto con el servicio de ginecología oncológica de nuestro centro, realizado ocho semanas después de culminar la colocación del último implante de braquiterapia. Al culminar tratamiento, las pacientes fueron evaluadas cada tres meses en dos oportunidades con examen físico general, ginecológico, laboratorio completo y citología vaginal; y con estudio de imagen pélvica a los seis meses.

Tratamiento estadístico

Se calculó la media y la desviación estándar de las variables continuas; en el caso de las variables nominales se calculó sus frecuencias y porcentajes.

Los contrastes entre respuesta positiva y negativa, tanto del receptor KIT como del PD-ECGF entre las variable del estudio se realizaron usando la prueba chi cuadrado de Pearson. En el caso de la edad, se empleó la prueba no paramétrica U de Mann-Whitney. Se consideró un valor significativo de contraste si $p < 0,05$. Los datos se analizaron con SPSS 18.0.

RESULTADOS

El promedio de edad fue de $45,5 \pm 9,7$ años con un rango de 24-73 años, siendo el rango de edad más frecuente entre los 40 y 49 años con un 35,5% (n = 16). Con respecto al tipo histológico, el mayor porcentaje fueron carcinomas escamosos (68,3%), seguidos en frecuencia de los adenocarcinomas (20%). Tres pacientes (2,2%) tuvieron histología de células claras (ver gráfico número 1). Con respecto al grado de diferenciación histológico, el más común fue reportado como moderadamente diferenciado (42,2%), seguido del desconocido o no reportado (31,1%) y el pobremente diferenciado (17,8%). De manera aislada, cuatro pacientes presentaron un buen grado de diferenciación (ver gráfico número 2). El estadio clínico IIB fue el predominante (51,1%); como se muestra en el gráfico 3, seguido del estadio IIIB.

El 77,8% de las pacientes (n = 32) presentaron respuesta completa al tratamiento desde el punto de vista clínico e imagenológico y nueve pacientes (20%) presentaron progresión de la enfermedad durante el tratamiento (ver gráfico número 4).

De las cuarenta y cinco muestras tumorales analizadas, dos (4,4%) mostraron positividad para la expresión del receptor KIT (ver gráfico número 5). La primera, el caso CUT55, fue una paciente de 42 años con un adenocarcinoma pobremente diferenciado con células en anillo de sello en estadio IIB, el cual mostró progresión de enfermedad durante la concurrencia y pasó a una primera línea de tratamiento. La segunda muestra positiva para KIT, se trata del caso CUT33, una paciente de 43 años con un carcinoma escamoso pobremente diferenciado en estadio IB2 que tuvo una respuesta completa al tratamiento y fue además uno de los tres casos negativos para la expresión del PD-ECGF. De las ocho pacientes con tumores de grado histológico pobremente diferenciado, el 25% tuvo positividad para la expresión del receptor KIT; sin embargo no hubo correlación estadística entre el pobre grado de diferenciación y la expresión de la proteína.

Por otra parte, el 93,3% de las muestras mostraron positividad para la expresión del PD-ECGF (ver gráfico número 6) y el patrón predominante fue el citoplasmático fuerte. Las dos muestras positivas para el receptor KIT expresaron fuertemente PD-ECGF, tanto a nivel citoplasmático como nuclear. Las tres pacientes con negatividad para la expresión del PD-ECGF mostraron respuesta completa al tratamiento recibido. El primer caso negativo para PD-

ECGF, fue el caso CUT08, una paciente de 58 años con un carcinoma escamoso moderadamente diferenciado en estadio IIB, que mostró progresión de enfermedad durante el tratamiento y pasó a una primera línea de tratamiento.

El segundo caso, CUT19, era una paciente de 51 años con un carcinoma escamoso con grado de diferenciación desconocido en estadio IIB, que mostró respuesta completa al tratamiento concurrente. El tercer caso, es el CUT33, mencionado anteriormente ya que, además de ser negativo para la expresión del PD-ECGF, fue positivo para la expresión del receptor KIT. En relación al patrón de la expresión del PD-ECGF, el nivel citoplasmático fue más frecuente, seguido de la ubicación nuclear y citoplasmática simultánea.

Al analizar la relación entre las diferentes variables estudiadas con la expresión del receptor KIT, tanto la edad ($p = 0,663$), histología ($p = 0,864$), grado de diferenciación histológico ($p = 0,554$), estadio clínico de la enfermedad ($p=0,514$) y la respuesta clínica al tratamiento ($p= 0,550$), no se demostró correlación estadística entre las mismas. De la misma manera, al realizar el análisis de la relación entre la expresión del PD-ECGF y la edad ($p=0,790$), tipo histológico ($p=0,835$), grado de diferenciación histológica ($p=0,424$), estadio clínico ($p=0,083$) y respuesta al tratamiento ($p=0,632$), tampoco hubo correlación estadística (ver tablas 1 al 10 en los apéndices).

DISCUSIÓN

El cáncer cervical es un problema de salud pública en la mayoría de los países latinoamericanos, es por ello que el conocimiento de la biología de estos tumores se impone como una necesidad primordial en nuestras líneas de investigación actual para poder dar respuestas más eficaces a nuestra población.

Se sabe que el receptor KIT y su ligando participan de manera autocrina y paracrina en la carcinogénesis de la neoplasias cervicales, y que su expresión se ha relacionado con resistencia a la apoptosis inducida por radioterapia en modelos experimentales ^(14,22,23). El PD-ECGF se ha establecido como un factor angiogénico fundamental relacionado con la densidad microvascular en tumores uterinos. Esta densidad se relaciona con la adquisición de un fenotipo maligno altamente metastásico y de pobre pronóstico en tumores del tracto genital femenino ⁽¹¹⁾.

En la búsqueda de factores predictivos de respuesta a tratamiento estándar en cáncer cervical, se planteo el objetivo de relacionar la expresión del receptor KIT y el PD-ECGF con la respuesta a quimioterapia concurrente con radioterapia y otros factores clínico-patológicos en un grupo de pacientes con cáncer de cuello uterino en estadios clínicos FIGO del IB2 al IVA. De las cuarenta y cinco pacientes estudiadas, solo dos (4,4%) mostraron positividad para la expresión del receptor KIT.

Esto denota, que la expresión del receptor KIT en cáncer cervical es un evento infrecuente pero presente. Dicho hallazgo pudiera relacionarse con el planteamiento del carácter autocrino de esta vía de señalización en cáncer cervical, diferente a su alteración en otros tumores como los del estroma gastrointestinal, donde se relaciona con mutaciones activadoras de los dominios tirosina cinasa del receptor. Sin embargo, sería interesante estudiar no solo la expresión del receptor KIT sino también su ligando en tumores cervicales y establecer el eje autocrino y paracrino de esta vía de estimulación.

Por otro lado, llama la atención que el 25% de los tumores pobremente diferenciados en nuestra serie mostraron expresión del receptor KIT, infiriendo que la expresión de este receptor pudiera relacionarse con tumores con pobre diferenciación con fenotipo maligno. Sin embargo, esta observación no tuvo correlación estadística, probablemente producto del limitado número en la muestra analizada.

Es bien conocido que la angiogénesis es esencial en la progresión tumoral y el proceso de metástasis. Los tumores secretan factores angiogénicos como el factor de crecimiento de fibroblastos, el factor de crecimiento transformante alfa y beta, VEGF, IL-8 y el factor de crecimiento endotelial derivado de plaquetas (PD-ECGF), los cuales promueven la neovascularización alrededor de los tumores ⁽²⁴⁾. La alta expresión del PD-ECGF está asociada con una alta densidad microvascular y pobre evolución clínica en cáncer cervical ⁽¹¹⁾.

