SOCIEDAD MEXICANA DE ONCOLOGÍA, A.C.

GACETA MEXICANA DE ONCOLOGÍA

Publicación Oficial de la Sociedad Mexicana de Oncología

Editora en jefe

Dra. Guadalupe Cervantes Sánchez
Jefe de Oncología Clínica, Centro Médico "20 de Noviembre", ISSSTE, México, D.F.

Coeditor

Dr. Francisco J. Ochoa Carrillo
Instituto Nacional de Cancerología

Mesa directiva 2008-2009

Dr. Pedro M. Escudero de los Ríos
Presidente
Dr. Rogelio Martínez Macías
Vicepresidente
Dra. Ana Myryam Silva Uribe
Secretaria
Dra. Patricia Cortés Esteban
Tesorera

Vocales
Dr. Adolfo Fuentes Alburo
Dra. Sandra Sánchez Félix
Dr. Gregorio Quintero Beuló

Coordinador de capítulos
Dr. Daniel Capdeville García

Consejeros
Dr. Rolando Ocampo Le Royal
Dr. Francisco Javier Ochoa Carrillo

Asistente editorial:
Marisela Melchor Melchor

ELSEVIER

Editado por:
Masson Doyma México, S.A.
Av. Insurgentes Sur 1388 Piso 8,
Col. Actipan, C.P. 03230,
Del. Benito Juárez, México D.F.
Tels. 55 24 10 69, 55 24 49 20

Director General:
Alejandro González Peña
Director Editorial:
Mario A. Rodríguez León

Editores asociados

DR. ROLANDO OCAMPO LE ROYAL
Consejero de la Sociedad Mexicana de Oncología
DRA. AURA A. ERAZO VALLE SOLÍS
Jefe de División de Padecimientos Neoplásicos y Proliferativos CMN "20 de Noviembre" ISSSTE
DR. PEDRO M. ESCUDERO DE LOS RÍOS
Director del Hospital de Oncología, CMN "Siglo XXI", IMSS
DR. HUGO FEDERICO RIVERA MÁRQUEZ
Jefe del Servicio de Oncología, Hospital de Pediatría, CMN "Siglo XXI", IMSS
DR. ÉDGAR ROMÁN BASSAURE
Jefe del Servicio de Oncología, Hospital General de México, OD
DRA. AURORA MEDINA SANSÓN
Jefe de la Unidad de Oncología, Hospital Infantil de México "Federico Gómez"
DRA. ROCÍO CÁRDENAS CARDOS
Jefe de la Unidad de Oncología, Instituto Nacional de Pediatría
DR. ALEJANDRO MOHAR BETANCOURT
Director General del Instituto Nacional de Cancerología
DR. EUCARIO LEÓN RODRÍGUEZ
Coordinador del departamento de Hematología y Oncología, Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición "Salvador Zubirán"
DR. FRANCISCO MARIO GARCÍA RODRÍGUEZ
Jefe de la Unidad de Oncología, Hospital Juárez de México
DR. JOSÉ ANTONIO OCEGUERA VILLANUEVA
Profesor Titular del Curso de Cirugía Oncológica, Hospital Civil de Guadalajara
DR. RAMIRO JESÚS SANDOVAL
Secretario de Servicios a la Comunidad UNAM.
DR. RAÚL CASTELLANOS ALEJANDRE
Jefe de Especialidad de Oncología, Hospital Central Norte de Alta Especialidad, Petróleos Mexicanos
DR. GILBERTO SOLORZA LUNA
Ex-Presidente del Consejo Mexicano de Oncología

Sociedad Mexicana de Oncología, A.C.
Tuxpan 59 PH, Col. Roma, México, D.F., C.P. 06760
Tel. 55 74 14 54 / Fax 55 84 12 73
smeo@prodigy.net.mx
www.smeo.org.mx

Dirigida a: Especialistas en oncología y miembros de la Sociedad Mexicana de Oncología
Suscripción: $ 1,000.00
Registro Núm.: 04-2003-090317145700102
Periodicidad: Seis números al año

La SMEO no garantiza, ni directa ni indirectamente, la calidad ni eficacia de ninguno de los productos o servicios descritos en los anuncios u otro material de carácter comercial contenido en este número.

Comité editorial

DR. HUMBERTO BAUTISTA RODRÍGUEZ
Psicooncología
DR. MARIO CUELLAR HUBBE
Sarcomas, partes blandas y óseas
DRA. MA. ELENA CRUZ RAMOS
Prótesis maxilofacial
DR. JOSÉ HÉCTOR REYNALDO ARIAS CEBALLOS
Tumores de cabeza y cuello
DR. JAIME BERUMEN
Biología molecular
DR. JOSÉ MORALES GÓMEZ
Tumores de tórax y mediastino
DR. JUAN MANUEL RUIZ MOLINA
Tumores de colon, recto y ano
DRA. ROSALVA BARRA MARTÍNEZ
Piel y melanoma
DR. ARMANDO FERNÁNDEZ OROZCO
Coordinador Comité Científico
DR. CARLOS EDUARDO ARANDA FLORES
Colposcopia
DRA. ROCÍO DEL SOCORRO CÁRDENAS CARDOS
Oncología pediátrica
DR. EFRAÍN SALAS GONZÁLEZ
Tumores mamarios
DR. JORGE MARTÍNEZ CEDILLO
Oncología médica
DR. PEDRO DE JESÚS SOBREVILLA CALVO
Linfomas
DR. ODILON FÉLIX QUIJANO CASTRO
Tumores ginecológicos
DR. ADRIÁN CRAVIOTO VILLANUEVA
Tubo digestivo alto y hepatobiliopancreático
DRA. ARGELIA LARA
Cuidados Paliativos
DR. NARCISO HERNÁNDEZ TORIZ
Tumores urológicos
DR. CUAUHTÉMOC DE LA PEÑA HINOJOSA
Radioterapia
DR. FERNANDO ALDACO SARVIDE
Página WEB
DR. RAFAEL MEDRANO GUZMÁN
Tumores neuroendocrinos
DR. ADOLFO FUENTES ALBURO
Sociedades internacionales: ASCO, SLACOM Y FLASCA
DR. HÉCTOR GURROLA MACHUCA
Coordinador residentes
DR. HÉCTOR MARTÍNEZ SAÍD
Relación con universidades
DR. GREGORIO QUINTERO BEULÓ
Boletín

Septiembre - Octubre 2009, Vol. 8, Núm. 5

SOCIEDAD MEXICANA DE ONCOLOGÍA, A.C.

GACETA MEXICANA DE ONCOLOGÍA

Contents

Publisher

Cooperative groups in cancer research 173
Dra. Dolores Gallardo Rincón

Original articles

National research prize in radiotherapies. Mexican Oncology Society. Mexican Oncology Congress. October 2008 176
Effects of radiotherapy, chemotherapy and brachytherapy in the burden of HPV-16 and HPV-18 determined by real time PCR in cervical cancer
Floriano-Sánchez Esaú, *et al.*

Oral presentation article. Mexican Oncology Congress. October 2008 184
Human papillomaviruses detection in patients with lack of koilocytosis but presenting nuclear changes in cervical paps
Capdeville-García Daniel, *et al.*

Oral presentation article. Mexican Oncology Congress. October 2008 189
Vitrification in cryotop is a higher efficient technique for the criopreservation of human oocytes
García-Amador Martha I, *et al.*

Contenido

Editorial

Grupos Cooperativos de Investigación en Cáncer 173
Dra. Dolores Gallardo Rincón

Artículos originales

Premio Nacional de Investigación en Radioterapia que otorga la Sociedad Mexicana de Oncología, en el marco del Congreso Mexicano de Oncología. Octubre de 2008 176
Efectos de la radioterapia, quimioterapia y braquiterapia en la carga de HPV-16 y HPV-18 determinados por PCR en tiempo real en el cáncer cervicouterino
Floriano-Sánchez Esaú, et al.

Trabajo de presentación oral. Congreso Mexicano de Oncología. Octubre de 2008 184
Detección del virus del papiloma humano en pacientes sin coilocitosis pero con cambios nucleares en citologías cervicales
Capdeville-García Daniel, et al.

Trabajo de presentación oral. Congreso Mexicano de Oncología. Octubre de 2008 189
Vitrificación en *cryotop:* un método altamente eficaz para la criopreservación de ovocitos humanos
García-Amador Martha I, et al.

Contents

Oral presentation article. Mexican Oncology Congress. October 2008 *195*
Frequency of the variants of aromatase gene (TTTA)n in healthy women and with cancer of breast.
Murillo-Ortíz Blanca, *et al.*

Review article

Breast cancer and pregnancy; a controversial decision between two opposite situations *200*
Ortega-Martínez F, *et al.*

Taste disorders in oncology patients *205*
Sánchez-Lara Karla, *et al.*

Contenido

Trabajo de presentación oral. Congreso Mexicano de Oncología. Octubre de 2008 195
Frecuencia de las variantes del gen de aromatasa (TTTA)n en mujeres sanas y con cáncer de mama
Murillo-Ortíz Blanca, et al.

Artículos de revisión

Cáncer de mama y embarazo: una decisión controverida entre dos situaciones opuestas 200
Ortega-Martínez F, et al.

Trastornos del gusto en pacientes oncológicos 205
Sánchez-Lara Karla, et al.

Grupos cooperativos de investigación en cáncer

La formación de los grupos cooperativos (GC) de investigación en cáncer tiene poco más de 50 años, el mismo tiempo transcurrido desde el inicio del desarrollo de los fármacos antineoplásicos. Estos grupos cooperativos resolvieron en esa época el problema de realizar diseños clínicos y contar con investigadores que pudieran probar la utilidad de estos primeros medicamentos.

El *National Cancer Institute* (NCI) de Estados Unidos congregó inicialmente en el año de 1955 a tres grupos cooperativos: el ECOG (*Eastern Cooperative Oncolgy Group*), el SWOG (*Southwest Oncology Group*) y el Grupo de los Veteranos. En 1958, el NCI creó un Programa de Grupos Cooperativos, cuando ya agrupaba a 17 agencias; hasta la fecha, este programa alberga a 1700 instituciones y cuenta con la colaboración de miles de oncólogos; el resultado es que cada año es posible incluir a más de 22 mil nuevos pacientes en estudios clínicos.

Los GC diseñan estudios clínicos mediante los cuales se intenta responder preguntas específicas e incluyen equipos integrados por investigadores expertos en diferentes áreas de la oncología, se ubican en centros de cáncer, cuentan con médicos comunitarios, enfermeras investigadoras clínicas certificadas y un especialista en aspectos regulatorios.

Es bien sabido el hecho de que los estudios clínicos conducidos por grupos cooperativos, a lo largo de la historia, han hecho grandes aportaciones y han marcado directrices en la terapéutica, el diagnóstico y la prevención del cáncer.

De manera inicial se conformaron en Estados Unidos, Canadá y Europa; con posterioridad surgieron en países asiáticos, mientras que en la región de América Latina y, de modo específico en México, comienzan a notarse esfuerzos para su conformación. Asimismo, debe reconocerse nuestra participación en estudios clínicos globales, que ha sido cada vez más frecuente en las últimas décadas y en la que hemos cumplido con las buenas prácticas clínicas necesarias, al grado de que se nos han avalado como centros de investigación de excelencia.

Los beneficios para los pacientes que participan en estudios clínicos son muy variados, entre ellos los siguientes: acceso a tratamientos promisorios que de otra suerte no serían accesibles; mayor efectividad del tratamiento instalado en comparación con el estándar; posibilidad de que los participantes puedan recibir una atención más cuidadosa respecto de la recibida habitualmente. Desde luego, también existen riesgos; por ejemplo, es posible que el fármaco experimental no sea mejor o que tenga efectos indeseables imprevistos y, en el caso de los estudios aleatorizados, el paciente no puede elegir el brazo de tratamiento al que será asignado. No obstante, incluso así el balance a favor es muy positivo.

Por otra parte, se ha identificado muy bien la necesidad de contar con una colaboración mundial para la conducción de ensayos clínicos en oncología. Este requerimiento ha crecido en la medida en que existe un mayor progreso en la terapéutica y los programas de escrutinio y prevención del cáncer; sin embargo, también se han identificado algunas barreras relacionadas con los aspectos regulatorios, de logística y financiamiento, que pese a todo no deben ser insalvables para lograr una colaboración multiinstitucional. Es preciso maximizar los recursos disponibles cuando la finalidad es mejorar el tratamiento de los pacientes con cáncer en todo el mundo.[1]

En promedio, el tiempo que toma la conformación de un GC es de dos años, desde la concepción de la idea hasta la etapa en que da inicio la inclusión de pacientes. Posteriormente, una vez concluido y analizado el estudio clínico, existen diversos retos que deben enfrentarse con el fin de publicar los resultados, sin perder de vista que sólo uno de cada cinco estudios se publica. Tanto los investigadores como los patrocinadores pueden encontrarse con serias dificultades para que su artículo sea aceptado, sobre todo si los resultados del estudio son negativos, el diseño se considera deficiente o tuvo una insuficiente inclusión de pacientes. Esto es así porque las revistas viven de su factor de impacto y no todos los artículos son rentables; además, hay que tomar en cuenta que 57% a

90% de los estudios que se publican tienen resultados positivos y, por consiguiente, tienen preferencia.

En el caso de los estudios clínicos patrocinados por la industria farmacéutica (IF), es posible que las empresas no deseen publicar resultados que le sean desfavorables. Es de resaltar que la IF se ha convertido en los últimos 15 años en el principal patrocinador de ensayos para nuevos fármacos y que los investigadores académicos contribuyen de manera activa para el desarrollo de ellos.

En muchas ocasiones, la IF es la única que posee los resultados de estos estudios y es probable que tenga muy poco interés en reportarlos cuando éstos no la favorecen. Si bien es cierto que existe un compromiso por parte de las diferentes compañías de dar a conocerlos, incluso si no son los resultados esperados, esta información se traslada a algún dominio de internet que no tiene la difusión de PubMed o MEDLINE. Con alguna frecuencia, no se toma en cuenta de manera cabal que los resultados de un estudio clínico, cualesquiera que sean los resultados obtenidos, deben darse a conocer de la mejor manera, ya que para ese estudio han contribuido profesionales y personas enfermas con la esperanza de que los resultados y esta información pueda acelerar la investigación y contribuir a la mejor atención de los pacientes.[2]

Parte de la solución del problema del financiamiento puede ser enfocar los esfuerzos para realizar los estudios clínicos de la más alta prioridad, para que éstos cuenten con mayores facilidades de financiamiento, y abrir los caminos necesarios para publicar sus resultados, independientemente de cuáles sean.[3]

Hay estudios clínicos que son conducidos por más de un grupo cooperativo, los denominados estudios de intergrupo.

¿Qué es lo que podríamos lograr con la conformación de grupos cooperativos en México?

En primera instancia, pueden realizarse estudios clínicos de iniciativa propia que respondan a preguntas ya identificadas como sustantivas en el área de la oncología, que cuenten con un protocolo de investigación en el que se pueda incluir la cantidad de pacientes necesaria en el menor tiempo posible para responder con la evidencia científica suficiente. Esto es factible únicamente si se dispone de la colaboración de muchos investigadores y varias instituciones nacionales, integrados con un plan de acción y conducción del estudio. El resultado es la conexión y la cooperación interinstitucional, de tal manera que esta suma de esfuerzos logre generar el conocimiento, en los planos individual, institucional, nacional e internacional, y brindar mejores soluciones a nuestros pacientes.

¿Qué se necesita para la conformación de un GC de investigación en cáncer en México?

Se requiere en primera instancia una iniciativa, que puede surgir de una persona, un grupo de individuos, una institución o una asociación con el interés de desarrollar investigación en padecimientos de interés. A continuación debe contar con un acta constitutiva debidamente notariada y darse de alta con un nombre propio ante la Secretaría de Relaciones Exteriores de México.

Es necesario que el GC se constituya como una Asociación Civil, sin fines de lucro, que cuente con lineamientos propios en los que se especifiquen los objetivos, las características de la enfermedad de estudio (incidencia, frecuencia por etapas, distribución nacional de la anomalía), recursos y apoyos para desarrollar investigación en esa enfermedad (o enfermedades), diseño y desarrollo de los protocolos de investigación debidamente sometidos a los Comités de Investigación y Ética. Debe tener un presidente, un secretario, un tesorero, vocales y la conformación de comisiones a desarrollar por parte de sus miembros, y realizar asambleas al menos cuatro veces al año.