Un estudio retrospectivo, encontró expresión del PD-ECGF en el 44,6% de los adenocarcinomas de cuello uterino analizados y esta expresión se correlacionó con control local de la enfermedad posterior al tratamiento con radioterapia y fue además un factor pronóstico independiente de sobrevida a los cinco años en un análisis de múltiples variables ⁽¹⁰⁾.

Oka et al. (2003), ⁽⁹⁾ reportaron que la sobrevida a los cinco años de pacientes con cáncer cervical tratadas con radioterapia que mostraron positividad para el PD-ECGF fue mejor ($p=0,026$) que el grupo sin expresión de este factor angiogénico. En nuestra serie, el 76,2% de los pacientes que presentaron positividad para el PD-ECGF obtuvieron respuesta completa al tratamiento quimioradiante; sin embargo, este hallazgo no se estableció como factor predictivo de respuesta a tratamiento estándar ($p=0,632$), probablemente relacionado una vez más, con la escasa muestra.

El manejo moderno de la terapia antineoplásica nos ha enseñado que hay tipos diferentes de enfermedades en una misma patología según su histología, perfil de expresión genética y comportamiento biológico; como se ha demostrado hasta el momento en cáncer de pulmón, mama y colon. El cáncer de cuello uterino no puede ser la excepción; sin embargo hasta el momento, el tratamiento de los tumores epiteliales del cérvix es el mismo, sin discriminar a través de los diferentes patrones histológicos; como por ejemplo entre los adenocarcinomas, carcinomas escamosos ó de células claras.

En definitiva, es un compromiso en el área de la investigación en cáncer continuar en la búsqueda de biomarcadores que permitan diseñar terapias dirigidas contra el cáncer cervical y de esta manera poder obtener esquemas que deriven beneficios clínicos superiores a los obtenidos de la terapia considerada estándar hasta el momento actual.

Conclusiones y Recomendaciones

1. Las proteínas estudiadas no mostraron relación con las características clínicas y patológicas analizadas; como la edad, el subtipo histológico y grado de diferenciación histológica.
2. Las expresiones tisulares del receptor KIT y el PD-ECGF no fueron establecidas como factores predictivos de respuesta a tratamiento convencional en cáncer de cuello uterino en el estudio presentado. El número de casos incluidos fue una de las limitaciones del estudio; así como la dificultad para completar el tratamiento en nuestro medio; en particular la braquiterapia.
3. Se plantea la elaboración estudios clínicos de mayor alcance, que analice parámetros de sobrevida, como sobrevida libre de enfermedad y sobrevida global, y que permita establecer si las proteínas estudiadas pueden ser utilizadas no solo como factores predictivos sino como factores pronósticos en cáncer cervical.

REFERENCIAS

1. Parkin D, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Estimating the world cancer burden: Globocan 2000. *Int J Cancer* 2001; 94: 153-156.
2. Lewis M. A situational analysis of cervical cancer in Latin America and the Caribbean. PAHO 2004: 1-29.
3. Portal de Ministerio del Poder Popular para la Salud de la República Bolivariana de Venezuela. Anuario de Mortalidad 2008, [en línea]. Dirección URL: <<http://www.mpps.gob.ve/modules.php?name=Content&pa=showpage&pid=768>>. [Consulta: Marzo del 2011].
4. Urdaneta N, Gutiérrez E. Carcinoma de cuello uterino: Tratamiento radiante. *Fundacancer* 1999; 2: 18-38.
5. Morris M, Eifel P, Lu J, Grigsby P, Levenback C, Stevens R, et al. Pelvis radiation with concurrent chemotherapy compared with pelvic and para-aortic radiation for high risk cervical cancer. *N Eng J Med* 1999; 340: 1137-1143.
6. Inoue M, Kyo S, Fujita M, Enomoto T, Kondoh G. Coexpression of the c-kit receptor and the stem cell factor in gynecological tumors. *Cancer Res* 1994; 54 (11): 3049-53.
7. Fujimoto J, Sakaguchi H, Hirose R, Wen H y Tamaya T. Clinical implication of expression of platelet-derived endothelial cell growth factor (PD-ECGF) in metastatic lesions of uterine cervical cancers. *Cancer Res* 1999; 59: 3041-3044.
8. Caceres-Cortes J, Alvarado-Moreno J, Waga K, Rangel-Corona R, Monroy-Garcia A, Rocha-Zavaleta L, et al. Implication of tyrosine kinase receptor and steel factor in cell density-dependent growth in cervical cancers and leukemias. *Cancer Res* 2001; 61:6281-6289.
9. Oka K, Suzuki Y, Lida H, Nakano T. PD-ECGF positivity correlates with better survival, while iNOS has no predictive value for cervical carcinomas treated with radiotherapy. *Int J Rad Oncol* 2003; 57:217-221.
10. Ryu S, Oka K, Tsujii H, Suzuki Y. y Takahashi N. Platelet-derived endothelial cell growth factor as a prognostic factor for radiotherapy outcome in patients with adenocarcinoma of the uterine cervix. *Gynecologic Oncology* 2003; 89:414-419.
11. Ohwada M, Wada T, Saga Y, Tsunoda S, Jobo T, Kuramoto H, et al. C-kit overexpression in neuroendocrine small cell carcinoma of the uterine cervix. *Eur J*

- Gynaecol Oncol 2006; 27(1): 53-55.
12. Martinho O, Goncalves A, Moreira M, Ribeiro L, Queiroz G, Schmitt F, et al. KIT activation in uterine cervix adenosquamous carcinomas by KIT/SCF autocrino/paracrine stimulation loops. *Gynecol Oncol* 2008; 111(2): 350-355.
 13. Snijders P, Steenbergen R, Heideman D, Meijer C. HPV-mediated cervical carcinogenesis: concepts and clinical implications. *J Pathol* 2006; 208: 152-164.
 14. Kersemaekers A, Van der Vijver M, Kenter G, Fleuren G. Genetic alterations during the progression of squamous cell carcinomas of the uterine cervix. *Genes, Chromosomes and Cancer* 1999; 26: 346-354.
 15. Dueñas-González A, Lizano M, Candelaria M, Cetina L, Arce C y Cervera E. Epigenetics of cervical cancer. An overview and therapeutic perspectives. *Mol Cancer* 2005; 4: 38.
 16. George D. Platelet-derived growth factor receptors: a therapeutic target in solid tumors. *Semin Oncol* 2001; 28: 27-33.
 17. Vaidya A, Parnes A, Seiden M. Rationale and clinical experience with epidermal growth factor receptors inhibitors in gynecologic malignancies. *Curr Treat Options Oncol* 2005; 6: 103-114.
 18. Yaden Y, Kuang W, Yang-Feng T, [Coussens L](#), [Munemitsu S](#), [Dull TJ](#), [Chen E](#), et al. Human protooncogene c-kit: a new cell surface receptor tyrosine kinase for an unidentified ligand. *EMBO J* 1987; 6: 3341-3351.
 19. Williams D, Eisenman J, Baird A, Rauch C, Van Ness K, March C, et al. Identification of a ligand for the c-kit proto-oncogene. *Cell* 1990; 63:167-174.
 20. Huang E, Nocka K, Beier D, Chu TY, Buck J, Lahm HW, et al. The hematopoietic growth factor KL is encoded by the S1 locus and is the ligand of the c-kit receptor, the gene product of the W locus. *Cell* 1990; 63:225-233.
 21. Tohada S, Yang G, Achman L, [McCulloch E](#), [Minden M](#). Relationship between c-kit expression and proliferation in acute myeloblastic leukemia cell lines. *J Cell Physiol*. 1993; 154:410-418.
 22. Natali P, Nicotra M, Sures Y, [Mottolese M](#), [Botti C](#), [Ullrich A](#). Breast cancer is associated with loss of the c-kit oncogene product. *Int J Cancer* 1992; 52:713-717.
 23. Rygaard K, Nakamura T y Spang-Thomsen M. Expression of the protooncogene c-met

- and c-kit and their ligands, hepatocyte growth factor-scatter factor and stem cell factor, in SCLS cell lines and xenografts. *Br. J. Cancer* 1993; 67:37-46.
24. Lev S, Givol D, Yarden Y. A specific combination of substrates is involved in signal transduction by the kit-encode receptor. *EMBO J* 1991; 10:647-654.
 25. Heinrich M, Griffith D, Druker B, [Wait C](#), [Ott K](#), [Zigler A](#). Inhibition of c-kit receptor tyrosine kinase activity STI 571, a selective tyrosine kinase inhibitor. *Blood* 2000; 96:925-932.
 26. Dolci S, Williams DE, Ernst MK, [Resnick JL](#), [Brannan CI](#), [Lock LF](#), et al. Requirement for mast cell growth factor for primordial germ cell survival in culture. *Nature* 1991; 352:809-811.
 27. Ma Y, Cunningham ME, Wang X, [Ghosh I](#), [Regan L](#), [Longley B](#). Inhibition of spontaneous receptor phosphorylation by residues in a putative alpha-helix in the KIT intracellular juxtamembrane region. *J Biol Chem* 1999; 274: 13399-13402.
 28. Isozaki K, Terris B, Belghiti J, [Schiffmann S](#), [Hirota S](#), [Vanderwinden J](#). Germ line-activating mutation in the kinase domain of KIT gene in familial gastrointestinal stromal tumors. *Am J Pathol* 2000; 157:1581-1585.
 29. Hirota S, Nishida T, Isozaki K, [Taniguchi M](#), [Nakamura J](#), [Okazaki T](#), [Kitamura Y](#). Gain-of-function mutation at the extracellular domain of KIT in gastrointestinal stromal tumors. *J Pathol* 2001; 193: 505-510.
 30. Heinrich M, Blanke C, Druker B, Corless C. Inhibition of KIT tyrosine Kinase Activity: A novel molecular approach to the treatment of KIT-positive malignancies. *J Clin Oncol* 2002; 20: 1692-1703.
 31. Li Q, Kondoh G, Inafuku S, [Nishimune Y](#), [Hakura A](#). Abrogation of c-kit/Steel Factor-dependent tumorigenesis by kinase defective mutants of the c-kit receptor. *Cancer Res* 1996; 56:4343-4346.
 32. Rocha-Zavaleta L, Huitron C, Cáceres-Cortés J, [Alvarado-Moreno JA](#), [Valle-Mendiola A](#), [Soto-Cruz I](#), et al. Interleukin-2 (IL-2) receptor $\beta\gamma$ signalling is activated by c-kit in the absence of IL-2, or by exogenous IL-2 via JAK3/STAT5 in human papillomavirus-associated cervical cancer. *Cell Signal* 2004; 16:1239-1247.
 33. Wu D, Bosch B. y Keating A. Hematopoietic cytokines enhance survival of SCID mice undergoing high-dose irradiation. *Exp Hematol* 1994; 22: 31-39.

34. Fidler I, Ellis L. The implications of angiogenesis for the biology and therapy of cancer metastasis. *Cell* 1994; 9: 185-188.
35. Folkman J. Clinical applications of research on angiogenesis. *N Eng J Med* 1995; 333:1757-63.
36. Dobbs SP, Hewett PW, Johnson IR, Carmichael J, Murray JC. Angiogenesis is associated with vascular endothelial growth factor expression in cervical intraepithelial neoplasia. *Br J Cancer* 1997; 76:1410-15.
37. Fujiwaki R, Hata K, Iida K, Maede Y, Miyazaki K. Vascular endothelial growth factor expression in progression of cervical cancer: correlation with thymidine phosphorylase expression, angiogenesis, tumor cell proliferation, and apoptosis. *Anticancer Res* 2000; 20:1317-22.
38. Lancaster JA, Cooper RA, Logue JP, Davidson SE, Hunter RD, West C. Vascular endothelial growth factor (VEGF) expression is a prognostic factor for radiotherapy outcome in advanced carcinoma of the cervix. *Br J Cancer* 2000; 83:620-5.
39. Chen R, Chang D, Yen M, Lee E, Huang S, Chow S, y Hsieh C. Prognostic factors of primary adenocarcinoma of the uterine cervix. *Gynecol Oncol* 1998; 69: 157-164.
40. Keys H, [Bundy B](#), [Stehman F](#), [Muderspach L](#), [Chafe W](#), [Suggs C](#), et al. Cisplatin, radiation and adjuvant hysterectomy for Bulky stage IB cervical carcinoma. *N Eng J Med* 1999; 340:1154-1161.
41. Pearcey R, [Brundage M](#), [Drouin P](#), [Jeffrey J](#), [Johnston D](#), [Lukka H](#), et al. Phase III trial comparing radical radiotherapy with and without cisplatin chemotherapy in patients with advanced squamous cell cancers of the cervix. *J Clin Oncol* 2002; 20:966-972.
42. Rose P, [Bundy B](#), [Watkins E](#), [Thigpen J](#), [Deppe G](#), [Maiman M](#), et al. Concurrent cisplatin-based chemotherapy and radiotherapy for locally advanced cervical cancer. *N Eng J Med* 1999; 340: 1144-1153.