En el mes de octubre 2007 nos dimos a la tarea de conformar un Grupo Cooperativo mexicano para la investigación del cáncer de ovario y tumores ginecológicos (GICOM), siguiendo como modelo el Grupo Español de Investigación en Cáncer de Ovario (GEICO). La iniciativa fue muy bien recibida por parte de la comunidad oncológica de nuestro país y ha contado con el apoyo de la Sociedad Mexicana de Oncología y el Instituto Nacional de Cancerología.

GICOM se marcó como objetivo primordial desarrollar investigación clínica, básica y trasnacional en cáncer de ovario y neoplasias ginecológicas, así como contar con una política que permita incidir en actividades académicas, de prevención y detección oportuna, desarrollar trabajo conjunto con centros universitarios como la UNAM y el CINVESTAV, ofrecer guías de manejo que posibiliten la mejor atención integral de las pacientes que sufren este tipo de neoplasias y, por último, basar el desarrollo del trabajo en la colaboración interinstitucional a nivel nacional e internacional.

Hasta la fecha, GICOM agrupa a 140 profesionales de la oncología interesados en este tipo de neoplasias y permite la realización de un esfuerzo colectivo para la reflexión, planeación y discusión, mediante la integración de comités de trabajo.

Fortalece la práctica diaria del profesional dedicado a atender a pacientes con estas afecciones, mediante la difusión de guías de manejo. Realiza asambleas periódicas, en las que se lleva un libro de registro y cuenta con una página web.

GICOM ha sido aceptado como miembro provisional por parte del Intergrupo de Ginecología (GCIG), que alberga a otros 15 grupos cooperativos para el estudio de la ginecología oncológica. Es de resaltar el hecho de que el cáncer de ovario representa sólo alrededor de 4% de todas las malformaciones por cáncer y trabajar en un GC proporciona una gran oportunidad, ya que hace posible reunir la cantidad necesaria de pacientes para responder preguntas específicas.

El GCIG depende del NCI, al igual que otros intergrupos, y se ha propuesto promover una colaboración internacional, gestionar la investigación clínica, desarrollar estudios en tumores ginecológicos raros, estimular la medicina basada en evidencia mediante el desarrollo de estudios clínicos de calidad y fomentar actividades educacionales mediante la divulgación de los resultados de los estudios.

En los intergrupos, los estudios clínicos son sugeridos por uno de los GC que lo integran, que también es responsable del diseño y elaboración del protocolo, asigna un número determinado al estudio, aleatoriza a los pacientes, recolecta, analiza los datos y los publica. Para la inclusión de pacientes se cuenta con el apoyo del resto de los grupos.

En México tenemos sin duda un reto grande para la conformación y mantenimiento de los grupos cooperativos, pero también estamos muy motivados para encontrar los mejores mecanismos y apoyos para lograrlo.

Bibliografía

1. 1 Trimble EL, Abrams JS, Meyer RM, *et al*. Improving cancer outcomes through international collaboration in academic cancer treatment trials. *J Clin Oncol* 2009;27. JCO.2009.22.5771v1.
2. 2. Ramsey S, Scoggins J. Practicing on the tip of an information iceberg, evidence of underpublication of registered clinical trials in oncology clinical trials. *Oncologist* 2008; 13:925-92.
3. 3. Moinpour CM, Denicoff AM, Bruner DW, *et al*. Funding patient-reported outcomes in cancer clinical trials. J Clin Oncol 2007;25:5100-5105.

Dra. Dolores Gallardo Rincón

Médico adscrito al Departamento de Oncología Médica
Presidente del Grupo de Investigación en Cáncer de Ovario y Tumores Ginecológicos de México
Instituto Nacional de Cancerología
Correo electrónico: gnaturaleza@prodigy.net.mx

Premio Nacional de Investigación en Radioterapia

que otorga la Sociedad Mexicana de Oncología, en el marco del Congreso Mexicano de Oncología. Octubre de 2008

Efectos de la radioterapia, quimioterapia y braquiterapia en la carga de HPV-16 y HPV-18 determinados por PCR en tiempo real en el cáncer cervicouterino

Effects of radiotherapy, chemotherapy and brachytherapy in the burden of HPV-16 and HPV-18 determined by real time PCR in cervical cancer

Floriano-Sánchez E,[1] Cárdenas-Rodríguez N,[2] Maldonado-Magos F,[3] Pérez-Zincer F,[3] De la Huerta-Sánchez R,[3] Castro-Marín M.[3]

▹ Resumen

Objetivo: Determinar el número de copias del virus del papiloma humano (HPV-16 y HPV-18) durante el tratamiento del cáncer cervicouterino (CaCu) en estadios avanzados en pacientes tratadas con radioterapia/quimioterapia (RT/QT) o radioterapia (RT) en el Hospital Central Militar.
Material y métodos: Se obtuvieron muestras de tejido cervical en pacientes con CaCu después de dos fases de tratamiento (F1: RT externa y RT/QT con cisplatino; F2: braquiterapia) entre noviembre de 2006 y febrero de 2007 y se determinó el número de copias absolutas del HPV-16 y HPV-18.
Resultados: HPV-16 y HPV-18 fueron los genotipos más frecuentes. Ambos tratamientos del CaCu (RT/QT y RT) redujeron la carga viral al final del estudio.

▹ Abstract

Objective: *Quantify the number of copies of human papillomavirus (HPV-16, -18) during the treatment of cervical cancer (CC) in advanced stage in treated-women with radiotherapy (RT) or radiotherapy/chemotherapy (RT/QT) in the Hospital Central Militar (HCM).*
Material and methods: *Was obtained cervical tissue samples in women with CC after of two treatment phases (F1: external RT and RT/QT with cisplatino, F2: brachyterapy) during november-february 2007. Was determined the absolutes number of copies for HPV-16 or -18.*
Results: *The HPV genotypes more frequent were 16 and 18. Both CaCu treatments (RT/QT and RT) diminished the viral load.*
Conclusions: *Was observed the HPV-16 predominance (HPV-18 in second place) in women with CC, without coexistence of two different types. The viral load (HPV-16 and -18) decreased evidently in CC treatment (RT/QT and RT).*

1 Departamento de Bioquímica y Biología Molecular. Escuela Médico Militar, Universidad del Ejército y Fuerza Aérea. México, D.F. 2 Laboratorio de Neuroquímica, Instituto Nacional de Pediatría, México, D.F. 3 Servicio de Oncología Médica, Hospital Central Militar, Secretaría de la Defensa Nacional. México, D.F.

Correspondencia: Dr. Esaú Floriano Sánchez. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Escuela Médico Militar. Cerrada de Palomas/Esquina Periférico. Col. Lomas de Sotelo. C.P. 11200. Universidad del Ejército y Fuerza Aérea. México, D.F. Teléfono: 5540-7728, ext. 175. *Correo electrónico:* floriano_esa@yahoo.com

Conclusiones: Se encontró el predominio de HPV-16, seguido de HPV-18, en las pacientes con CaCu, sin coexistencia de dos tipos distintos. La carga viral (HPV-16 y HPV-18) disminuyó en forma evidente al finalizar el tratamiento (RT/QT y RT) de las pacientes con CaCu.

Palabras clave: cáncer cervicouterino, HPV-16, HPV-18, PCR en tiempo real, tipificación de HPV, México.

Key words: *cervical cancer, HPV-16, HPV-18, real-time PCR, HPV typing, Mexico.*

▷ Introducción

La infección por el virus del papiloma humano (HPV, por sus siglas en inglés) en países en vías de desarrollo tiene un predominio en las mujeres jóvenes con una frecuencia del 24% entre las pacientes de 25 a 44 años, una incidencia de 90 por cada 100,000 habitantes y una tendencia a incrementarse en ese grupo de edad en un 28% por año. Ésta representa la principal infección por transmisión sexual, con una tasa de incidencia general de 44.9 por cada 100,000 habitantes.[1,2]

En México, cada dos horas muere una mujer por cáncer cervicouterino (CaCu). La tasa de mortalidad es de 16 mujeres por cada 100,000 habitantes.[1] Se registran 3452 casos nuevos por fuente de notificación, de los cuales 108 corresponden a la Secretaría de la Defensa Nacional (SEDENA); la mayoría de los casos se diagnostica en estadios localmente avanzados (IB2-IVA) de acuerdo con la Federación Internacional de Ginecología y Obstetricia (FIGO). El CaCu es uno de los tipos de cáncer más común en mujeres (6% de todas las neoplasias malignas en mujeres). Ocupa el segundo lugar sólo después del cáncer de mama en tasa de mortalidad.

Los procedimientos de diagnóstico molecular se utilizan cada vez más en la valoración de las pacientes con diferentes tipos de cáncer, incluidos los ginecológicos, y en un futuro podrían guiar el tratamiento. Cuando éstos son sensibles y específicos, pueden ser de gran utilidad para el manejo de los pacientes con cáncer; una de las perspectivas más promisorias es la determinación de marcadores moleculares para predecir de manera temprana las recaídas. Puede mencionarse un ejemplo de estos procedimientos moleculares. Benítez-Bribiesca y colaboradores, en pacientes con diagnóstico de CaCu, observaron un incremento de la proteasa catepsina B, la cual se correlacionó directamente con la etapa clínica de la neoplasia; sin embargo, ésta no es específica del CaCu dado que la sintetiza la mayoría de los tumores malignos.[3] En la actualidad, no existe un marcador molecular para el diagnóstico de CaCu que sea sensible, específico y utilizable en el manejo y seguimiento de las pacientes.

Hsiu Ting Tsai y colaboradores realizaron un estudio de casos y controles en etapas precancerosas del cérvix y encontraron que una carga viral elevada de HPV-16 puede ser un indicador de la progresión a una lesión intraepitelial de alto grado (LIEAG) a cáncer.[4] Otras investigaciones mencionan que la relación entre la carga viral del HPV y la gravedad de las lesiones histológicas en el CaCu es controversial; por ejemplo, en el estudio de Sherman y colaboradores (2002) se identificó un número de copias virales bajas en el grupo de LIEAG en comparación con el grupo que tenía lesión intraepitelial de bajo grado (LIEBG), pero se necesita evidencia científica para corroborar esta información. Se concluyó que la infección por HPV de alto riesgo, sin tomar en cuenta la del HPV-16, se relaciona a menudo con el desarrollo de lesiones intraepiteliales en el cérvix uterino. El mayor número de copias virales vinculado con la LIEBG en comparación con la LIEAG debe ser objeto de investigación.[5]

En otros estudios, como los de Lombard (1998) y Burger (1996), el objetivo fue la tipificación del HPV intratumoral; estos especialistas demostraron la frecuencia de HPV en un periodo de cinco años; en el 100% de los pacientes se presentó el genotipo de HPV de riesgo intermedio, HPV-16 en el 58% y HPV-18 en el 38% . En este estudio, la mortalidad fue 2.4 veces mayor para los pacientes con tumores relacionados con HPV-18 respecto de los pacientes con HPV-16 y 4.4 veces más para individuos con tumores vinculados con otro tipo de HPV.[6,7]

En el estudio realizado por Wichai y colaboradores (2001), en el que se cuantificó el número de copias

virales deHPV en plasma y tejido tumoral cervical de pacientes con diagnóstico de CaCu, se sugirió que la presencia de ADN del HPV en el plasma de las pacientes puede utilizarse como un marcador molecular de enfermedad; estos autores reconocieron que el mismo tipo de HPV que descubrieron en plasma lo localizaron en tejido tumoral cervical. En las pacientes con estadio III, que tenían metástasis al inicio de la cuantificación, hallaron un mayor número de copias virales en comparación con las que no tenían tal anomalía; las pacientes positivas para HPV en plasma tuvieron una mayor tendencia a la enfermedad recurrente, ya que cuatro de cada nueve continuaron con CaCu después de un año de seguimiento. Este estudio indica que el número de copias virales del HPV en plasma es específica, pero no sensible, como marcador molecular del diagnóstico de CaCu; asimismo, se observó que puede existir un nexo entre el número de copias virales de HPV con el grado de metástasis o bien una relación con la enfermedad local avanzada, ya que en estadios tempranos del CaCu se observó que el plasma está libre de ADN del HPV.[8]

En un estudio mexicano realizado por el Instituto Nacional de Cancerología (INCAN) en 1999 se buscó también ADN de HPV en plasma de 34 pacientes con diagnóstico de CaCu; se observó que el 70% de los pacientes (24) era positivo a HPV, lo cual representó 70% de la sensibilidad de la prueba, con una especificidad del 100% ya que en las 24 pacientes sin cáncer la prueba fue negativa; los genotipos encontrados fueron: 17 de las 34 pacientes presentaron HPV-16 (50%), mientras que ocho mostraron HPV-18 (20%) y nueve correspondieron a otros tipos virales.[9] Se sabe que el ADN de HPV circulante no es consecuencia de destrucción celular (necrosis o apoptosis), dado que este ADN estaría degradado y por lo tanto no podría amplificarse. Por último, llegaron a la conclusión de que la detección en plasma del ADN de HPV es específica de aquellos pacientes con cáncer invasor y que esta prueba se podría tomar como un marcador de enfermedad residual mínima o como un marcador molecular temprano de recaídas. Tales resultados preliminares pueden ser de gran interés, puesto que la determinación mediante amplificación por reacción en cadena de la polimerasa (PCR) del HPV en las pacientes con CaCu representaría un marcador sensible y altamente específico; empero, sería necesario valorar el comportamiento de la carga viral del HPV durante el tratamiento de la paciente y después la relación con la respuesta a corto y largo plazos al finalizar el tratamiento. La determinación por PCR del HPV en plasma de las pacientes con cáncer de cérvix podría ser un marcador molecular de enfermedad residual y con ello el clínico podría sustentar sus decisiones terapéuticas.

Los resultados anteriores muestran cada vez mayor evidencia de que el número de copias virales es determinante en el pronóstico de la paciente y se ha sugerido que la presencia de neoplasia cervical puede relacionarse con el número de copias virales. Hart y colaboradores llevaron a cabo un estudio prospectivo para relacionar la lesión intraepitelial, el tipo de virus y la carga viral y hallaron que el número de copias virales se vinculaba con la gravedad de la enfermedad y viceversa.[10]

No existen en la literatura trabajos previos en los que se demuestre el comportamiento de la carga viral del HPV durante el tratamiento del CaCu con radioterapia (RT) o radioterapia/quimioterapia (RT/QT) concomitantes; asimismo, no se conoce el efecto que tienen el genotipo del HPV y el número de copias virales residuales sobre la respuesta al finalizar el tratamiento de las pacientes con CaCu, ni tampoco si esto podría ser un factor predictivo o un marcador de enfermedad residual mínima y un indicador de recaídas para guiar una decisión terapéutica. En consecuencia, el objetivo de este estudio fue determinar el número de copias absolutas del HPV (-16 y -18) durante el tratamiento de las pacientes con CaCu en estadios IIIA y IIIB (enfermedad localmente avanzada) tratadas con RT/QT o RT en el Hospital Central Militar (HCM). Para ello se determinó lo siguiente: a) presencia de HPV-16 o HPV-18 en pacientes con CaCu en estadios IIIA y IIIB, según la FIGO; b) número de copias del HPV-16 o HPV-18 al inicio y término de los tratamientos de RT/QT y braquiterapia; y c) análisis de los datos basado en el estadio histopatológico, genotipo de HPV y comportamiento del número de copias en relación con la fase de tratamiento.

▷ Material y métodos

Participantes y tratamientos. Se obtuvieron, previa autorización por consentimiento informado de las pacientes, 69 muestras (biopsias). Se realizó un estudio clínico observacional descriptivo prospectivo en pacientes con diagnóstico de CaCu, derechohabientes del HCM que acudieron al servicio de radioterapia durante el periodo comprendido entre noviembre de 2006 y febrero de 2007 y que reunieron los siguientes criterios: firma del consentimiento informado por parte de las pacientes, aceptación voluntaria para participar en el estudio y pacientes derechohabientes del HCM con CaCu en etapas clínicas IIIA y IIIB.

Se obtuvo historial clínico completo y se efectuó una exploración general y ginecológica de 23 pacientes. Se estadificaron de acuerdo con la clasificación de la FIGO. Se tomó una biopsia para confirmar la estirpe histológica. Se solicitaron estudios básicos y de extensión,

biometría hemática, química sanguínea, examen general de orina, pruebas de funcionamiento hepático, telerradiografía de tórax, ultrasonografía hepática y urograma excretor en caso de requerirlo. Se registró a cada paciente y se inició el esquema de tratamiento.