ANEXOS

Gráfico 1
Distribución de la muestra según el tipo histológico

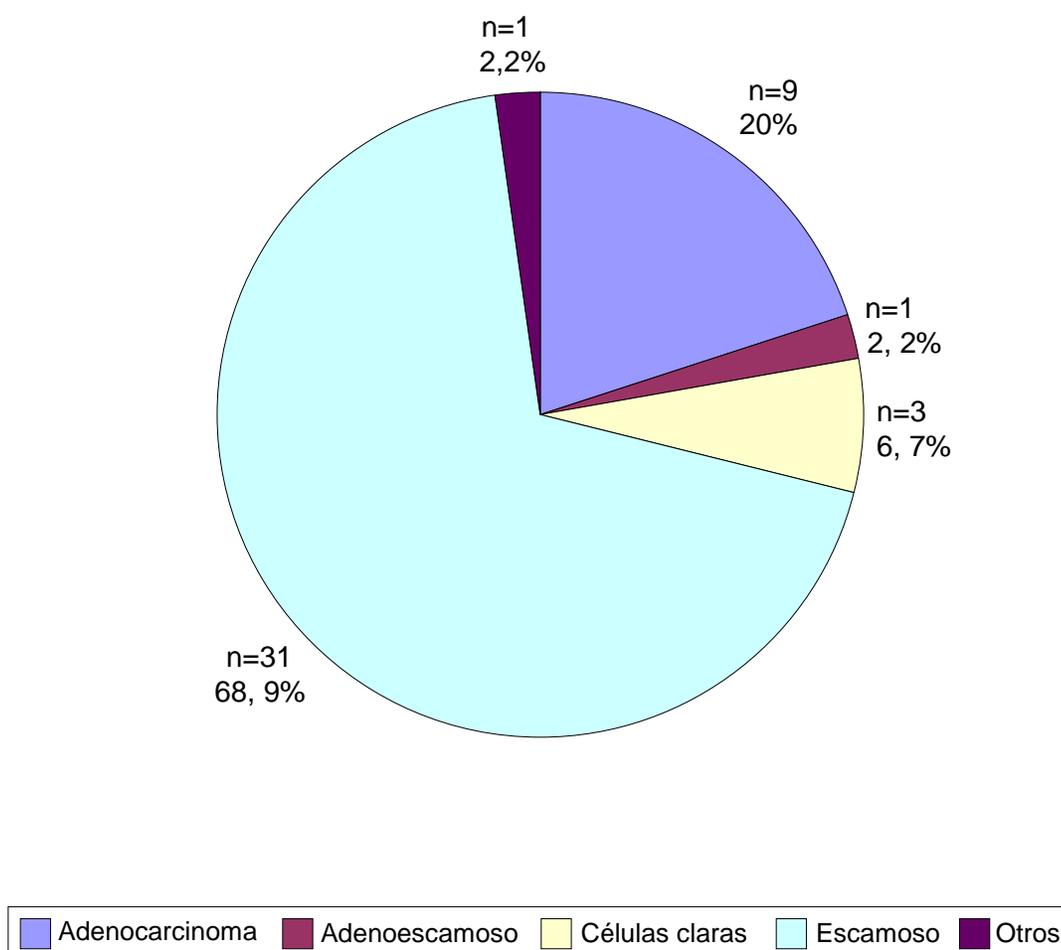


Gráfico 2

Distribución de la muestra según el grado de diferenciación histológica

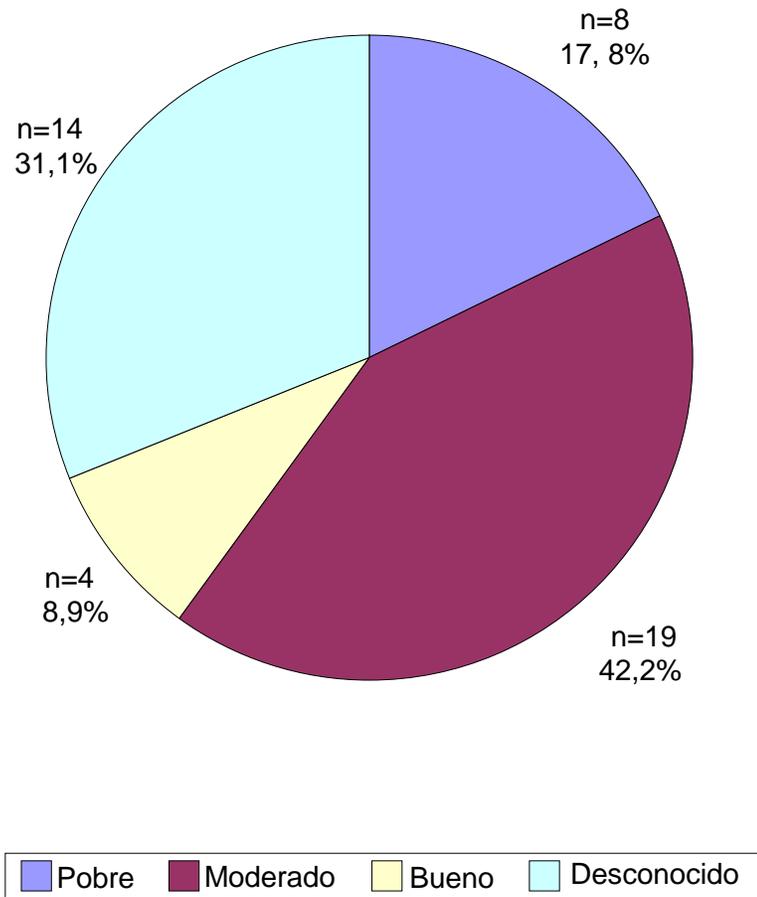


Gráfico 3

Distribución de la muestra según el estadio clínico de enfermedad

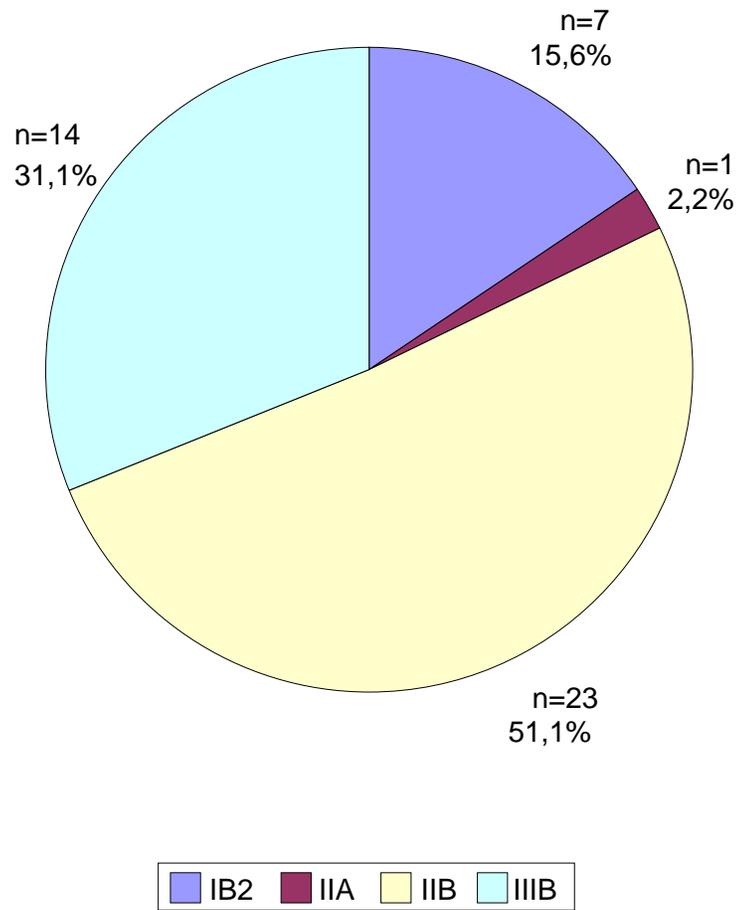


Gráfico 4

Distribución de la muestra según resultado de la respuesta al tratamiento

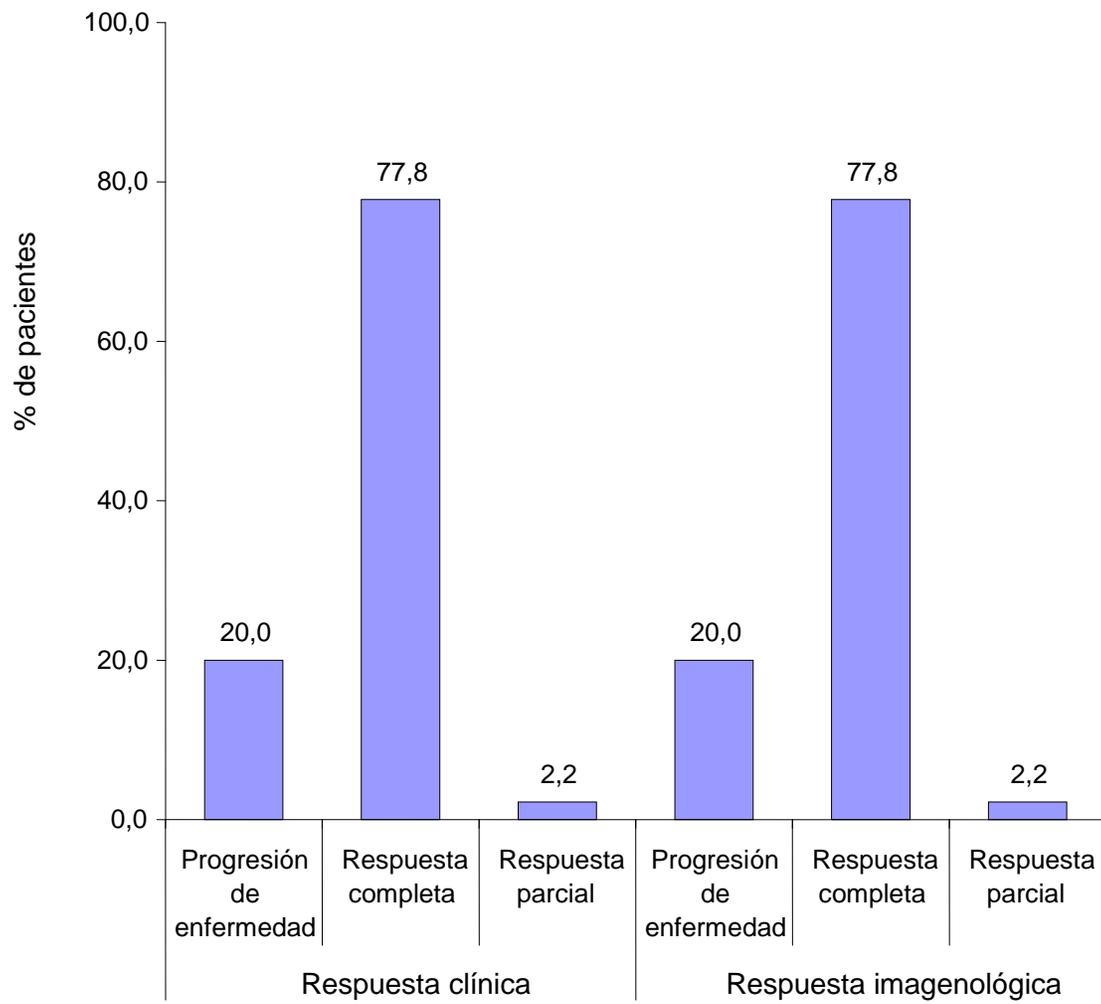


Gráfico 5

Distribución de la muestra según la expresión inmunohistoquímica del receptor KIT

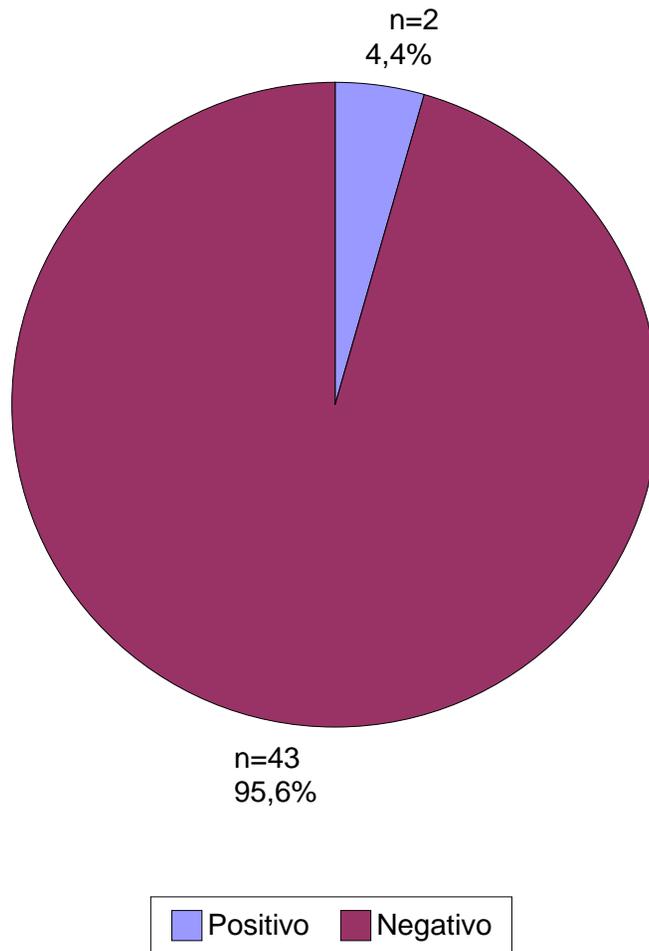
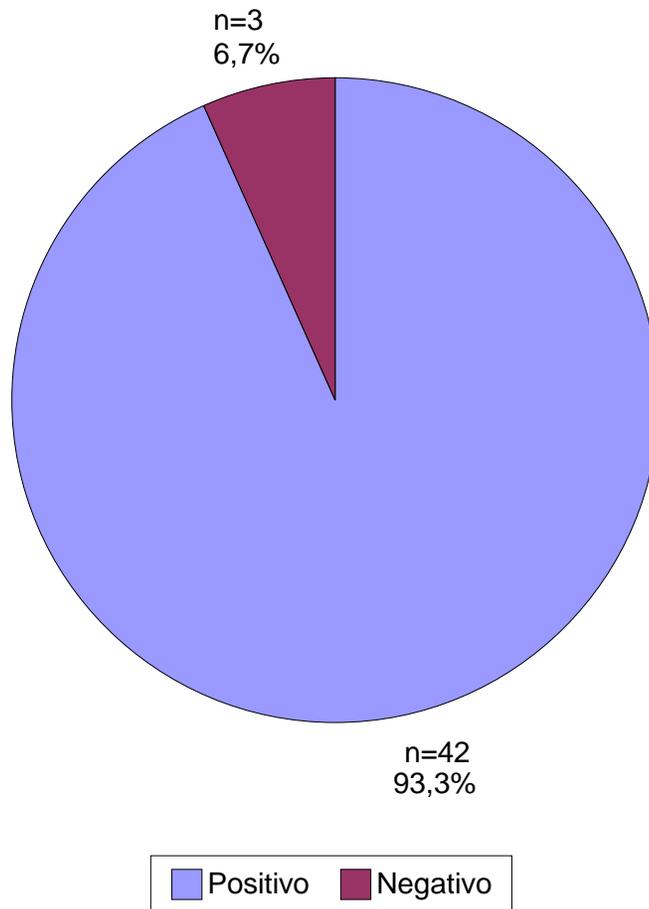


Gráfico 6
Distribución de la muestra según la expresión inmunohistoquímica del PD-ECGF



Forma de Información y Consentimiento del Paciente

(Aprobado por el Comité de Bioética del IOLR el 28 de Marzo de 2008)

Se le invita a participar voluntariamente en el estudio: **IMPLICACIONES CLÍNICO-PATOLÓGICAS DE LA EXPRESIÓN DEL RECEPTOR KIT Y EL PD-ECGF EN CÁNCER DE CUELLO UTERINO**, realizado por las médicas cirujanas Paola Celedón y Yexaira Laya, adscritas al servicio de Medicina Interna Oncológica del Instituto Oncológico Dr. Luis Razetti. Antes de aceptar su participación, es importante que usted lea y entienda esta forma. La cual describe el propósito, los procedimientos, beneficios, riesgos, malestares y precauciones del estudio. También describe su derecho de abandonar el estudio en cualquier momento. Si usted participa, recibirá una copia de esta forma para mantenerla en sus archivos.

Propósito del estudio