En la primera fase de tratamiento (F1), todas las pacientes recibieron 20 sesiones de RT externa con acelerador lineal 10 MEV con técnica isocéntrica, dos campos pélvicos paralelos y opuestos, anterior y posterior; la dosis total fue de 4500 cGy en 20 fracciones, tratamiento diario de 225 cGy, con la paciente colocada en decúbito supino. Las pacientes se valoraron en el servicio de oncología médica y fueron objeto de RT/QT concomitante: tres ciclos de QT con 50 mg de cisplatino diluidos en 500 cm^3 de solución salina isotónica. En la segunda fase de tratamiento (F2), luego de un descanso de dos semanas y de acuerdo con las condiciones locorregionales de contar con canal cervical permeable, se inició braquiterapia de alta tasa de dosis de radiación con iridio 192. Se efectuó la exploración general de la paciente y se procedió al examen ginecorrectal completo. Se identificó el cérvix uterino y el canal endocervical y se tomó la segunda biopsia para cuantificación del número de copias del HPV. Se efectuó una histerometría y se realizó la planeación para valorar la dosis de radiación máxima a recto y vejiga. La dosis total de radiación con iridio 192 hacia los puntos A de Manchester fue de 2400 cGy fraccionados en cuatro sesiones, cada una semanal. Al finalizar las sesiones de braquiterapia se tomó la tercera muestra, las biopsias se mantuvieron bajo congelación a -83 °C (Revco® Legaci ULT2186 3-35 Dupont SVVA Refrigerants) hasta su posterior procesamiento.

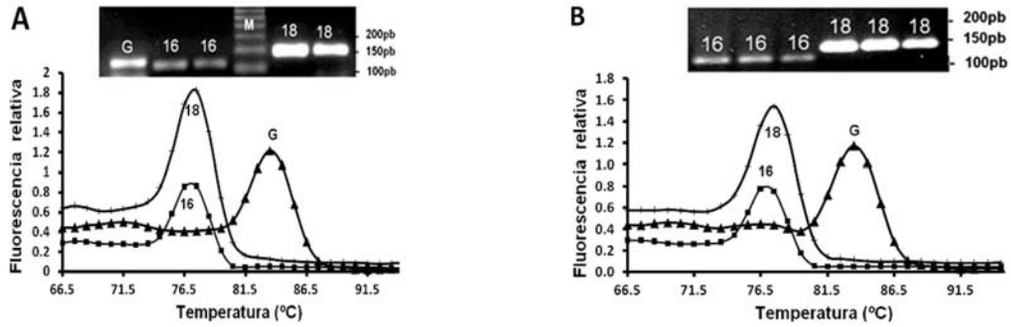
Extracción y cuantificación del ADN. El ácido desoxirribonucleico (ADN) total fue extraído mediante el equipo SV Total DNA Isolation System (Promega, Madison, WI, USA); se tomaron 150 mg de cada una de las muestras con técnica estéril, sin contaminación de las DNAsas, que se homogenizaron con un politrón (Omni μH International), de acuerdo con las indicaciones del proveedor y sin incluir el ADN total; por último, se guardaron a -20 °C para posteriores análisis. La verificación de la integridad del ADN total se realizó por medio de electroforesis en un gel de agarosa al 1.5%; se colocaron 6 μl del ADN total extraído por muestra y se observó el DNA con luz ultravioleta (UV) con el sistema de análisis de electroforesis EDAS 290 (EDAS 290 KODAK, New Havn, CP). La cuantificación del ADN total se realizó por medio de fluorescencia con SYBR Green, con el multidetector Synergy HT-I (BIO-TEK Instruments, Inc. Higland Park, Vermont, USA).

Estandarización de la técnica de PCR en tiempo real (Rotor Gene RG-3000). Para el desarrollo de la PCR en tiempo real se diseñaron oligonucleótidos específicos: para HPV-16, HPV-18 (región L1 del HPV-16 y HPV-18) y para el gen de la enzima gliceraldehído-3 fosfato deshidrogenasa (GAPDH), la cual se utilizó para normalizar la carga de ADN (número de células en tejido procesado). Las secuencias se obtuvieron del GenBank™. La búsqueda de las secuencias se realizó en http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/ para confirmar su especificidad. Los *primers* se sintetizaron (Invitrogen™ Carsbad CA, USA), libres de sales y altamente purificados y se optimizaron a una temperatura de alineamiento de 50 °C. Para HPV-16 fueron los siguientes: primer sentido (Fw), TTTGTTACTGTTGTTGATACTAC; primer antisentido (Rev), GAAAAATAAACTGTAAATCATATTC. Para HPV-18 fueron: Fw, TTTGTTACTGTGGTAGATACC, Rev, GAAAAATAAACTGCAAATCATATTC y GAPDH: Fw, GAGCCAAAAGGGTCATCATCTC, Rev, CCTTCCACGATACCAAAGTTGTC.

Las condiciones para la PCR se optimizaron con un termociclador de gradiente (gradient Px2 Thermal Cycler Hybaid, Franklin, MA) mediante el dispositivo SYBR Green PCR Master Mix (Applied, Biosystems CA). Las secuencias tomadas corresponden a los registros del GenBank™ bajo el siguiente número de accesiones: HPV-16, NC_001526. HPV-18, NC_001357, GAPDH, NM_002046. Los productos de amplificación por PCR en tiempo real se verificaron, se visualizó su peso molecular en pares de base (pb) por electroforesis en un gel de agarosa al 2% con un marcador de 50 pb DNA Ladder (10416-014, Invitrogen Life Technologies, 1600 Faraday Av. Carlsbad, California 92008 EU) y se estudiaron con el sistema de análisis electroforesis EDAS 290 (KODAK, New Haven, CT). Los resultados obtenidos de las amplificaciones, como las condiciones de temperatura, concentraciones de *primers*, dNTP (nucleótidos) y volúmenes, se transfirieron al protocolo de amplificación en tiempo real del sistema de detección Rotor Gene 6.0 (Corbett Life Science, Sidney City, Australia).

Protocolo de PCR en tiempo real Rotor-Gene 3000. Las reacciones de la PCR en tiempo real se realizaron con 10 ng de ADN total; las diluciones para el gen control (GAPDH) y para la cuantificación absoluta de HPV-16 y HPV-18 se efectuaron mediante el dispositivo SYBR Green PCR Master Mix, con la concentración final de los siguientes reactivos: 1X de amortiguador SYBR Green PCR, 25 mM $MgCl_2$, 1 U/μl de AmpErase®UNG (Uracil-N-glucosilasa), 5 U/μl de AmpliTaq Gold DNA polimerasa, mezcla de dNTP (2.5 mM de ATP, 2.5 mM de CTP, 2.5 mM de GTP y 5.0 mM de dUTP), 0.4 μl del *primer forward* (0.4 μM), 0.4 μl del primer reverso (0.4 μM), y 0.8 μl de agua grado molecular, 12.5 μl de volumen

Imagen 1.
Curvas *melting* de amplificados de HPV-16, HPV-18 y GAPDH de controles y muestras.



En (**A**), curvas ***melting*** de los controles; (G) GAPDH (83.5 ºC), (16) HPV-16 (77 ºC), (18) HPV-18 (77.3 ºC). En (**B**), curvas ***melting*** de los amplificados de las muestras; (G) GAPDH (83.5 ºC), (16) HPV-16 (77 ºC), (18) HPV-18 (77.3 ºC). Las curvas ***melting*** se trazaron con el sistema de detección Rotor Gene 6.0; los datos se exportaron a una hoja de cálculo. Los ***melting*** de los controles se tomaron como referencia para verificar y genotipificar los HPV de las muestras; las gráficas de los ***melting*** son representativas de las amplificaciones por triplicado de cada una de las muestras. Como se exponen los ***melting*** de los amplificados de las muestras (**B**), corresponden a los ***melting*** de los amplificados de los controles (**A**). Las figuras en la parte superior de (**A**) y (**B**) son las fotos tomadas con el sistema de análisis EDAS, de las electroforesis en gel de agarosa al 2% de los productos amplificados (G= GAPDH, 16= HPV-16, 18= HPV-18, M= marcador de 50 pb), los cuales fueron los esperados.

final. La reacción se llevó a cabo inicialmente a 94 °C por cinco minutos, seguido de 35 ciclos en la fase de PCR, cada ciclo de 95 °C por 20 seg, 50 °C por 20 seg, 72 °C por 20 seg, con una fase de extensión de 72 °C por cinco minutos y finalmente una fase de desnaturalización con un intervalo de temperatura de 60–98 °C. Para la cuantificación absoluta se construyeron tres curvas estándar con controles positivos (HPV-16, HPV-18 y GAPDH) de genomas de los HPV y del plásmido con el inserto del fragmento blanco del gen GAPDH (fragmento de amplificación de los primeros diseñados para GAPDH), con número de copias conocidas (100,000,000 a 1000 copias/4**ml**, 10,000,000 a 100 copias/4 µl y 100,000,000 a 100 copias/ 4 µl, respectivamente), con la ejecución de seis diluciones seriadas con los rangos mencionados para cada control positivo. Las reacciones de PCR en tiempo real para la cuantificación de las amplificaciones (HPV-16, HPV-18 y GAPDH) se realizaron por triplicado para cada muestra individual, para su análisis posterior. Se amplificó y cuantificó el fragmento del gen control (GAPDH) mediante su curva estándar y se determinó de esa forma el número de células contenidas en los tejidos procesados; este dato se empleó para normalizar el número de copias absolutas de los fragmentos amplificados de los HPV, según el tipo detectado en cada muestra (cociente = HPV-16 o HPV-18/GAPDH). Se verificó el tamaño de los fragmentos amplificados por medio de electroforesis en un gel de agarosa al 2%, tras colocar 4 µl del volumen de amplificación y visualizar las bandas en el gel de agarosa con luz UV, con el sistema de análisis de electroforesis EDAS 290 (EDAS 290 KODAK).

Análisis de los datos. Los datos de los C_T (el C_T se definió como el número de ciclos en el cual la intensidad de fluorescencia aumenta por arriba de la fluorescencia basal de dicha muestra) se analizaron y convirtieron a valores absolutos (número de copias) con el *software* Rotor-Gene 6.0 (Corbett Life Science, Sidney City, Australia); para el cálculo del número de copias se utilizaron las curvas estándar construidas y se normalizaron con el gen control, como se describió con anterioridad. Los productos generados durante el proceso de la PCR se sometieron al protocolo de disociación con intervalo de temperatura de 60–98 °C y se analizaron con el *software* Rotor Gene 6.0; los datos se exportaron y graficaron mediante una tabla de Excel para mostrar la temperatura de disociación (*melting*) característica de cada producto amplificado. La verificación de la especificidad de los *primers* para cada genotipo se realizó tras considerar la función de genotipificación del *software* Rotor Gene 6.0 (Corbett Life Science, Sidney City, Australia), el cual toma como referencia el *melting* de los fragmentos amplificados de los controles positivos (HPV-16, HPV-18 y GAPDH) y los compara con los *melting* de los fragmentos amplificados en cada una de las muestras analizadas.

▷ Resultados

PCR en tiempo real, Rotor-Gene 3000 (amplificaciones, cuantificación absoluta y genotipos). Se tomaron 69 biopsias (al inicio, primera y segunda fases de tratamiento), se obtuvo ADN íntegro y suficiente, se cuantificó por fluorescencia (véase Materiales y métodos) y se realizaron las reacciones de amplificación, cuantificación por PCR en tiempo real y determinación de genotipos; las amplificaciones de los fragmentos (pb) de HPV-16, HPV-18 y GAPDH en cada muestra fueron los esperados (**Imagen 1**), con un incremento exponencial

Tabla 1.
Comportamiento de la carga viral (HPV-16 y HPV-18) de los estadios IIB y IIIB durante el tratamiento con RT o RT/QT

HPV	Estadio	↓ CV F1 RT EX QT*(F1)	↓ CV F2 BRA (F2)	Disminución global	Situación clínica
16	**IIB**	15%	44%	52%	SAT
		35%	59%	74%	SAT
		40%	75%	85%	SAT
		6%	14%	19%	SAT
		28%	50%	65%	SAT
		22%	66%	74%	SAT
		18%	22%	37%	PER
		$^{RT/QT}$32%	12%	40%	SAT
	IIIB	25%	24%	44%	SAT
		$^{RT/QT}$37%	63%	77%	SAT
18	**IIB**	7%	8%	14%	PER
		28%	30%	50%	SAT
		(42%)	**(11%)**	**(202%)**	**SAT**
		RT/QT36%	55%	70%	SAT
		RT/QT37%	10%	43%	SAT
	IIIB	1.1%	5%	5%	PER
		9%	19%	24%	PER
		RT/QT49%	3%	50%	SAT
		RT/QT25%	88%	90%	SAT

Fase 1 y 2. RT: HPV-16, estadios IIb (*n* = 7), IIIb (*n* = 1); y HPV-18, estadio IIb (*n* = 2), IIIb (*n* = 2). RT/QT: HPV-16, estadio IIb (*n* = 1), IIIb (*n* = 1); y HPV-18, estadio IIb (*n* = 3), IIIb (*n* = 2). En la columna de la fase 2 sólo se les aplicó braquiterapia a las pacientes (*n* = 19). SAT: sin actividad tumoral. PER: persistencia. ↓ CV: disminución de la carga viral. El número entre paréntesis y en negritas indica un incremento de la carga viral.

de la fluorescencia seguido de fase de meseta. Las muestras después de la fase de PCR en tiempo real se sometieron al protocolo de disociación de 60–95 °C, el cual indicó el número de productos y tipo de HPV amplificado (**Imagen 1**) en cada tubo, ya que el *software* toma como referencia los *melting* de los controles y los compara con los *melting* de las amplificaciones desconocidas (**Imagen 1**), que en este caso fueron de las 69 muestras obtenidas. Para la cuantificación absoluta se determinó el umbral de fluorescencia para las muestras en la fase de amplificación exponencial para obtener el valor de los C_T (en los tubos con el DNA de las biopsias, curvas estándar y controles positivos); los C_T de cada una de las muestras se convirtieron a valores absolutos tomando como referencia las curvas estándar construidas (HPV-16, r= 0.99020; HPV-18, r= 0.99098; GAPDH, r=0.99788) y se procedió al análisis de los datos según el estadio histopatológico, genotipo de HPV y comportamiento del número de copias de acuerdo con la fase de tratamiento.

Comportamiento del HPV-16 y HPV-18 en las diferentes fases de tratamiento. De las 23 pacientes

Tabla 2.
Respuesta a los diferentes tratamientos de las 23 pacientes.

Tratamiento	Sin actividad tumoral	Con actividad tumoral	Total pacientes
RT/QT/BRA	10 (100%)	0	10
RT/BRA	9 (69%)	4 (31%)	13
Total	19 (82.6%)	4 (17.4%)	23

BRA, braquiterapia (*n* = 23); **RT,** radioterapia; **QT,** quimioterapia.

que ingresaron, se encontró carcinoma epidermoide con predominio de células grandes no queratinizadas en 16 casos (69.5%), células grandes queratinizadas en seis casos (26%) y células pequeñas en un solo caso (4.34%). Al inicio del tratamiento se determinó el número de copias de los dos tipos virales y en sólo cuatro de ellas no se determinó la carga viral porque no tenían los tipos estudiados y, de acuerdo con el estadio histopatológico, se estudió la carga viral en las diferentes fases de tratamiento (**Tablas 1 y 2**). En general, se observó que al final de la primera fase de tratamiento (F1), el número de copias virales disminuyó tanto para el HPV-16 como para el HPV-18 (**Tablas 1 y 2**). En la segunda fase de tratamiento (final de F2), se reconoció que la cantidad de copias virales continuó en descenso para ambos tipos de HPV (**Tabla 1**); además, se advirtió que el estadio histopatológico no se relacionó con un comportamiento característico sobre la cantidad de copias virales, ya que disminuyeron durante ambas fases de tratamiento (**Tabla 1**). Tampoco se presentó un comportamiento característico del número de copias virales en relación con el tamaño tumoral y la influencia de la persistencia del tumor, dado que no se observó un aumento o disminución del número de copias según fuera que el tumor disminuyera o persistiera (**Tabla 1**). Sin embargo, el tipo de tratamiento, en general, influyó en la carga viral y en la actividad tumoral; se observó que las pacientes tratadas con RT/QT más braquiterapia no presentaron una persistencia del desarrollo tumoral y se reconció una mayor disminución del número de copias virales en el estadio IIIB (**Tablas 2 y 3**).

▷ Discusión

La PCR convencional es una de las técnicas más sensibles y adecuadas, desde el punto de vista metodológico, para la detección y cuantificación del HPV.[11,12] Por otro lado, la hibridación *in situ* permite la detección de HPV en forma episomal o integrado al ADN, pero es incapaz de determinar la carga viral; esta limitante no se observa con la metodología de la PCR en tiempo real, la cual hace posible la detección (genotipo) y cuantificación absoluta de los productos generados durante el proceso de

Tabla 3.
Disminución de la carga viral (%) de acuerdo con el estadio y tratamiento.

Estadio	RT EX	BRA	Total
IIB	22.4%	40%	52%
	QT 35%	26%	51%
IIIB	11.7%	16%	24.3%
	QT 37%	51.3%	72.3%

EX, externa; **BRA,** braquiterapia (*n* = 23); **RT,** radioterapia; **QT,** quimioterapia.
El total de la disminución en la última columna se refiere a la reducción de la carga viral entre el inicio y la F2.

la PCR; los reactivos más usados para esta metodología son: ensayos con exonucleasa 5',[13] sondas taqman,[14] sondas beacon[15] y la tecnología de SYBR Green[16]. En este estudio se empleó la tecnología del SYBR Green, que consiste en el uso de un fluoróforo, el cual se intercala en el surco mayor de la doble cadena de ADN, y emite determinada fluorescencia bajo ciertas condiciones.

En el presente trabajo con la metodología de PCR en tiempo real se identificó el genotipo de HPV en las muestras biológicas y se cuantificaron en forma absoluta las copias de HPV. Asimismo, este protocolo fue similar al que realizaron Gravitt y colaboradores, en el cual fue posible determinar por PCR en tiempo real cargas virales indetectables con la técnica de captura de híbridos.[17] En el presente estudio, con objeto de evitar el sesgo respecto del tamaño tumoral, se utilizó un gen control (GAPDH), el cual se presenta como copia única en cada genoma; con ello se controló la cantidad de células contenidas en cada biopsia.[17-23]

En la bibliografía se menciona que una proporción significativa de infección por HPV se atribuye a cuatro tipos virales: 6, 11, 16 y 18. Los tipos HPV-16 y HPV-18 son los causantes de casi el 70% de todos los casos de cáncer cervical. El tipo histológico tumoral en todas las pacientes correspondió al grupo de carcinoma epidermoide; dicho resultado concuerda con lo reportado en la literatura acerca de la prevalencia de este tipo de carcinoma en el CaCu. [24,25] En un estudio que condujeron Dueñas y colaboradores, con una población de 34 pacientes y con la técnica de PCR en tiempo real, se encontró positiva a HPV la totalidad de las pacientes con diagnóstico de CaCu (el estudio se realizó con tejido tumoral cervical). Este resultado fue similar al notificado en el trabajo presente. En el mismo estudio se indicó que 50% de las pacientes fue positivo para HPV-16, 23% para HPV-18 y 27% para otros tipos.[9] En otro trabajo, Pulido y colaboradores encontraron un 61.9% de positividad para HPV-16.[26] Lai y colaboradores cuantificaron bajo ciertas limitaciones el número de copias de HPV mediante la técnica de captura de híbridos al inicio del tratamiento con RT en una población de 114 pacientes y registraron un 28.1% de pacientes negativas para HPV de alto riesgo, 71.9% positivo para HPV de alto riesgo y de estas últimas el 69.5% fue positivo para HPV-16.[27] En el presente estudio se observó que los tipos predominantes en el CaCu fueron el HPV-16 (43.4%), el HPV-18 (39.1%) y otros genotipos (17.3%). Todo ello demuestra que los genotipos más comunes fueron el 16 y 18, tal y como lo constatan también las publicaciones internacionales. Peitsaro y colaboradores determinaron el número de copias virales de muestras de tejido cervical en 24 mujeres con neoplasias intraepiteliales de grados uno a tres mediante PCR en tiempo real y notificaron un número de copias virales totalmente heterogéneas con rangos de 1474 a 4,687,719 copias virales.[28] En el estudio presente, los resultados de cargas virales fueron heterogéneas para un mismo estadio y es probable que no se encuentre relación; los estudios de Dueñas, Moberg y Lukaszuk identificaron resultados similares, lo que hace suponer que el número de copias virales es independiente del estadio.[9, 29, 30]

Tanto en este trabajo como en los realizados por Lai y Yoko Harima se estudió la posible vinculación entre la carga del HPV y la respuesta de la RT, pero no se determinó el comportamiento de la carga viral durante el tratamiento;[27,31] además, se observó que en las pacientes que persistieron con la enfermedad (17.4 %) al finalizar el tratamiento único de RT (F1), disminuyó el valor global del número de copias virales a menos de 40%, aunque se observó una persistencia del volumen tumoral. La explicación de este comportamiento puede encontrarse en factores intrínsecos del paciente, que no permiten establecer un nexo con el estadio de la enfermedad. Otra explicación puede ser la que propusieron Herrera y colaboradores, quienes señalan que el HPV es un inductor de mutaciones en el epitelio cervical; sin embargo, éste no es el único factor que influye en el proceso de carcinogénesis, dado que también son necesarios los factores promotores de la proliferación policlonal y la progresión tumoral;[32] esta explicación se sustenta en la teoría de la regresión propuesta por Hildesheim y colaboradores y Ho y colaboradores, según la cual sólo el 25% de las infecciones primarias por HPV progresa a malignidad, con reducción del número de copias virales. De acuerdo con este teoría, durante el curso clínico de la enfermedad ya están presentes células en progresión hacia el fenotipo maligno, al margen de que el tratamiento inactive al virus. Por lo tanto, aunque el número de copias virales disminuya durante el tratamiento, la enfermedad puede progresar por el daño previo inducido.[33,34]

En el 82.6% de las pacientes estudiadas aquí se observó una reducción del número de copias virales en el CaCu después del tratamiento con RT o RT/QT, lo que apoya los beneficios terapéuticos del uso concomitante de la RT/QT y concuerda con el trabajo de Fakhry y colaboradores (2008), quienes demostraron que existe una relación entre el estado tumoral del carcinoma de células escamosas de orofaringe positivo para HPV-16, 33 y 35 y la respuesta terapéutica, con un incremento registrado del 95% de la supervivencia de los pacientes tratados con quimioterapia.[35] De acuerdo con los resultados obtenidos de este estudio, sería conveniente evaluar la respuesta de las pacientes con CaCu a largo plazo y considerar la evolución clínica, la vinculación en el número de copias virales/estadio de la enfermedad y la relación costo-beneficio para que la carga viral sea un factor pronóstico determinante, dato que cada vez está más fundamentado en las publicaciones y se lo considera ya un factor pronóstico determinante en la sobrevida global y la sobrevida libre del CaCu.[27,30]

Bibliografía

1. Secretaría de Salud. Registro histopatológico de neoplasias malignas. México, 2007.
2. Secretaría de Salud. Sistema único de información para la vigilancia epidemiológica. Dirección General de Epidemiología. México, 2006.
3. Benítez-Bribiesca L, Freyre-Horta R, Gallegos-Vargas G, de la Huerta-Sánchez R, Alfaro-Aceves L. Cathepsin B and antiproteases in patients with carcinoma of the cervix. *Arch Invest Med* 1981;12:517-537.
4. Tsai HT, Wu CH, Lai HL, Li RN, Tung YC, Chuang HY, *et al*. Association between quantitative high-risk human papillomavirus DNA load and cervical intraepithelial neoplasm risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005;14:2544-2549.
5. Sherman ME, Schiffman M, Cox JT. Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance/Low-Grade Squamous Intraepithelial Lesion Triage Study Group. Effects of age and human papilloma viral load on colposcopy triage: data from the randomized Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance/Low-Grade Squamous Intraepithelial Lesion Triage Study (ALTS). *Natl Cancer Inst* 2002;94:102-107.
6. Lombard I, Vincent-Salomon A, Validire P, Zafrani B, De la Rochefordière A, Clough K, *et al*. Human papillomavirus genotype as a major determinant of the course of cervical cancer. *J Clin Oncol* 1998;16:2613-2619.
7. Burger RA, Monk BJ, Kurosaki T, Anton-Culver H, Vasilev SA, Berman ML, *et al*. Human papillomavirus type 18: association with poor prognosis in early stage cervical cancer. *Natl Cancer Inst* 1996;88:1361-1368.
8. Pornthanakasem W, Shotelersuk K, Termrungruanglert W, Voravud N, Niruthisard S, Mutirangura A. Human Papillomavirus DNA in plasma of patients with cervical cancer**.** *BMC Cancer* 2001;1:2
9. Dueñas A, Carrillo A, Fresnedo L, Hinojosa LM, Rojas C, Sánchez NA, *et al*. ADN del virus del papiloma humano en plasma de pacientes con carcinoma cervicouterino: un potencial marcador de enfermedad residual mínima, Departamento de ginecología. *Rev INCan* 1999;45:203-208.
10. Hart KW, Williams OM, Thelwell N, Fiander AN, Brown T, Borysiewicz LK, *et al*. Novel method for detection, typing, and quantification of human papillomaviruses in clinical samples. *J Clin Microbiol* 2001;39:3204-3212.
11. Delvenne P, Fontaine MA, Delvenne C, Nikkels A, Boniver J. Detection of human papillomaviruses in paraffin-embedded biopsies of cervical intraepithelial lesions:analysis by immunohistochemistry in situ hybridization, and the polimerasa chain reaction. *Mod Pathol* 1994;7:113-119.
12. Guerrero E, Daniel RW, Bosch FX, Castellsague X, Munoz N, Gili M, *et al*. **Comparison of ViraPap, Southern hybridization, and polymerase** chain reaction methods for human papillomavirus identification in an epidemiological investigation of cervical cancer. *J Clin Microbiol* 1992;30:2951-2959.
13. Josefsson A, Livak K, Gyllenstein U. Detection and quantitation of human papillomavirus by using the fluorescent 5´exonuclease assay. *J Clin Microbiol* 1999;37: 490-496.
14. Holland PM, Abramsom RD, Watson R, Gelfand DH. Detection of specific polymerase chain reaction product by utilizing the 5´-3´exonuclease activity of Thermus aquaticus DNA polymerase. *Proc Natl Acad Sci* 1991;88:7276-7280.
15. Biedermann K, Dandachi N, Trattner M, Vogl G, Doppelmayr H, More E, *et al*. Comparison of real time PCR signal-amplified in situ hybridization and conventional PCR for detection and quantification of human papillomavirus in archival cervical cancer tissue. *J Clin Microbiol* 2004;42: 3758-3765.
16. Szuhai K, Sandhaus E, Kolkman-Uljee SM, Lemaitre M, Truffert JC, Dirks RW, *et al*. A novel strategy for human papillomavirus detection and genotyping with SybrGreen and molecular beacon polymerase chain reaction. *AJP* 2001;159:1651-1660.
17. Gravitt PE, Burk RD, Lorincz A, Herrero R, Hildesheim A, Sherman ME, *et al*. Comparison between real-time polymerase chain reaction and hybrid capture 2 for human papillomavirus DNA quantitation. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2003; 12:477-484.
18. Jeon S, Lambert PF. Integration of human papillomavirus type 16 DNA into the human genome leads to increased stability of E6 and E7 mRNAs: implications for cervical carcinogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1995;92:1654-1658.
19. Castle PE, Schiffman M, Scott DR, Sherman ME, Glass AG, Rush BB, *et al*. Semiquantitative human papillomavirus type 16 viral load and the prospective risk of cervical precancer and cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005;14:1311-1314.
20. Swan DC, Tucker RA, Tortolero-Luna G, Mitchell MF, Wideroff L, Unger ER, *et al*. Human papillomavirus (HPV) DNA copy number is dependent on grade of cervical disease and HPV type. *J Clin Microbiol* 1999;37:1030-1034.
21. Tsai HT, Wu CH, Lai HL, Li RN, Tung YC, Chuang HY, *et al*. Association between quantitative high-risk human papillomavirus DNA load and cervical intraepithelial neoplasm risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005;14:2544-2549.
22. Fontaine J, Gravitt P, Duh LM, Lefevre J, Pourreaux K, Hankins C, *et al*. High level of correlation of human papillomavirus-16 DNA viral load estimates generated by three real-time PCR assays applied on genital specimens. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005;14:2200-2207.
23. Pornthanakasem W, Shotelersuk K, Termrungruanglert W, Voravud N, Niruthisard S, Mutirangura A. Human papillomavirus DNA in plasma of patients with cervical cancer. *BMC Cancer* 2001;1:2.
24. Muñoz N, Bosch FX, De Sanjosé S, Herrero R, Castellsague X, Shah KV, *et al*. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *N Engl J Med* 2003;348: 518-527.
25. Daling JR, Madeleine MM, Schwartz SM, Shera KA, Carter JJ, McKnight B, *et al*. A population based study of squamous cell vaginal cancer: HPV and cofactors. *Gynecol Oncol* 2002;84:263-270.
26. Pulido HA, Peyton CL, Joste NE, Vargas H, Wheeler CM. **Human papil**lomavirus type 16 integration in cervical carcinoma in situ and in invasive cervical cancer**.** *J Clin Microbiol* 2006;44:1755-1762.
27. Lai HC, Sun CA, Yu MH, Chen HJ, Liu HS, Chu TY. Favorable clinical outcome of cervical cancers infected with human papilloma virus type 58 and related types. *Int J Cancer* 1999;84:553-557.
28. Peitsaro P, Johansson B, Syrjänen S. Integrated human papillomavirus type 16 is frequently found in cervical cancer precursors as demonstrated by a novel quantitative real-time PCR technique. *J Clin Microbiol* 2002;40:886-891.
29. Moberg M, Gustavsson I, Gyllensten U. Real-time PCR-based system for simultaneous quantification of human papillomavirus types associated with high risk of cervical cancer. *J Clin Microbiol* 2003;41:3221-3228.
30. Lukaszuk K, Liss J, Wozniak I, Emerich J, Wójcikowski C. Human papillomavirus type 16 status in cervical carcinoma cell DNA assayed by multiplex PCR. *J Clin Microbiol* 2003;41:608-612.
31. Harima Y, Sawada S, Nagata K, Sougawa M. Human papilloma virus (HPV) DNA associated with prognosis of cervical cancer after radiotherapy**.** *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2002;52:1345-1351.
32. Herrera GA, Granados GM. Manual de Oncología. Procedimientos médico quirúrgicos. México, 2003.
33. Hildesheim A, Schiffman MH, Gravitt PE, Glass AG, Greer CE, Zhang T, *et al*. Persistence of type-specific human papillomavirus infection among cytologically normal women. *J Infect Dis* 1994;169:235-240.
34. Ho GY, Bierman R, Beardsley L, Chang CJ, Burk RD. Natural history of cervicovaginal papillomavirus infection in young women. *N Engl J Med* 1998;338:423-428.
35. Fakhry C, Westra WH, Li S, Cmelak A, Ridge JA, Pinto H, *et al*. Improved survival of patients with human papillomavirus-positive head and neck squamous cell carcinoma in a prospective clinical trial. *J Natl Cancer Inst* 2008;100:261-269.