El objetivo principal es determinar la expresión de la proteína KIT y del receptor del factor de crecimiento endotelial derivado de plaquetas en cáncer de cuello uterino por la técnica de inmunohistoquímica.

Procedimientos del estudio

El investigador le solicitará el bloque de parafina donde se encuentra preservado el tejido obtenido a través de biopsia del cuello uterino para realizar la determinación inmunohistoquímica; la cual no tendrá ningún costo para el paciente.

Otros Tratamientos

Usted no tiene que participar en este estudio para ser tratado por su enfermedad o estado. Si no desea participar recibirá la misma atención y tratamiento pertinente para su enfermedad y esta decisión no afectará de ninguna manera la relación que establezca con su médico tratante.

Posibles beneficios

Los procedimientos de estudio serán proporcionados a usted sin costo alguno. Usted puede recibir información acerca de su salud obtenida de cualquier examen y pruebas de laboratorios que se realicen en este estudio. La información obtenida de este estudio puede beneficiar a pacientes en el futuro.

Preguntas

Si usted tiene cualquier pregunta acerca de este estudio o de sus derechos, por favor contáctese con las médicas cirujanas Paola Celedón ó Yexaira Laya al teléfono _____ de la dirección del instituto oncológico Dr. Luis Razetti

Confidencialidad

Su información personal de salud será manejada por el médico del estudio y su personal de manera confidencial. Su información de salud será usada y develada de acuerdo a la Declaración de privacidad de los datos ingresada a este Documento de consentimiento.