Trabajo de presentación oral. Congreso Mexicano de Oncología. Octubre de 2008

Detección del virus del papiloma humano en pacientes sin coilocitosis pero con cambios nucleares en citologías cervicales

Human papillomaviruses detection in patients with lack of koilocytosis but presenting nuclear changes in cervical paps

Capdeville-García D,[1] Martínez-Garza SG,[2] Gutiérrez-Constante S,[2] Coronado-Pérez H,[3] Piña-Aguilar RE,[2] Gutiérrez-Gutiérrez AM.[2]

▹ Resumen

Objetivo: Detectar la presencia del virus del papiloma humano (VPH) en pacientes con citología normal sin coilocitosis pero con cambios nucleares y correlacionarla con los datos colposcópicos.
Material y métodos: Se utilizó PCR e hibridación reversa en línea para reconocer la presencia de 27 tipos de VPH. Se analizaron 50 muestras consecutivas con citología normal, pero con cambios nucleares: células de tipo superficial o intermedio con citoplasma y cromatina normal; el núcleo tiene tamaño normal o un incremento discreto en el diámetro y presenta el contorno angulado o espiculado; no hay coilocitosis. La colposcopia y citología se realizaron el mismo día.
Resultados: Ocho de las 50 (16%) muestras presentaron VPH. Los VPH encontrados fueron seis de tipo de alto riesgo, uno de probable alto riesgo y uno de bajo riesgo. En 24/50 (48%) de las colposcopias efectuadas se encontraron zonas acetorreactivas indicativas de VPH.
Conclusiones: Los cambios nucleares encontrados en estas citologías normales se relacionan en 16% con la

▹ Abstract

Objective: *To detect HPV DNA in patients with lack of koilocytosis but presenting nuclear changes in cervical paps and to correlate them with colposcopic features.*
Material and methods: *HPV Consensus PCR and Line blot genotyping were used to demonstrate the presence of 27 type of HPV. Fifty consecutive cytobrushes were analyzed after the pap smear was diagnosed as normal smear but presenting nuclear changes: superficial and intermediate cells with normal cytoplasm, normal chromatin, normal o enlarged nuclei and irregularities in nuclear contour (angulations starlike) without koilocytosis). Colposcopy examination and pap smear were realized the same day.*
Results: *HPV DNA was presented in 8 of 50 samples (16%). Six high risk HPV, 1 probably high risk and 1 low risk HPV were found. Forty eight percent (24/50) of the patients presented acetowhite lesions suggesting the presence of HPV.*
Conclusion: *The nuclear changes found in these normal smears showed a 16% of association to HPV DNA, which it discards a direct relationship. However, 75% with HPV infection diagnosed by molecular test had acetowhite lesions suggesting the*

1Departamento de Oncología, Hospital Aranda de la Parra. León, Guanajuato, México.
2Instituto de Ciencias en Reproducción Humana Vida-León, Plaza las Américas 115, Col Jardines del Moral. León, Guanajuato. México.
3Departamento de Patología, Hospital Aranda de la Parra, León, Guanajuato, México.

Correspondencia: Dra. Sandra G. Martínez-Garza. Plaza las Américas 115; Colonia Jardines del Moral, León, Guanajuanto. México. Teléfono: (477) 717-3809, Fax: (477) 779-0836.
Correo electrónico: samartin30@yahoo.com

presencia de VPH, lo cual descarta una relación directa. Sin embargo, de las muestras que presentaron VPH, 75% mostró datos consistentes con VPH por colposcopia. Es de gran importancia realizar la detección de VPH en pacientes con una colposcopia positiva.

Palabras clave: colposcopia, diagnóstico molecular, PCR, México.

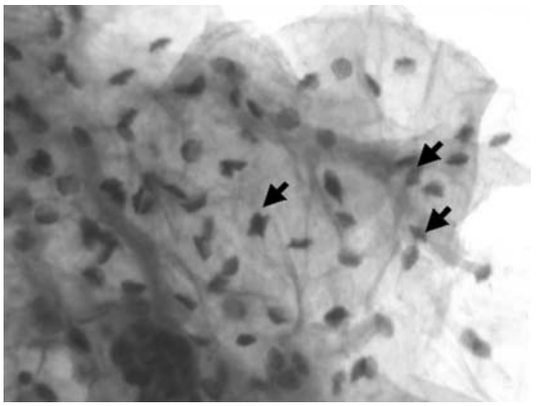
presence of HPV. This information allows us to suggest that all positive colposcopies should have an HPV test.

Key words: *colposcopy, molecular diagnosis, PCR, Mexico.*

▷ Introducción

En la República Mexicana, el cáncer cervicouterino (CaCu) es un importante problema de salud.[1] Sin embargo, a pesar de las grandes campañas realizadas con el fin de llevar a cabo una detección oportuna del CaCU,[2] éste se reconoce aún en etapas avanzadas y por consiguiente se incrementa el número de muertes por dicha causa. A lo largo de tres décadas se ha evidenciado el papel etiológico del virus del papiloma humano (VPH) en el CaCu.[2] En este país, la detección del CaCU y las lesiones premalignas se realiza con el diagnóstico citológico y el informe histopatológico de biopsias del cérvix. El diagnóstico citológico de la infección por VPH en el cérvix se fundamenta en el reconocimiento de la célula conocida como coilocito. No obstante, este criterio citológico no siempre está presente y existen lesiones detectadas por colposcopia y biopsia en las que el patrón corresponde al de una lesión viral y, pese a ello, en el estudio citológico no se demuestran los datos citopáticos de la lesión por VPH. En vista de lo anterior, como estudio preliminar se revisaron 50 biopsias de cérvix en las cuales se encontraron los criterios de la lesión de VPH en el epitelio ectocervical, siempre y cuando el estudio citológico se hubiera interpretado como normal o sin cambios de lesión viral. En dichas biopsias, además de los cambios característicos a VPH, se identificaron células con cambios nucleares: células de tipo superficial o intermedio que no tienen alteraciones en el citoplasma; el núcleo muestra un tamaño normal o apenas crecido en el diámetro y posee un contorno angulado o espiculado. La cromatina corresponde a grumos finos y homogéneos; no se observan coilocitosis (**Imagen 1**). Estos cambios también estaban presentes en las citologías de estas pacientes. Tal alteración citológica puede relacionarse con el VPH y corresponder a una imagen inicial o anterior a la aparición del coilocito.

Imagen 1.
Citología. Tinción de Papanicolaou (100x). Las células con cambios nucleares están señaladas con flechas.



Con base en estos datos preliminares y la observación de que tales cambios nucleares están relacionados con los cambios citológicos limítrofes vinculados con VPH,[3] se decidió analizar a un grupo de pacientes con citologías normales y estos cambios nucleares. Los propósitos del estudio fueron los siguientes: a) conocer el porcentaje de VPH en estas lesiones; b) determinar una posible relación entre VPH y dichos cambios nucleares; y, c) correlacionar la presencia de VPH con los hallazgos evidenciados por colposcopia. Los resultados de este estudio tratan de analizar si los cambios nucleares pueden anteceder a la aparición de los coilocitos producidos por la infección de VPH.

▷ Material y métodos

Sujetos

Previa firma del consentimiento informado, autorizado por el comité de ética, se incluyó a 50 mujeres con

diagnóstico citológico normal pero con cambios nucleares (un mínimo de 15 células con estos cambios nucleares presentes en la citología). Al momento de obtener la segunda citología, se recolectó el cepillo utilizado para realizar la preparación de la laminilla y se depositó en PBS (amortiguador de fosfatos). Con posterioridad se llevó a cabo la colposcopia. Las células cervicales se conservaron a –20 °C hasta obtener el resultado de la citología. Además, se recogió un historial clínico para identificar los principales factores de riesgo relacionados con la infección de HPV: nombre, edad, toma de la muestra, apta para citología, antecedente familiar de cáncer, quiénes y dónde, número de parejas sexuales, uso de preservativo, menarca, edad de primera relación sexual, fecha de la última menstruación, embarazos, partos, cesáreas, abortos, anticonceptivos orales, anticonceptivos hormonales, antecedentes de infecciones vaginales, reporte de citología, informe de detección de VPH, informe de colposcopia.

Citologías

Las muestras se fijaron y procesaron con la técnica convencional de Papanicolaou. Los frotis se analizaron en un microscopio Zeiss convencional de luz transmitida a un aumento de 100x. Todas las citologías las revisó el mismo patólogo.

Detección de VPH

1. Extracción del ADN

El tubo que contenía el cepillo se agitó mediante un vórtex para desprender las células cervicales; luego se centrifugó para recuperar el botón celular. Éste se digirió para liberar el ADN en buffer "TE-9" con adición de proteinasa K y se incubó en agitación; a continuación se realizaron dos extracciones fenol-cloroformo, de las cuales se recuperó el sobrenadante para después precipitar el ADN con sales y etanol; luego, al secarse la pastilla, se reconstituyó el ADN en TE 1X. Su cuantificación se realizó mediante densitometría con el fotodocumentador Gel Doc 2000.

2. Detección del ADN del VPH

La detección y tipificación de VPH se llevó a cabo con el dispositivo HPV Consensus PCR and Genotyping donado por Roche Molecular Systems, Inc. En este instrumento se amplifica el DNA del tejido cervical mediante la PCR con la utilización de los iniciadores My09/My11 que se aparean a la región L1 del genoma del VPH (capaces de amplificar una gran variedad de tipos de VPH). En todas las reacciones se incluyó un par de iniciadores para el gen de la globina β, el cual sirvió como control interno para demostrar la presencia del DNA genómico amplificable. En seguida, el producto amplificado, marcado previamente durante la amplificación con biotina, se transfirió a las tirillas de nitrocelulosa mediante la técnica de hibridación reversa en línea y se mostró la hibridación mediante una reacción de quimioluminiscencia. Las membranas poseen oligonucleótidos específicos para la tipificación de 27 tipos de VPH. Las tirillas de nitrocelulosa contienen unidas las sondas específicas para cada tipo de VPH en diferentes posiciones a lo largo de ella, de tal manera que posteriormente es posible determinar el tipo de VPH de acuerdo con la posición donde se apareó o "pegó" el producto amplificado a partir del ADN de las células cervicales.

Tabla 1.
Características de la población estudiada

	Rango	Media	DE
Edad (años)	20-48	33	7
Embarazos	0-6	1.84	1.52
Partos	0-4	1	1.27
IVSA (años)	14-32	22.7	3.49
CS	1-4	1	1

IVSA, inicio de vida sexual activa; **CS,** compañeros sexuales; **DE,** desviación estándar.

Colposcopia

Las tomas de las citologías, así como las colposcopias, las efectuó la misma ginecóloga. Se realizaron de manera convencional de acuerdo con la técnica de Schiller con ácido acético al 5% en un colposcopio Vasconcelos con una lente 40x y aumentos de 10, 16 y 25x.

Métodos estadísticos

De las variables analizadas se obtuvieron porcentajes, medias y desviación estándar. Para el análisis de las medias se utilizó la t de Student y para las variables dicotómicas la prueba de Fisher.

▷ Resultados

El total de las muestras incluidas en el estudio se analizó por citología y biología molecular sin dificultad alguna. La edad de las pacientes y los antecedentes ginecoobstétricos de cada una de las personas se describen en la **Tabla 1.** Las respuestas de las pacientes acerca de los métodos de anticoncepción usados fueron las siguientes: 76% utilizaba preservativo, 6% anticonceptivos orales, 8% sufría una obstrucción tubaria bilateral y 10% no usaba ningún método.

Imagen 2.
Amplificación de VPH. Gel de agarosa al 2% en el cual se observan algunos de los productos amplificados a partir del ADN; la banda de 268 pb corresponde a una porción del gen de la globina β (control interno) y la banda de 450 pb a la amplificación del HPV. M, marcador de peso molecular; -: control negativo; +: control positivo (muestra con VPH 16).

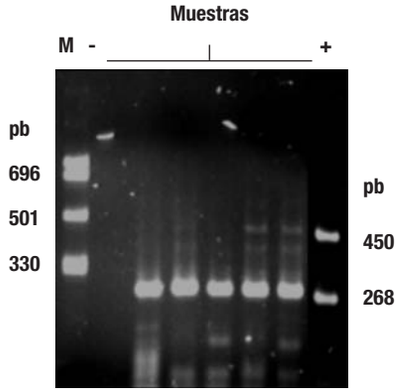
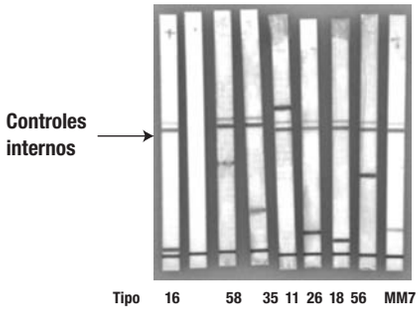


Imagen 3.
Tipificación de VPH. Tiras para tipificar los 27 tipos de VPH; se puede observar que las sondas del control interno son positivas en todas las muestras, con excepción del control negativo; -: control negativo; +: control positivo (muestra con VPH 16); las últimas ocho tiras corresponden a pacientes.



De las 50 pacientes estudiadas, 24 (48%) presentaron áreas acetorreactivas durante la colposcopia, un signo indicativo de la presencia de HPV. El VPH se detectó por PCR en ocho (16%) de las 50 muestras analizadas (**Imágenes 2 y 3**). De las ocho muestras que presentaron VPH, seis fueron de alto riesgo (tipos 58, 35, 18, 56 [*n* = 2] y MM7), una de probable riesgo alto (tipo 26) y sólo una muestra presentó HPV tipo 11 de bajo riesgo. No se presentaron coinfecciones en ninguna de las muestras. En la **Tabla 2** aparecen un resumen de las muestras en las cuales se detectó VPH y el resultado de la colposcopia. Se agrupó a las personas en pacientes con VPH y sin VPH para reconocer la relación entre las características sexuales; no se reconocieron diferencias de relevancia estadística en ninguno de los grupos (**Tabla 3**).

▷ Discusión

A pesar de los esfuerzos de los programas de detección temprana del CaCU, estas campañas no han sido eficaces en México por diversas razones y la enfermedad es aún un importante problema de salud pública, toda vez que es la primera causa de muerte por cáncer en mujeres mexicanas. Por ello se propuso realizar este estudio, con la finalidad de buscar las características indicativas de

Tabla 2.
Características de las muestras con VPH

No. muestra	Tipo del VPH	Característica del VPH	Resultado de colposcopia
8A	58	Alto riesgo	Positiva
9A	35	Alto riesgo	Negativa
13A	11	Bajo riesgo	Positiva
26A	26	Probable alto riesgo	Positiva
31A	18	Alto riesgo	Positiva
35A	56	Alto riesgo	Positiva
43A	MM7	Alto riesgo	Negativa
45A	56	Alto riesgo	Positiva

Tabla 3.
Características de las pacientes con y sin infección de HPV

Características	Infección de HPV *n = 8*	Sin infección de HPV *n = 42*
Edad	29.8 ± 6.7	33.2 ± 7.2
Embarazos	1 ± 2	2 ± 2
Partos	1 ± 1	1 ± 1
IVSA (años)	21.8 ± 4.6	22.9 ± 3.3
CS	1.8 ± 1.3	1 ± 0
Colposcopia positiva	6 (75%)	18 (43%)
Uso de condón	2 (33.3%)	10 (23.8%)

IVSA, inicio de vida sexual activa; **CS,** compañeros sexuales.

infección por VPH en citologías diagnosticadas como normales y, de esta forma, sugerir el diagnóstico molecular del VPH cuando sea necesario.

El diagnóstico de cambios nucleares en citologías de apariencia normal se vincula en 16% con la presencia del VPH, mientras que por medios colposcópicos este porcentaje es mayor (48%). Es importante señalar que estas muestras se diagnosticaron como normales en el Sistema Bethesda[4] y, según los estudios realizados en la población mexicana, el porcentaje de VPH en mujeres controles oscila entre 17% y 21%;[5-7] en el plano internacional se ha encontrado una cifra de 10.4%,[8] por lo que el porcentaje de 16% encontrado en este estudio se halla dentro del rango general. Es posible concluir que los cambios nucleares no parecen tener un vínculo con la infección por VPH, ya que la frecuencia de VPH es similar a la informada en citologías normales. Sin embargo, es todavía una interrogante saber si el virus no inflige un daño citológico antes de su eliminación.

Un hallazgo importante es que de las muestras que presentaron VPH, 75% (6/8) mostró datos indicativos de VPH por colposcopia. Sin embargo, no son claros los mecanismos subyacentes en el 43% de las muestras que fueron positivas por colposcopia, pero negativas para la detección de ADN de VPH. En consecuencia, los autores sugieren que las muestras positivas por colposcopia se sometan a la detección de VPH.

No se encontró relación entre ninguna de las características sexuales en los grupos de pacientes con VPH y sin él.

En México se ha observado que hasta 94% de los CaCU presenta VPH; los más frecuentes son los tipos 16 (48.8%), 18 (18.4%), 58 (15.4%) seguidos de varios tipos de VPH en bajo porcentaje.[5] En otro estudio en el que se analizaron muestras de citologías normales, los tipos de VPH más frecuentes fueron 16, 53, 31 y 18 (la frecuencia no fue mayor de 1.7%).[7] En este estudio, el VPH más frecuente fue el 56 (4% de toda la población) y todos los demás tuvieron una proporción de 2% (18, 58, 35, 11, 26 y MM7). A nivel mundial, las mujeres están infectadas con los tipos 16, 18 o ambos, en un porcentaje de 32%. Estas diferencias se pueden explicar por las características poblacionales y la dinámica epidemiológica de cada país.