Firmas

Para ingresar al estudio usted, el médico y un testigo deberán firmar esta forma:

_____ Nombre del paciente	_____ Fecha	_____ Firma del Paciente
_____ Nombre del Médico	_____ Fecha	_____ Firma del Médico
_____ Nombre del Testigo	_____ Fecha	_____ Firma del Testigo

CUADERNO DE REGISTROS Y FORMULARIOS

IMPLICACIONES CLÍNICO-PATOLÓGICAS DE LA EXPRESIÓN DEL RECEPTOR KIT Y EL PD-ECGF EN CÁNCER DE CUELLO UTERINO

Fecha: _____

Nombre de la Paciente: _____

Historia: _____ Edad: _____ Tlf: _____

La paciente podrá entrar en el estudio si todas las respuestas son SI

SI	NO	Criterio
		Mujer mayor de 18 años
		Diagnóstico de Cáncer de Cuello Uterino IB2-IIIB
		Estado de Salud ECOG 0 a 2
		Prueba de embarazo negativa (si fuese pertinente)
		Perfil Hematológico, renal y hepático dentro de límites normales
		Planificación para recibir tratamiento estándar QT/RT
		Enfermedad clínicamente medible definida por criterios RECIST

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

La paciente podrá entrar en el estudio si todas las respuestas son NO

SI	NO	Criterio
		Historia previa de cardiopatía
		Historia previa de enfermedad maligna (con excepción de CIS de cuello uterino ó carcinoma basocelular)
		Terapia citotóxica ó endocrina previa
		Proceso infeccioso activo ó enfermedad concomitante seria (a criterio del investigador)
		Evidencia clínica de MT en SNC
		Función Hepática alterada: bilirrubina > 2.0 veces por encima del valor normal; ALT y AST > 2.5 veces el valor normal.
		Función renal inadecuada: creatinina > ó igual 2.0 mg/dL
		Imposibilidad para proveer consentimiento informado

Fecha firma del consentimiento informado: _____

ANTECEDENTES SIGNIFICATIVOS DE LA PACIENTE

No existen

----- DIAGNÓSTICO -----	ACTIVO	TIEMPO DE EVOLUCIÓN
	<input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No	
	<input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No	
	<input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No	
	<input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No	
	<input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No	

EXÁMEN FÍSICO

Normal

Anormal (Especificar): _____

* No codificar como anormal las lesiones de la enfermedad en estudio

Peso	Kg	Superficie corporal _____ m ²
Talla	cm	

Estadio Funcional ECOG 0 1 2

DIAGNÓSTICO INICIAL DE LA ENFERMEDAD

Fecha del diagnóstico inicial: ____/____/____

Diagnóstico histológico:

Epidermoide

ADC

Mixto

Otros. Especifique: _____

Grado de diferenciación:

Indiferenciado

Pobremente diferenciado

Moderadamente diferenciado

Bien diferenciado

Desconocido

ESTADIO DE LA ENFERMEDAD

T ____ N ____ M0 (FIGO: _____)

ESTUDIOS DE EXTENSIÓN

Rx Tórax ó TAC de Tórax

Fecha: _____

Normal

Anormal. Especificar: _____

Ultrasonido Abdominal ó TAC-RMN de Abdomen-Pelvis

Fecha: _____

Normal

Anormal. Especificar: _____

Colonoscopia

Fecha: _____

Normal

Anormal. Especifique: _____

Citoscopia

Fecha: _____

Normal

Anormal. Especifique: _____

LOCALIZACIONES DE LA ENFERMEDAD (MEDIDAS INICIALES)

1. Mensurable
2. No Mensurable



N° Lesión	Tipo	Fecha del examen	Localización (especificar)	Código	Medida Clínica (mm)	Medida Radiológica (mm)
SDLM (RECIST)						

LABORATORIO INICIAL

Hematología (Fecha: _____)

- Hemoglobina: _____ g/dL
- Leucocitos: _____ cél/mm³
- Plaquetas: _____ cél/mm³

Bioquímica

- Bilirrubina Total: _____ mg/dL
- TGO: _____ U/L
- TGP: _____ U/L
- Fosfatasa Alcalina: _____ U/L
- Creatinina sérica: _____ mg/dL Depuración Creatinina: _____
- Glicemia: _____ mg/dl

COMENTARIOS

BLOQUES DE PARAFINA

CANTIDAD DE BLOQUES: _____

NÚMERO Ó CODIFICACIÓN DE BLOQUES: _____

UBICACIÓN DE LOS BLOQUES: IOLR OTRO: _____

Nº de Anatomía Patológica: _____

Fecha de Ingreso ó Recepción en Anatomía Patológica: _____

FECHA DE ENVIO AL LABORATORIO DE INMUNOHISTOQUÌMICA: _____

RESULTADO:

	POSITIVO	NEGATIVO	OTROS
CD-117			
PD-ECGF			

TRATAMIENTO

FECHA DE INICIO DE RT EXTERNA: ___/___/___

CENTRO DE LA RT:

___ IOLR ___ HDL ___ HCU ___ H.Militar ___ Otros

DOSIS TOTAL PLANIFICADA: _____

DOSIS AL PUNTO A: _____ DOSIS PUNTO B: _____

Fracción: _____

Marcar con una "X" el tratamiento recibido

	Tto	L	M	M	J	V	S	D
Semana 1 Desde el ___/___/___ al ___/___/___	QT							
	RT							
Semana 2 Desde el ___/___/___ al ___/___/___	QT							
	RT							
Semana 3 Desde el ___/___/___ al ___/___/___	QT							
	RT							
Semana 4 Desde el ___/___/___ al ___/___/___	QT							
	RT							
Semana 5 Desde el ___/___/___ al ___/___/___	QT							
	RT							

Comentarios: _____

QUIMIOTERAPIA:

CDDP (40mg/m2) Dosis recibida en fechas indicadas en el cuadro superior: _____

Reducción de Dosis:

____ Si Fecha de Reducción y Causa: _____

____ No

BRAQUITERAPIA:

FECHA DE INICIO DE LA BRAQUITERAPIA: _____

FECHA DEL 1ER IMPLANTE: _____ DOSIS: _____

FECHA DEL 2DO IMPLANTE: _____ DOSIS: _____

FECHA DEL 3ER IMPLANTE: _____ DOSIS: _____

FECHA DEL 4TO IMPLANTE: _____ DOSIS: _____

CENTRO DE LA BT:

____ HCU ____ H.O.P.M ____ Otros: _____

FECHA DE DOSIS DE QT CON BRAQUITERAPIA: _____

DOSIS RECIBIDA: _____

EVALUACIÓN DE RESPUESTA A TRATAMIENTO POSTERIOR A QT/RT

LOCALIZACIONES DE LA ENFERMEDAD

Nº Lesión	Tipo	Fecha del examen	Localización (especificar)	Código	Medida Clínica (mm)	Medida Radiológica (mm)
SDLM (RECIST)						

SDL Mayores: _____ mm

% Respuesta: _____

EVALUACION CONTROL No 1 (FECHA: _____)

Examen Clínico: _____

Citología Vaginal: _____

Estudios de Imagen:

TAC ó Rx Tórax (Fecha: _____): _____

TAC Abdomen (Fecha: _____): _____

TAC ó RMN pelvis (Fecha: _____): _____

Laboratorio:

Hematología (Fecha: _____)

- Hemoglobina: _____ g/dL
- Leucocitos: _____ cél/mm³
- Plaquetas: _____ cél/mm³

Bioquímica

- Bilirrubina Total: _____ mg/dL
- TGO: _____ U/L
- TGP: _____ U/L
- Fosfatasa Alcalina: _____ U/L
- Creatinina sérica: _____ mg/dL Depuración Creatinina: _____
- Calcio: _____ mg/dL

FECHA DE RECAÍDA, PROGRESIÓN O MUERTE:

EVALUACION CONTROL No 2 (FECHA: _____)

Examen Clínico: _____

Citología Vaginal: _____

Estudios de Imagen:

TAC ó Rx Tórax (Fecha: _____): _____

TAC Abdomen (Fecha: _____): _____

TAC ó RMN pelvis (Fecha: _____): _____

Laboratorio:

Hematología (Fecha: _____)

- Hemoglobina: _____ g/dL
- Leucocitos: _____ cél/mm³
- Plaquetas: _____ cél/mm³

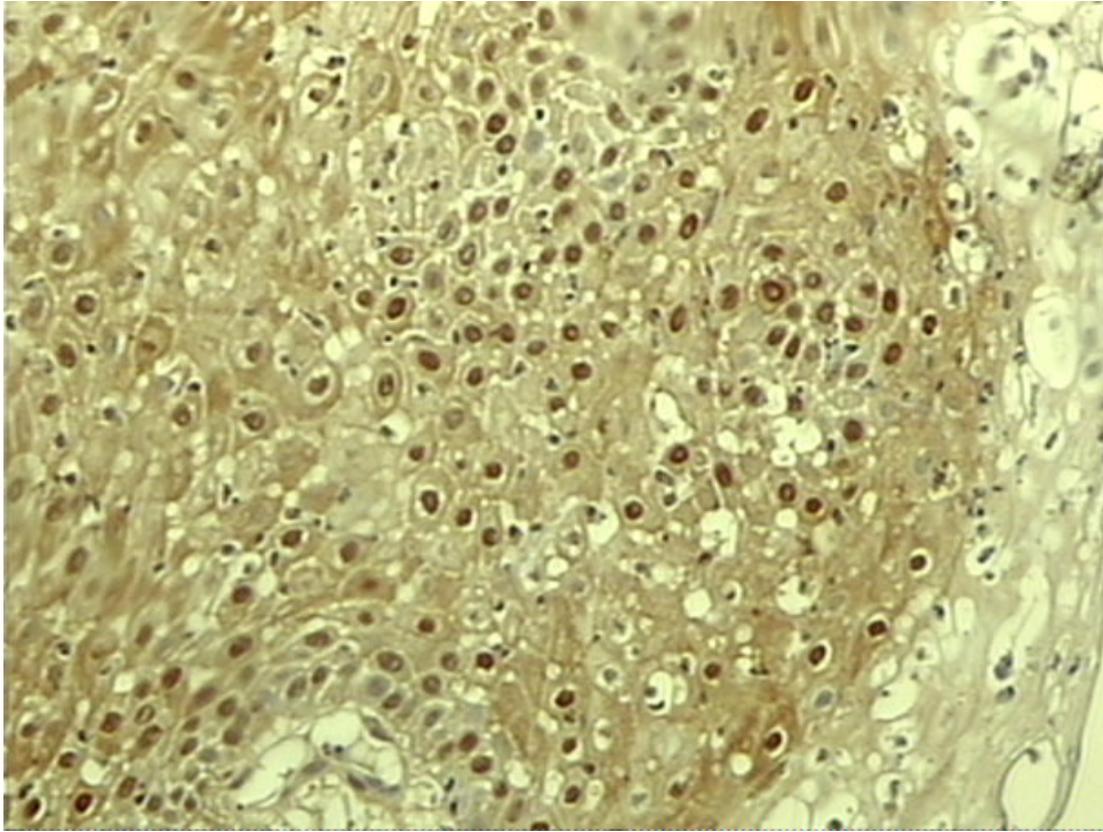
Bioquímica

- Bilirrubina Total: _____ mg/dL
- TGO: _____ U/L
- TGP: _____ U/L
- Fosfatasa Alcalina: _____ U/L
- Creatinina sérica: _____ mg/dL Depuración Creatinina: _____
- Calcio: _____ mg/dL

FECHA DE RECAÍDA, PROGRESIÓN O MUERTE:

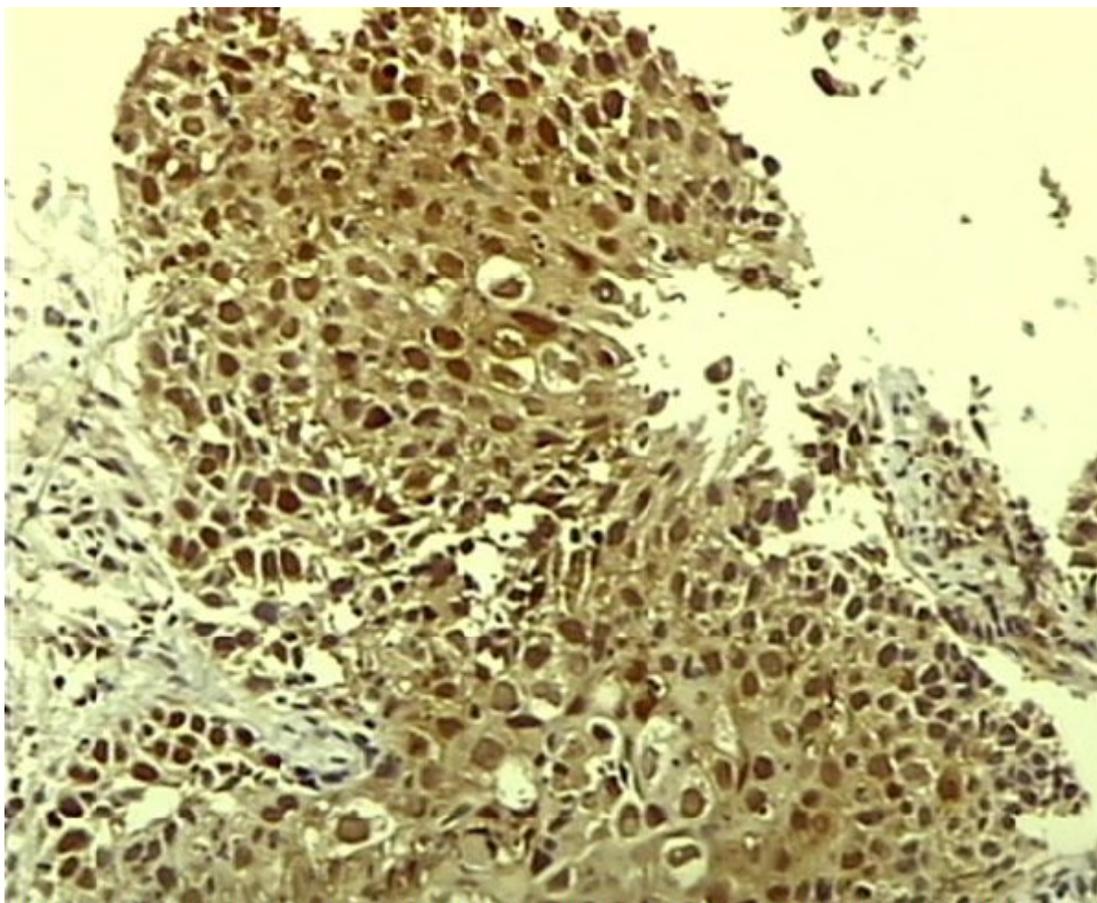
FOTOGRAFIA N°1

EXPRESIÒN INMUNOHISTOQUÌMICA POSITIVA DE PD-ECGF DE
PREDOMINIO NUCLEAR EN UN ADENOCARCINOMA MODERADAMENTE
DIFERENCIADO (PACIENTE CUT49)