Sin duda, la información encontrada aporta datos importantes para la epidemiología molecular de la población mexicana y corrobora resultados anteriores indicativos de que la infección está presente aun con una citología normal. Este estudio permitió demostrar que los cambios nucleares no se vinculan con la infección de VPH. Sin embargo, al estar presentes en estas citologías es posible un nexo con otro tipo de infecciones.

Los resultados del presente trabajo sugieren que en pacientes con citologías normales y datos consistentes con infección por VPH observados por colposcopia sería de utilidad la detección de VPH, de tal manera que pueda instituirse un seguimiento más estrecho en estas pacientes.

Bibliografía

1. Dirección General de Epidemiología, Secretaría de Salud. Registro Histopatológico de Neoplasias en México. México: Secretaría de Salud, 2000.
2. Muñoz N, Bosch X, San José S. Herrero R, Castellsagué X, Shah D, *et al*. Epidemiologic Classification of Human Papillomavirus Types Associated with Cervical Cancer. *N Engl J Med* 2003;348:518-27.
3. Usman F, Hammond R. Cervical screening: management of patients referred for colposcopy with smear abnormalities less severe than dyscaryosis. *Cytopathology* 1998;9:100-106.
4. Solomon D, Nayar R. The Bethesda System for reporting cervical cytology. Definitions, criteria and explanatory notes. New York: Springer, 2004.
5. Montoya-Fuentes H, Suarez-Rincón AE, Ramírez-Muñoz MP, Arévalo-Lagunas I, Moran-Moguel MC, Gallegos-Arreola MP, *et al*. The detection of human papillomavirus 16, 18, 35 and 58 in cervical-uterine cancer and advanced degree of squamous intraepithelial lesions in western Mexico: clinical-molecular correlation. *Ginecol Obstet Mex* 2001;69:137-142.
6. Hernández-Hernández DM, Ornelas-Bernal L, Guido-Jiménez M, Apresa-García T, Alvarado-Cabrero I, Salcedo-Vargas M, et al. Association between high risk human papillomavirus DNA load and precursor lesions of cervical cancer in Mexican women. *Gynecol Oncol* 2003;90:310-317.
7. Lazcano-Ponce E, Herrero R, Muñoz N, Cruz A, Shah KV, Alonso P, Hernández P, *et al*. Epidemiology of HPV infection among Mexican women with normal cervical cytology. *Int J Cancer* 2001;91:412-420.
8. de Sanjosé S, Diaz M, Castellsagué X, Clifford G, Bruni L, Muñoz N, *et al*. Worldwide prevalence and genotype distribution of cervical human papillomavirus DNA in women with normal cytology: a meta-analysis. *Lancet Infect Dis* 2007;7:453-9.

Trabajo de presentación oral. Congreso Mexicano de Oncología. Octubre de 2008

Vitrificación en *cryotop:* un método altamente eficaz para la criopreservación de ovocitos humanos

Vitrification in cryotop is a higher efficient technique for the criopreservation of human oocytes

García-Amador MI,[1] Chávez-Badiola A,[1] Medina-Flores J,[1] Montoya-Sarmiento JE,[2] Quiroz-Torres E,[1] Martínez-Armas R,[1] Ruvalcaba-Castellón LA.[1]

▹ Resumen

Objetivo: Dar a conocer la evolución de 1319 ovocitos humanos vitrificados en un centro de reproducción asistida en Guadalajara, México.
Material y métodos: Se vitrificaron los ovocitos excedentes de 79 pacientes en 88 ciclos de fecundación *in vitro* y 123 ciclos de donantes de julio del 2004 a diciembre del 2008. Se realizó una estimulación ovárica con FSHr o menotropinas, de acuerdo con la conveniencia clínica y la GnRh antagonista. Se aspiraron los ovocitos 36 h después de la administración de 10,000 UI de hCG. Los ovocitos maduros se colocaron en un plato de cultivo con una gota de 30 µl de solución de lavado y dos de solución de equilibrio (etilenglicol al 7.5% y dimetilsulfóxido [DMSO] al 7.5%) y se crearon puentes entre ellas cada dos a tres minutos. Luego se depositaron en la solución de vitrificación (etilenglicol al 15%, DMSO al 15% y sucrosa, 0.5 M). De ésta, se aspiraron y depositaron en la superficie del *cryotop* y éste se sumergió directamente en un recipiente con nitrógeno líquido para la colocación de su cubierta protectora. Se efectuó la

▹ Abstract

Objective: *Describe the evolution of 1319 human oocytes vitrificated in cryotop of an assisted reproduction centre in Guadalajara, México.*
Material and methods: *In instance was vitrificated the oocytes excessive of the cycle in fresh of 79 patients summated in vitro fertilization cycle and 123 donation cycles of July 2004 to December 2008. The oocytes were separated of the cumulus and submerged in a balanced solution (ethylene glycol 7.5% y dimethyl sulphoxide –DMSO 7.5%) 10 minutes, afterwards were deposited in a composed vitrification solution of (ethylene glycol 15%, DMSO 15% and sucrose 0.5M) in which case were aspirated to be deposit in the cryotop and then submerged directly in a depository with liquid nitrogen, so it can be covered protected. Afterwards, they were thawed by a thaw solution and washed in two fazes (WS-1 y WS-2) (Kit-Kitazato-Japan). The survivor oocytes were microinjected (ICSI). The embryos were transferred in day 2 under ecographic guide.*
Results: *Were thawed 1319 oocytes with 90.2% survival (Table 1). We transfer embryos in day two of development to 199 patients in 257 cycles (Table 2). We succeed 73 pregnancies*

[1]Instituto Mexicano de Infertilidad (IMI). Guadalajara, Jalisco, México.
[2]Instituto Mexicano de Infertilidad-Mazatlán. México.

Correspondencia: Dra. Martha Isolina García Amador. Boulevard Puerta de Hierro 5150. Torre C, 503-506. Col. Plaza Corporativa Zapopan. C.P. 45116. Guadalajara, Jalisco. México. Teléfono: (01) 333648-2550. *Correo electrónico:* mgarciaamador@yahoo.com

descongelación 48 h antes de la transferencia embrionaria con solución descongelante y lavado (WS-1 y WS-2) (Kit-Kitazato-Japón). Los ovocitos sobrevivientes se microinyectaron (ICSI). Los embriones se transfirieron el segundo día de desarrollo bajo guía ecográfica.
Resultados: Se han descongelado 1319 ovocitos con una supervivencia del 90.2%. Se transfirieron embriones en el segundo día de desarrollo en 199 pacientes en 257 ciclos. Se han conseguido 73 embarazos (36.6%) y han nacido 65 neonatos saludables.
Conclusión: La vitrificación en *cryotop* es una técnica altamente eficaz para la criopreservación de ovocitos humanos.

Palabras claves: vitrificación, ovocitos, congelación, Guadalajara, México.

(36.6%). The proportion of pregnancies per cycle is 28.4%. At the moment 65 babies have been born.
Conclusion: *Vitrification is a higher efficient technique for the criopreservation of human oocytes.*

Key words: *vitrification, cryopreservation, freezing, cryotop, Guadalajara, Mexico.*

▷ Introducción

En 1986[1] se informó el primer embarazo a partir de un ovocito criopreservado mediante congelación lenta y con dimetilsulfóxido (DMSO) como crioprotector. Sin embargo, con el tiempo, la técnica de congelación lenta convencional ofreció bajas tasas de supervivencia ovocitaria y embarazo,[2-5] lo cual dio origen a la realización de múltiples ensayos y a la modificación del tipo de crioprotector utilizado, el volumen o sus concentraciones;[6-10] el objetivo era alcanzar resultados verdaderamente alentadores.

La idea de vitrificar, o alcanzar un estado similar al vidrio, se describió por primera vez en 1860 y la retomó Luyet en 1937. Cincuenta años más tarde (1985), Rall y Fahy[11] describieron como una alternativa potencial la congelación lenta, que consiste en solidificar una solución por enfriamiento rápido, hasta formar un estado vidrioso por elevación extrema de su viscosidad. Trounson[12] fue el primero en sumergir un ovocito directamente en nitrógeno líquido y notificó una supervivencia aceptable y fecundación, pero bajas tasas de clivaje para la vitrificación.

Los procedimientos actuales de vitrificación implican la exposición de la célula a un volumen reducido de crioprotectores a elevadas concentraciones, seguido de congelación rápida en nitrógeno líquido. La alta osmolaridad de la solución de vitrificación rápidamente deshidrata a la célula. Al sumergirla de forma súbita en nitrógeno líquido se solidifica, de tal manera que el agua intracelular no tiene tiempo para formar cristales y lesionar a los organelos intracelulares;[13] esto incrementa su supervivencia.

Varios autores han referido otros daños atribuibles a la célula, consecutivos a las bajas temperaturas; uno de los más importantes es la alteración de la segregación de los cromosomas durante la meiosis II.[14-16] A ese respecto, la evidencia es aún insuficiente y un tanto controversial, ya que de igual manera otros sugieren que el huso meiótico puede sobrevivir a procesos de congelación-descongelación sin consecuencias, o al menos sin incremento del número de aneuploidías en los embriones resultantes.[17-20]

Un programa efectivo de criopreservación de ovocitos resulta de gran utilidad para mujeres que, por razones médicas o personales, necesiten diferir la posibilidad de embarazarse, ya sea por amenaza de pérdida de la función ovárica, afección oncológica que exige quimioterapia o radioterapia o restricciones éticas y religiosas que limiten la criopreservación de embriones. Entre sus beneficios pueden mencionarse la posibilidad de preservar los ovocitos excedentes de ciclos de hiperestimulación en técnicas de reproducción asistida y facilitar a los centros de reproducción la posibilidad de crear un banco de óvulos eficiente.

A pesar de los beneficios reconocidos de la técnica de vitrificación, los datos informados aún son insuficientes.[21] Este estudio tiene por objetivo dar a conocer la evolución de más de 1000 ovocitos humanos vitrificados en *cryotop* en un centro de reproducción asistida.

▷ Material y métodos

Éste es un estudio descriptivo y observacional realizado en el Instituto Mexicano de Infertilidad de Guadalajara entre julio de 2004 y diciembre de 2008. Se vitrificaron los ovocitos propios excedentes de 79 pacientes en 88 ciclos de hiperestimulación ovárica para fecundación *in vitro* y 169 ciclos de donantes.

Hiperestimulación ovárica. La estimulación del ovario se realizó con hormonas recombinantes (FSHr) o menotropinas, de forma inicial en los días segundo o tercero del ciclo menstrual, de acuerdo con cada caso. Se aplicó el antagonista del GnRh (GnRH)a cuando al menos dos folículos alcanzaron 14 mm de diámetro. Se administraron hCG (10,000 UI) cuando dos o más folículos alcanzaron los 18 mm de diámetro. Los ovocitos se aspiraron 36 h después y se colocaron en medio de cultivo *Upgraded B2 INRA* (CCD) previamente gasificado (durante 18 h en promedio a 37°C y 5% de CO_2). En éste permanecieron un promedio de dos horas y luego se separaron del cúmulo. Se identificaron los ovocitos en metafase II por la extrusión del primer cuerpo polar y se vitrificaron.

Técnica de vitrificación. Una vez separados del cúmulo, los ovocitos en metafase II se depositaron en la primera gota de un plato de cultivo con tres gotas de solución de 30 µl cada una. La primera era de solución de lavado y las otras de solución de equilibrio (etilenglicol al 7.5% y dimetilsulfóxido al 7.5%), hasta crear puentes entre ellas con la pipeta Pasteur, en dos ocasiones cada tres minutos hasta completar un promedio de 10 minutos. A continuación se depositaron en la solución de vitrificación (etilenglicol al 15%, dimetilsulfóxido al 15% y sucrosa, 0.5 M). En ésta se aspiraron, se devolvieron tres o cuatro veces y depositaron sobre la superficie del *cryotop* (Kitazato Supply Co, Fujinomiya, Japan).

El *cryotop* consiste en una lámina muy delgada de polipropileno de 0.4 mm de ancho por 20 mm de largo x 0.1 mm de espesor y una cubierta protectora, también plástica de 3 cm de longitud (**Imagen 1**). El *cryotop* se sumergió de manera súbita y directa en un recipiente con nitrógeno líquido para la colocación de su cubierta protectora (**Imagen 2**). Los dos últimos pasos deben realizarse en el lapso de un minuto.

Descongelación. Para esta fase se observaron los siguientes pasos:

1. Los ovocitos se depositaron en solución descongelante por un minuto.
2. Luego se aplicó una solución diluyente por tres minutos.
3. De ésta se trasladaron a la primera solución de lavado (5 min) y luego a la segunda (5 min).
4. Los ovocitos sobrevivientes se dejaron en medio de cultivo por dos a cuatro horas y posteriormente se microinyectaron mediante la técnica convencional de ICSI.

Las soluciones utilizadas son de Kitazato Supply Co., Japón.

Transferencia embrionaria, En todas las pacientes los embriones se transfirieron el segundo día del desarrollo, bajo guía ecográfica con equipo de ultrasonido marca Aloka SSD500. Para la preparación endometrial se usó agonista del GnRH en las mujeres con función ovárica y estradiol en dosis progresivas, al principio con 2 mg los primeros ocho días del ciclo de preparación, 2 mg cada 12 h los días noveno, décimo y undécimo y 2 mg cada ocho horas a partir del día duodécimo. Para el soporte lúteo se inició progesterona en perlas de 200 mg el día de la descongelación de los ovocitos en horas de la tarde y se mantuvo cada 12 h hasta el día de la transferencia de los embriones. En este último día se incrementó la dosis a 200 mg oral cada ocho horas, y se agregó progesterona en ampolletas de 50 mg, una dosis diaria por vía intramuscular. En promedio, estrógeno y progesterona se mantuvieron hasta la semana octava de gestación.

Imagen 1.
Cryotop.

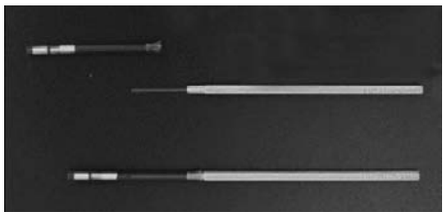


Imagen 2.
Cryotop sumergido directamente en nitrógeno líquido.

Tabla 1.
Evolución de los ovocitos vitrificados de acuerdo con su origen.

Ovocitos	Desvitrificados *n* (%)	Sobreviven *n* (%)	Se fecundan *n* (%)	Se dividen *n* (%)
Propios	460 (35)	411 (89.3)	358 (87.1)	324 (90.5)
Donados	859 (65)	779 (90.6)	711 (91.2)	648 (91.1)
Total	1319 (100)	1190 (90.2)	1069 (89.8)	972 (90.9)

Instituto Mexicano de Infertilidad (IMI), 2004-2008.

Tabla 2.
Generalidades y proporción de embarazos en pacientes con transferencia de embriones a partir de ovocitos vitrificados.

Origen de los ovocitos	Propios *n* (%)	Donados *n* (%)	Global *n* (%)
Número de ciclos	88 (34.2)	169 (65.8)	257
Número de pacientes	79 (39.7)	120 (60.3)	199
Edad promedio	34 ± 3.8	40 ± 5.3	37.9 ± 5
Tiempo implant/emb transf.	324/18 (18)	648/72 (9)	10.8
Embriones transferidos	324 (33.3)	648 (66.7)	972
Embriones/ciclo	18/88 (20.4)	55/169 (32.5)	73/257 (28.4)
Embriones/paciente	18/79 (22.7)	55/120 (45.8)	73/199(36.6)
Abortos	–	13 (17.8)[a]	13 (17.8)[a]
Embriones bqcos.	–	3	3

Instituto Mexicano de Infertilidad (IMI), 2004-2008.
[a] Un embarazo ectópico cornual.

Análisis de los datos. Se emplearon la estadística descriptiva, cuadros de frecuencia y porcentaje, medidas de tendencia central y dispersión.

▷ Resultados

Se desvitrificaron 1319 ovocitos entre julio del 2004 y diciembre del 2008 con una supervivencia del 90.2% (1190). Hasta 65% de los óvulos descongelados pertenecía a ovodonadoras. Se consiguió la fecundación después de la microinyección por ICSI en el 90%. De esa proporción, el 91% se dividió a cuatro células en el segundo día de desarrollo (**Tabla 1**).

La edad promedio de las pacientes transferidas fue de 34 ± 3.8 años (ovocitos propios) y 40 ± 5.3 años (ovocitos donados). Se han logrado 73 embarazos en 199 pacientes (36.6%), 18 de ellas en el grupo de ovocitos propios y 55/120 en el grupo de ovocitos donados. Trece embarazos (17.8%) no llegaron al término, uno de ellos un embarazo ectópico cornual (**Tabla 2**).

Han nacido 65 neonatos, producto de 36 gestaciones únicas, 10 gemelares dobles y dos triples. Entre los nacidos, conviene destacar el caso de una paciente nacida de la combinación de técnicas de maduración *in vitro* de ovocitos humanos (MIV) y vitrificación. Los ovocitos madurados *in vitro* y descongelados se transfirieron también en el segundo día de desarrollo embrionario en un ciclo posterior de preparación endometrial. Los nacidos vivos han sido sanos con excepción de una niña, hija de madre diabética en la que se diagnosticó una comunicación interventricular (**Tabla 3**).

▷ Discusión

La vitrificación conjuga altas concentraciones de crioprotectores en un volumen mínimo y elevadas velocidades de congelación (15,000-30,000 °C/min),[22] lo que genera como consecuencia la ausencia de cristales de hielo durante los procesos de congelación-descongelación,[23] una mejor conservación de la ultraestructura y

Tabla 3.
Nacidos vivos de acuerdo con el origen de los ovocitos.

	Propios	Donados	Total
Nacidos vivos	17*	48	65*
Gestaciones únicas	17	22	39
Gemelares Dobles	–	10	10
Triples	–	2	2
Embarazos en curso	2	7	9

Instituto Mexicano de Infertilidad (IMI), 2004-2008.
*Defecto de pared interventricular.

menor lesión de la fisiología ovocitaria.[24] Borini y colaboradores han señalado que protocolos subóptimos para criopreservación de ovocitos pueden causar daño subletal relacionado con habilidad limitada para la fecundación;[25] en este estudio se observó que en forma proporcional la mejor supervivencia se corresponde con mejores tasas de fecundación y clivaje.

En este protocolo se informaron tasas de supervivencia, fecundación y clivaje comparables con las notificadas por otros autores para la vitrificación de ovocitos humanos, cualquiera que fuera el dispositivo utilizado para el depósito final de los ovocitos (*cryotop*, *cryotip*, *cryoloop*, *cryoleaf*, etc.).[26-30]

La proporción de embarazo es similar a la comunicada para ciclos en fresco, de forma indistinta respecto de cuando se transfirieron embriones obtenidos a partir de ovocitos propios o donados vitrificados. Hasta el momento, los nacidos informados para la vitrificación de ovocitos parece tener una incidencia de anomalías congénitas (2.5%) no mayor a la comunicada para los nacidos de embarazos espontáneos en mujeres fecundas o infundas en ciclos frescos de fecundación *in vitro*.[31] En esta serie de nacidos vivos (*n*=65) se registró una comunicación interventricular en una niña hija de madre diabética, dato que corresponde al 1.53% de los casos y que muy probablemente no tenga relación con la técnica. En particular, no se realizó ninguna prueba de salud cromosómica en los embriones, pero se consideró que la proporción de nacidos vivos sanos notificada sustenta de alguna manera la seguridad de la técnica.

▷ Conclusión

La vitrificación de ovocitos humanos en *cryotop* proporciona elevada supervivencia ovocitaria, fecundación, clivaje y embarazo. Es una técnica sencilla y altamente reproducible que puede beneficiar a parejas con necesidad de postergar la posibilidad de embarazo, incluidos las pacientes oncológicas. Con ella, los centros de reproducción asistida pueden ofrecer una opción distinta y desestimular la demanda de congelación de embriones.

Bibliografía

1. Chen C. Pregnancy after human oocytes cryopresevation. *Lancet* 1986; 11:884-886.
2. Oktay K, Cil AP, Bang H. Efficiency of oocyte cryopreservation: a meta-analysis. *Fertil Steril* 2006; 86:78-80.
3. Al-Hasani S, Diedrich K, van Der Ven H, Reinecke A, Hartie M, Krebs D. Cryopreservation of human oocyte. *Hum Reprod* 1987; 2:695-2700.
4. Tucker MJ, Morton PC, Wright G, Sweitzer CL, Massey JB. Clinical application of human eggs cryopreservation. *Hum Reprod* 1998;13:3156-3159.
5. Fabbri R, Porcu E, Marsella T, Rocchetta G, Venturoli S, Flamigni C. Human oocyte cryopreservation: new perspective regarding oocyte survival. *Hum Reprod* 2001; 16:411-416.
6. Stachecki JJ, Cohen J and Willadsen SM. Cryopreservation of unfertilized mouse oocytes: the effect of replacing sodium with choline in the freezing medium. *Cryobiology* 1998; 37:346-354.
7. Quintans CJ, Donaldson MJ, Bertolino MV, Pasqualini RS. Birth of two babies using oocytes that were cryopreserved in a choline-based freezing medium. *Hum Reprod* 2002; 17:3149-3152.
8. Porcu E, Fabbri R, Damiano G, Giunchi S, Fartto R, Ciotti PM, Venturoli S, Flamigni C. Clinical experience and applications of oocyte cryopreservation. *Mol Cell Endocrinol* 2000; 169:33-37.
9. Borini A, Sciajno R, Bianchi V. Sereni E, Flamigni C and Coticchio. Clinical outcome of oocyte cryopreservation after slow cooling with a protocol utilizing a high sucrose concentration. *Hum Reprod* 2006;21(2):512-517.
10. Shee-Huan Chen, Yih-Ron Lien, Hsin-Fu chen, Li-Jung Yang, Yi-Yi Tsai, Yu-Shih Yang. Observational clinical follow-up of oocyte cryopreservation using a slow-freezing method with 1,2 propanediol pus sucrose followed by ICSI. *Hum Reprod* 2005; 20(7):1975-1980.
11. Rall WF, Fahy GM. Ice free cryopreservation of mouse embryos at -196°C by vitrification. *Nature* 1985; 313-573.
12. Trounson A. Freezing human eggs and embryos. *Fertil Steril* 1986; 46: 1-12.
13. Bianchi V, Coticchio G, Fava L, Flamigni C, Borini A. Meiotic spindle imaging in human oocytes frozen with a slow freezing procedure involving high sucrose concentration. *Hum Reprod* 2005; 20(4):1078-1083.
14. Pickering SJ, Johnson MH. The influence of cooling on the organization of the meiotic spindle of the mouse oocyte. *Hum Reprod* 2007;2:207-216.
15. Pickering SJ, Braude PR, Johnson MH, Cant A, Currie J. Transient cooling to room temperature can cause irreversible disruption of the meiotic spindle in the human oocyte. *Fertil Steril* 1990; 54:102-108.
16. Zenses MT, Bielecki R, Casper RF, Leibo SP. Effect of chilling to 0 degrees C on the morphology of meiotic spindle in human metaphase II oocytes. *Fertil Steril* 2001;75:769-777.
17. Boiso I, Marti M, Santalo J, Ponsa M, Barri PN y Veiga A. A confocal microscopy analysis of the spindle and chromosome configuration of human oocytes cryopreserved at the germinal vesicle and metaphase II stage. *Hum Reprod* 2002; 17:1885-1891.
18. Rienzi L, Martínez F, Iacobelli M, Minasi MG, Ferrero S, Tesarik J, Greco E. Polscope analysis of meiotic spindle changes in living metaphase II human oocytes during the freezing and thawing procedures. *Hum Reprod* 2004;19:655-659.
19. Cobo A, Rubio C, Gerli S, et al. Use of fluorescence in situ hibridyzation to asses the chromosomal status of embryos obtained from cryopreserved oocytes. *Fertil Steril* 2001; 75:354-360.
20. Cobo A, Perez S, De los Santos MJ, Zulategui J, *et al.* Effect of different cryopreservation protocols on the metaphase II spindle in human oocytes. *Reprod BioMed Online* 2008;1(3):350-359.
21. Hong SW, Chung HM, Lim JM, Ko JJ, *et al.* Improved human oocyte development after vitrification: a comparison of thawing methods. *Fertil Steril* 1999;72:142-146.
22. Lieberman J, Tucker MJ. Effect of carrier system on the yield of human oocytes and embryos as assessed by survival and developmental potential after vitrification. *Reproduction* 2002; 124:483-489.
23. Lieberman J, Tucker MJ, Sills ES. Cryoloop vitrification in assisted reproduction: analysis of survival rates in >1000 human oocytes after ultra-rapid cooling with polymer augmented cryoprotectants. *Clin Exper Obst Gynecol* 2003; 30:125-129.

24. Gardner DK, Sheehan CB, Rienzi L, *et al*. Analysis of oocyte phisiology to improve cryopreservation procedures. *Theriogenology* 2007; 67:64-72.
25. Borini A, Bonu AM, Coticchio G, Bianchi V, *et al*. Pregnancies and births after oocyte cryopreservation. *Fertil Steril* 2004; 82:601-605.
26. Katayama. High survival rate of vitrified human oocytes results in clinical pregnancy. *Fertil Steril* 2003; 80(1):223-224.
27. Mukaida T, Nakamura S, Tomiyama T, Wada S, *et al*. *Hum Reprod* 2003;18(2):384-391.
28. Kuwayama M, Vajta G, Kato O, *et al*. Highly efficient vitrification method for cryopreservation of human oocytes. *Reprod BioMed Online* 2005;11: 300-308.
29. Lucena E, Bernal DP, Lucena C, Rojas A, *et al*. Succesful ongoing pregnancies after vitrification of oocytes. *Fertil Steril* 2006; 85:108-11.
30. Kim TJ, Hong S, Cha K.Y. Vitrified oocytes produce excellent pregnancy rate. *Fertil Steril* 2006; 86(2):126-127.
31. Chian RC, Huang JY, Tan SL, Lucena E, *et al*. *Reprod BioMed Online* 2008; 16(5):608-610.

Trabajo de presentación oral. Congreso Mexicano de Oncología. Octubre de 2008

Frecuencia de las variantes del gen de aromatasa (TTTA)n en mujeres sanas y con cáncer de mama

Frequency of the variants of aromatase gene (TTTA)n in healthy women and with cancer of breast

Murillo-Ortiz B,[1] Castillo-Valenzuela RC,[1] Arenas-Aranda D,[2] Hernández-González M,[1] Solorio-Meza S,[1] Martínez-Garza SG.[1]

▹ Resumen

Se ha considerado la posible función del polimorfismo (TTTA)n del gen CYP19, que contiene un número variable de repeticiones TTTA (7 a 13), en el cáncer de mama. Esta estructura interviene en la biosíntesis de los estrógenos y se ha reportado un incremento del riesgo de padecer cáncer mamario cuando las mujeres presentan > 10 repeticiones alélicas de (TTTA)n.

Objetivo: Analizar la frecuencia de los diferentes genotipos del polimorfismo de repetición simple (TTTA) del gen CYP19 en mujeres sanas y pacientes con carcinoma mamario.

Material y métodos: Se incluyó a 180 mujeres sanas y 70 con cáncer de mama. Se obtuvo el ADN de los leucocitos para la genotipificación. Las repeticiones de TTTA de CYP19 se determinaron por amplificación con PCR y los productos amplificados se corrieron en gel desnaturalizante de acrilamida.

Resultados: Se incluyó a un total de 250 mujeres de 55 ± 12 años con IMC de 30 ± 7.1 kg/m^2. Se reconoció una distribución diferente en las frecuencias de los alelos CYP19; en las mujeres sanas, los alelos más frecuentes

▹ Abstract

It has been considered to be the possible role of the (TTTA) n polymorphism of the gene CYP19 in the cancer of breast. They contain a different number of TTTA repetitions (range 7-13) inside the region of codification. It is involved in the synthesis of the estrogens and an increase in the risk has been reported when the patients present >10 repetitions allelic of (TTTA)n.

Objective: *Analyze the frequency of the different genotypes of the polymorphism by simple (TTTA) repetition of the gene CYP19 in healthy women and women with mammary carcinoma.*

Material and methods: *We conducted a study among 180 healthy women and 70 women with breast cancer. The DNA of the leukocytes was obtained for the genotyping TTTA's repetitions of CYP19. They were determined by amplification by PCR, the amplified products moved along in gel of acrilamide.*

Results: *250 women (age 55 ± 12 years) went included. BMI 30 ± 7.1 Kg/m.^{2} Found the distribution of the different frequencies of CYP19 allele, in healthy women the allele with 6 (32.7 %) and 7 (21.6 %) repetitions were the most frequent, in women with breast cancer the allele with 6(29%) and 10(26%)repetitions were the most frequent.*

[1]Unidad de Investigación en Epidemiología Clínica, UMAE N° 1 Bajío, IMSS. León, Guanajuato. México.
[2]Unidad de Investigación en Genética Humana, Hospital de Pediatría CMN S XXI, IMSS. México, DF.

Correspondencia: Dra. Blanca Murillo Ortiz. Unidad de Investigación en Epidemiología Clínica, UMAE No. 1 Bajío, IMSS. Blvd. López Mateos, Esq. Insurgentes s/n, Col. Los Paraísos. León, Guanajuato. Teléfono y Fax: (477) 717-4800 ext. 31472. *Correo electrónico*: bomo907@hotmail.com, blanca.murillo@imss.gob.mx

fueron 6 (32.7%) y 7 (21.6%) y en las mujeres con cáncer las repeticiones alélicas más comunes fueron 6 (29%) y 10 (26%).
Conclusión: Este estudio indica que el número de repeticiones >10 TTTA puede estar relacionado con un mayor incremento del riesgo de padecer cáncer mamario.

Palabras clave: polimorfismo de aromatasa, cáncer de mama, México.

Conclusions: *This study indicates that status of CYP19 > 10 TTTA repeat allele might be related to increased breast cancer risk.*

Key words: *polymorphism CYP19, breast cancer, Mexico*

▹ Introducción

Con base en evidencias experimentales y epidemiológicas, se ha establecido la hipótesis según la cual los estrógenos incrementan el riesgo de padecer cáncer mamario. Los niveles séricos elevados de estrógeno endógeno, en particular de estradiol (E2), se vinculan con este riesgo.[1-5] En las mujeres, el estradiol proviene de fuentes diferentes antes y después de la menopausia. En mujeres premenopáusicas, el ovario o membrana granulosa de folículos dominantes es la fuente principal de los estrógenos circulantes; después de la menopausia, los estrógenos se producen sobre todo por la conversión de los andrógenos de origen suprarrenal y ovárico, especialmente en la zona reticular de la corteza suprarrenal. Frecuentemente la conversión de andrógeno a estrona ocurre en tejidos periféricos, incluidos piel, músculo, grasa y hueso. El complejo de enzima aromatasa cataliza esta conversión. La aromatasa intratumoral desempeña una función importante en la conversión *in situ* de los andrógenos séricos a estrógenos y sirve como una fuente de estrógenos, en particular en la mujer posmenopáusica con cáncer mamario.[6]

▹ Polimorfismo de aromatasa

La exposición acumulada a los estrógenos circulantes se considera de gran importancia como factor etiológico del cáncer mamario. Los estrógenos intervienen en el de-sarrollo y el crecimiento de los tumores de mama. Alrededor de 75% de las pacientes posmenopáusicas con cáncer de mama tiene carcinomas dependientes de estrógeno.[7] Uno de los genes que participan es el de la aromatasa, el denominado CYP19, que contiene 10 exones y se localiza en el cromosoma 15q21. La enzima aromatasa tiene la capacidad de metabolizar los andrógenos precursores de estrógenos androstenediona, testosterona y dehidroepiandrostenediona para formar estrona, estradiol y estriol.

El gen CYP19 contiene un número variable de repeticiones TTTA (7 a 13) en el intrón 4 dentro de la región de codificación. Algunos estudios[9-15] han revisado el posible papel del polimorfismo (TTTA)n del gen CYP19 de la aromatasa en el cáncer de mama y han registrado un incremento del riesgo cuando las pacientes presentan 10 o más repeticiones alélicas de (TTTA)n.

Sin embargo, no se ha estudiado en las mujeres mexicanas con carcinoma mamario la frecuencia de este polimorfismo; en el presente estudio se describe su distribución y se analiza a un grupo de mujeres sanas para comparar las frecuencias.