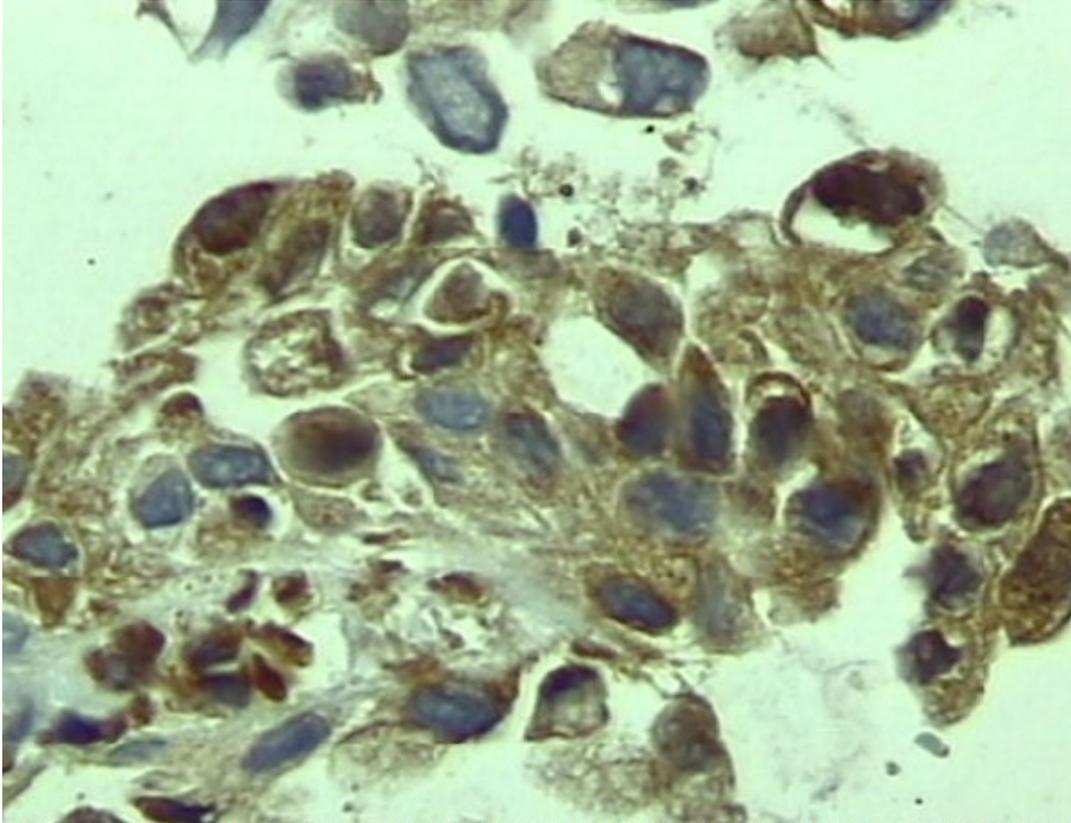
FOTOGRAFÍA N°2

EXPRESIÒN INMUNOHISTOQUÌMICA POSITIVA DE PD-EGF EN UN
CARCINOMA ESCAMOSO MODERADAMENTE DIFERENCIADO
(PACIENTE CUT22)



FOTOGRAFIA N°3

EXPRESIÓN INMUNOHISTOQUÍMICA POSITIVA DEL RECEPTOR KIT EN UN
ADENOCARCINOMA POBREMENTE DIFERENCIADO
(PACIENTE CUT55)



TABLAS DE RELACIÓN ENTRE LAS VARIABLES Y LA EXPRESIÓN DE LAS PROTEÍNAS ESTUDIADAS

Tabla 1

Relación entre la expresión del receptor KIT y el tipo histológico

Histología	Receptor KIT			
	Positivo		Negativo	
	N	%	N	%
Adenocarcinoma	1	50,0	8	18,6
Adenoescamoso	0	0,0	1	2,3
Células claras	0	0,0	3	7,0
Escamoso	1	50,0	30	69,8
Patrón sólido	0	0,0	1	2,3
Total	2	100,0	43	100,0

$\chi^2 = 1,283$ (p = 0,864)

Fuente: Datos propios

Tabla 2
Relación entre la expresión del PD-ECGF y el tipo histológico

Histología	PD-ECGF			
	Positivo		Negativo	
	n	%	N	%
Adenocarcinoma	9	21,4	0	0,0
Adenoescamoso	1	2,4	0	0,0
Células claras	3	7,1	0	0,0
Escamoso	28	66,7	3	100,0
Patrón sólido	1	2,4	0	0,0
Total	42	100,0	3	100,0

$\chi^2 = 1,452$ (p = 0,835)

Fuente: Datos propios

Tabla 3**Relación entre la expresión del receptor KIT y el grado histológico**

	Receptor KIT			
	Positivo		Negativo	
Grado	n	%	N	%
Pobremente diferenciado	1	50,0	7	16,3
Moderadamente diferenciado	1	50,0	18	41,9
Bien diferenciado	0	0,0	4	9,3
Desconocido	0	0,0	14	32,6
Total	2	100,0	43	100,0

 $\chi^2 = 2,090$ (p = 0,554)

Fuente: Datos propios

Tabla 4**Relación entre la expresión del PD-ECGF y el grado histológico**

	PD-ECGF			
	Positivo		Negativo	
Grado	n	%	N	%
Pobremente diferenciado	8	19,0	0	0,0
Moderadamente diferenciado	18	42,9	1	33,3
Bien diferenciado	3	7,1	1	33,3
Desconocido	13	31,0	1	33,3
Total	42	100,0	3	100,0

 $\chi^2 = 2,797$ (p = 0,424)

Fuente: Datos propios

Tabla 5**Relación entre la expresión del receptor KIT y el estadio clínico**

Estadio Clínico	Receptor KIT			
	Positivo		Negativo	
	n	%	n	%
IB2	1	50,0	6	14,0
IIA	0	0,0	1	2,3
IIB	1	50,0	22	51,2
IIIB	0	0,0	14	32,6
Total	2	100,0	43	100,0

 $\chi^2 = 2,295$ (p = 0,514)

Fuente: Datos propios

Tabla 6**Relación entre la expresión del PD-ECGF y el estadio clínico**

Estadio clínico	PD-ECGF			
	Positivo		Negativo	
	n	%	n	%
IB2	5	11,9	2	66,7
IIA	1	2,4	0	0,0
IIB	22	52,4	1	33,3
IIIB	14	33,3	0	0,0
Total	42	100,0	3	100,0

 $\chi^2 = 6,668$ (p = 0,083)

Fuente: Datos propios

Tabla 7**Relación de la respuesta al tratamiento y la expresión del receptor KIT**

	Receptor KIT			
	Positivo		Negativo	
Respuesta al tratamiento	n	%	n	%
Progresión de enfermedad	1	50,0	8	18,6
Respuesta completa	1	50,0	34	79,1
Respuesta parcial	0	0,0	1	2,3
Total	2	100,0	43	100,0

 $\chi^2 = 1,196$ (p = 0,550)

Fuente: Datos propios

Tabla 8**Relación entre la expresión del PD-ECGF y la respuesta al tratamiento.**

	PD-ECGF			
	Positivo		Negativo	
Respuesta al tratamiento	n	%	n	%
Progresión de enfermedad	9	21,4	0	0,0
Respuesta completa	32	76,2	3	100,0
Respuesta parcial	1	2,4	0	0,0
Total	42	100,0	3	100,0

 $\chi^2 = 0,918$ (p = 0,632)

Fuente: Datos propios

Tabla 9

Relación entre la edad y la expresión del receptor KIT

Receptor KIT	n	Mínimo	Máximo	Media	Desv. típ.
Positivo	2	42	43	42,5	0,7
Negativo	43	24	73	45,6	9,9
Total	45	24	73	45,5	9,7

p = 0,663

Fuente: Datos propios

Tabla 10
Relación entre la edad y la expresión del PD-ECGF

PD-ECGF	n	Mínimo	Máximo	Media	Desv. típ.
Positivo	42	24	73	45,6	9,8
Negativo	3	34	51	44,0	8,9
Total	45	24	73	45,5	9,7

p = 0,790

Fuente: Datos propios