▹ Sujetos y métodos

Se realizó un estudio descriptivo, comparativo y transversal en el servicio de oncológica de la Unidad Médica de Alta Especialidad No. 1 Bajío, IMSS. Se incluyó a 180 mujeres sanas que acudieron como acompañantes al servicio de oncología y 70 mujeres con diagnóstico de cáncer invasor, fuera ductal o lobulillar, de cualquier grado de malignidad de acuerdo con la escala SBR, y cualquier etapa clínica. Se excluyeron los casos en los que no se logró determinar las variantes del genotipo de la enzima aromatasa. Las pacientes recibieron una explicación acerca del estudio y con posterioridad se les solicitó un consentimiento informado. El estudio se efectuó de acuerdo con los principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos basados en la Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial. Obtuvo la aprobación del comité de ética de la UMAE No.1 Bajío, IMSS.

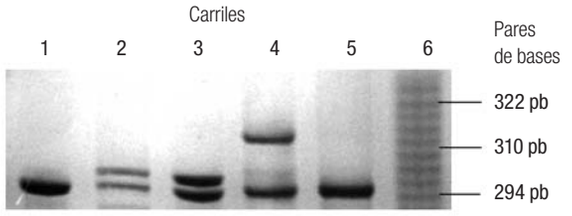
▹ Determinación del polimorfismo del gen CYP19

Se tomó una muestra de sangre periférica y se realizó la extracción del ADN genómico de leucocitos por procedimiento de fenol–cloroformo. La reacción en cadena de

Tabla 1.
Características clínicas de las mujeres con carcinoma mamario

	Premenopausia	Posmenopausia
	n = 25	n = 45
Edad	46 ± 4.94	65 ± 9.26
Etapa clínica		
I	0%	5%
II	33%	0%
III	50%	0%
IV	17%	25%
Estirpe histopatológica		
Ductal	75.00%	65%
Canalicular	8.30%	25%
Otros	16.70%	10%
Grado de malignidad (SRB)		
I	16.70%	45%
II	33.30%	35%
III	41.70%	15%
Receptor de estrógenos α		
Positivo	88%	92%
Negativo	12%	8%
Receptor de estrógenos β		
Positivo	89%	46%
Negativo	11%	54%
Niveles hormonales		
Estradiol	104.89 ± 67.98	9.89±5.96
Testosterona	0.20 ± 0.13	0.13±0.07
T/estradiol	542.45 ± 10067.58	99.51±87.07
FSH	37.70 ± 27.52	43.90±18.99
IMC		
Normal	25%	5%
Sobrepeso	58%	45%
Obesas	17%	35%
Antecedentes patológicos		
Diabetes	0%	5%
Hipertensión	8.30%	10%
Negados	83.30%	55%
Diabetes/hipertensión	8.30%	25%
Hipotiroidismo	0%	5%

Imagen 1.
Gel de poliacrilamida al 10% con 7M de urea.



Carril 1: homocigoto (TTTA)7 ; carril 2: heterocigoto (TTTA)7/(TTTA)8; carril 3: heterocigoto (TTTA)6/(TTTA)7 ; carril 4: heterocigoto (TTTA)6/(TTTA)10; carril 5: homocigoto (TTTA)6; carril 6: marcador alélico CSFIPO.

la polimerasa se llevó acabo con la adición de 80 ng de ADN genómico con 100 pmol de cada uno de los iniciadores 5'-GCAGGTACTTAGTTAGCTAC-3' y 5'-TTACAGTGAGCCAAGGTGCT-3', 200 μmol de dNTP, 2 mmol/L, MgCl2 2UdS de la enzima Taq DNA polimerasa. La amplificación del DNA se realizó de acuerdo con el siguiente programa: ciclo de desnaturalización a 94°C por 1.4 min, desnaturalización a 94°C por 1 min y alineación a 60°C por 1 min en 30 ciclos, con etapa final de extensión a 72°C por 10 min.

El producto de la PCR se corrió en un gel de poliacrilamida al 6% con 7.6 mol/L de urea por 3 h a 30 vatios. Se utilizó bromuro de etidio para revelar los genotipos del gel de poliacrilamida (**Imagen 1**).

▷ Análisis estadístico

Las características de las pacientes se analizaron con estadística descriptiva. Se utilizó media o mediana y desviación estándar para las variables clínicas y moleculares. También se analizaron relaciones entre el número de repeticiones y la presencia de cáncer mamario.

▷ Resultados

Se estudió a un total de 250 mujeres para conocer el número de repeticiones, 180 mujeres sanas y 70 con diagnóstico de carcinoma mamario; el promedio etario fue de 55 ± 12 años y el IMC fue de 30 ± 7.1 kg/m^2. En la **Tabla 1** se observan las variables clínicas del grupo de mujeres con carcinoma mamario.

En el grupo de las mujeres con cáncer, las repeticiones más frecuentes fueron 6 (29%) y 10 (26%), como se observa en la **Imagen 2**, mientras que en las mujeres sanas se reconoció que las repeticiones alélicas más frecuentes eran 6 (32.7 %) y 7 (21.6 %), como se ilustra en la **Imagen 3**. También se advirtió que en las pacientes con cáncer de mama las repeticiones ≥ 10 fueron más frecuentes (35% vs 23% en mujeres sanas; χ^2=11.44, p=0.0007), como lo muestra la **Imagen 4**.

Imagen 2.
Frecuencias de mujeres con cáncer de mama.

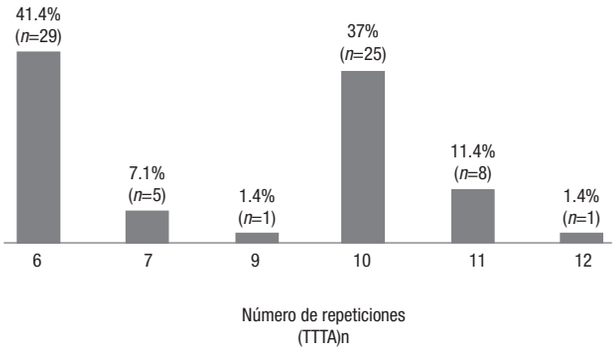


Imagen 3.
Frecuencias alélicas de (TTTA)n en mujeres sanas.

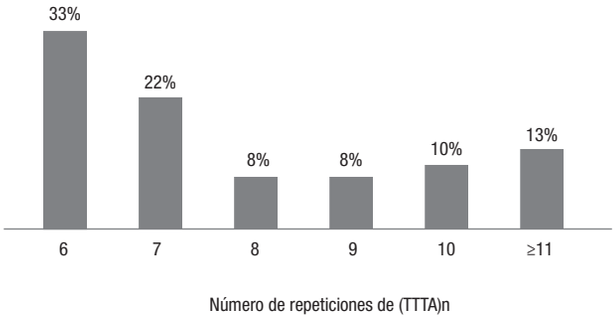
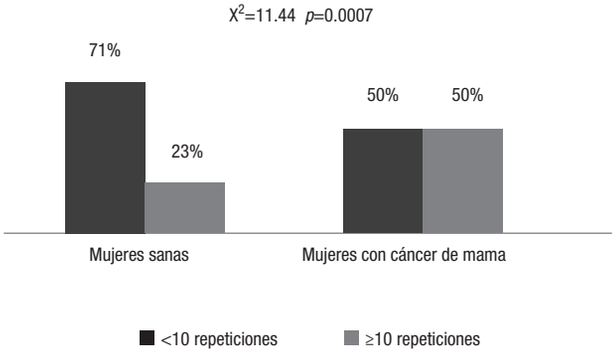


Imagen 4.
Frecuencia > 10 repeticiones en mujeres con carcinoma mamario en comparación con mujeres sanas.



▷ Discusión

La distribución de las variantes del polimorfismo del gen CYP19 (TTTA)n es diferente entre las mujeres mexicanas sanas en comparación con las que padecen carcinoma mamario. Las repeticiones ≥10 de TTTA son más frecuentes en mujeres con cáncer de mama. Éste es el primer informe realizado en mujeres mexicanas; en otras poblaciones se ha publicado que esta variante se ha relacionado con un mayor riesgo de cáncer mamario.

Kristensen y colaboradores[9] comunicaron las frecuencias alélicas de este polimorfismo en 182 pacientes con cáncer de mama esporádico, 182 pacientes con cáncer familiar y 252 individuos sanos; en ese protocolo se identificaron 7, 8, 9, 11 y 12 repeticiones alélicas de TTTA. El alelo largo (TTTA) 12 fue significativamente más frecuente en las personas con cáncer respecto de los controles sanos. Esto indica que la posesión de este alelo largo (TTTA) 12 incrementa el riesgo de desarrollar cáncer de mama (OR, 2.42). Asimismo, se encontró una frecuencia mayor de este alelo largo (TTTA) 12 en el grupo de pacientes con tumores positivos para receptor de estrógenos y progesterona.

Miyoshi y colaboradores[10] realizaron un estudio de casos y controles para determinar si este polimorfismo se vinculaba con el riesgo de cáncer de mama en mujeres japonesas. Las mujeres homocigotas con 10 o más repeticiones de TTTA mostraron un mayor riesgo de cáncer de mama (OR, 1.8).

Ahsan y colaboradores[11] efectuaron el primer estudio familiar para examinar las vinculaciones entre el polimorfismo de repetición de (TTTA) de CYP19 y el riesgo de cáncer de mama. Se estudió a 278 familias que tenían una o más hijas con cáncer de mama (se valoró a un total de 1123 sujetos) y encontraron que las repeticiones alélicas de (TTTA) 11 se relacionaban con un mayor riesgo de cáncer de mama en estas familias.

Por su parte, Han y colaboradores[12] realizaron un estudio de casos y controles para valorar la relación entre el polimorfismo de repetición (TTTA) de CYP19 y el riesgo de cáncer de mama en mujeres chinas. En esta investigación se incluyó a 213 pacientes y 430 controles y fue posible identificar que el alelo con 10 repeticiones de (TTTA) fue más frecuente en los casos que en los controles.

Más aún, Hu y colaboradores[13] informaron resultados similares. Okobia y colaboradores[14] sometieron a estudio el polimorfismo de repetición de (TTTA) en una población indígena subsahariana. Estos especialistas estudiaron a 250 mujeres con cáncer de mama y 250 mujeres sanas y señalaron que 10 o más repeticiones de (TTTA) se relacionaban con un incremento discreto del riesgo de cáncer de mama en mujeres nigerianas.

Ribeiro y colaboradores[15] investigaron la frecuencia de las repeticiones alélicas de TTTA en una población de América del Sur y analizaron el riesgo para desarrollar cáncer de mama. Dichos investigadores comunicaron

que el alelo con 10 repeticiones de (TTTA) fue tres veces más frecuente en los casos y que mostró una relación positiva (p = 0.048) con el desarrollo de cáncer de mama en una población brasileña.

El incremento del riesgo de padecer cáncer mamario por este polimorfismo de repetición debe investigarse en la población mexicana, además de conocer los factores de riesgo ambiental y genéticos, para introducir medidas que reduzcan el incremento del riesgo. La obesidad es un factor preponderante, ya que la actividad de la enzima aromatasa incrementa los niveles circulantes de estradiol a partir de la conversión del tejido adiposo. En este estudio se informó que el 75% de las mujeres premenopáusicas presentaban obesidad o sobrepeso y 80% de las posmenopáusicas. Este polimorfismo de repetición aumenta la actividad de la enzima aromatasa, por lo que su efecto metabólico en el tejido adiposo se vuelve un factor que puede modificarse mediante medidas preventivas; en consecuencia, analizar el estado nutricio y seguir las recomendaciones dietéticas reducen la obesidad en la población y, en consecuencia, en grado considerable, el riesgo de desarrollar cáncer mamario.

▷ Conclusiones

En este estudio pudo reconocerse que las repeticiones ≥ 10 de TTTA son más frecuentes en las mujeres con cáncer de mama (p=0.0007). En la población de mujeres sanas las repeticiones más frecuentes fueron 6 y 7.

▷ Agradecimientos

Los autores agradecen al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología del Estado de Guanajuato el apoyo otorgado a través del programa de Fondos Mixtos. Apoyo GTO-2005-CO4-18799 IMSS.

Bibliografía

1. Secretaría de Salud. Salud México 2002. Información para la rendición de cuentas. México, DF: Dirección General de Información y Evaluación del Desempeño, SSA; 2003.
2. Menck HR, Mills PK. The influence of urbanization, age, ethnicity and income on the early diagnosis of breast carcinoma: opportunity for screening improvement. *Cancer* 2001;92(5):1299-1304.
3. Secretaría de Salud. Salud México 2001. Información para la rendición de cuentas. México, DF: Dirección General de Información y Evaluación del Desempeño, SSA; 2002.
4. Lazcano-Ponce E, Tovar-Guzmán V, Alonso-de P, y cols. Cáncer de mama. Un hilo conductor histórico, presente y futuro. *Salud Pública Mex* 1996; 38:139-152.
5. Simpson ER, Meandro MS, Means GD, *et al*. Aromatase cytocrome P450, the enzyme responsible for estrogen biosynthesis. *Endoc Rev* 1994; 15:342-55.
6. Hironobu Sasano, Takashi Suzuki, Taisuke Nakata, Takuya Moriya. New development in intracrinology of breast carcinoma. *Breast Cancer* 2006;13:129-136.
7. Chen S Aromatase and breast cancer. *Front Biosci* 1998; 3:d922-933.
8. Sebastián S, Bulun SE. A highly complex organization of the regulatory region of the human CYP19 (aromatase) gene revealed by the Human Genomoe Proyect. *J Clin Ecdocrinol Metab* 2001; 86:4600-2.
9. Kristensen VN, Andersen TI, Lindblom A, Erikstein B, Magnus P, Borresen-Dale AL. A rare CYP19 (aromatase) variant may increase the risk of breast cancer. *Pharmacogenetics* 1998;8(1): 43-48.
10. Miyoshi Y, Iwao K, Ikeda N, Egawa C, Noguchi S. Breast cancer risk associated with polymorphism in CYP19 in Japanese women. *Int J Cancer* 2000;20;89(4):325-8.
11. Ahsan H, Whittemore AS, Chen Y, Senie RT, *et al.* Variants in estrogen-biosynthesis genes CYP17 and CYP19 and breast cancer risk: a family-based genetic association study. *Breast Cancer Res* 2005;7(1):R71-8.
12. Han DF, Zhou X, Hu MB, Xie W, Mao ZF, Chen DE, Liu F, Zheng F. *Chin Med J (Engl)* 2005;20;118(18):1507-16.
13. Hu MB, Xie W, Xiong B, Han DF, *et al*. Study on the relationship between polymorphisms of genes (CYP17, CYP19 and SULT1A1) and susceptibility to breast cancer in Chinese women *Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi* 2006;27(4):351-5.
14. Okobia MN, Bunker CH, Zmuda JM, Ezeome ER, *et al.* Simple tandem repeat (TTTA)n polymorphism in CYP19 (aromatase) gene and breast cancer risk in Nigerian women. *J Carcinog* 2006;9; 5:12.
15. Ribeiro FS, de Amorim LM, de Almeida Simao T, Mendonca GA, de Moura Gallo CV, Pinto LF. CYP19 (TTTA)n polymorphism and breast cancer risk in Brazilian women. *Toxicol Lett* 2006; 20;164(1):90-5.

Artículo de revisión

Cáncer de mama y embarazo: una decisión controvertida entre dos situaciones opuestas

Breast cancer and pregnancy; a controversial decision between two opposite situations

Ortega-Martínez F,[1] Juárez Ramiro A,[2] Villanueva-Egan LA,[3] Pichardo-Cuevas M,[4] Martín-Ordóñez AJ,[5] Ixtla-Pérez MB.[6]

▷ Resumen

El cáncer de mama relacionado con el embarazo es una entidad poco común. Aunque desconocidos de manera inicial, en la actualidad se conocen mucho mejor los efectos secundarios que pueden lesionar al feto. Hoy día se dispone de evidencia científica para el uso de estudios de imagen, pruebas citotóxicas y radioterapia y se han descrito los riesgos quirúrgicos del feto al exponerse a dichas herramientas. El tratamiento para estos pacientes es multidisciplinario y en él intervienen diferentes especialistas para reducir las complicaciones o los riesgos potenciales. La decisión final deben tomarla los padres o, en su defecto la madre, asesorados siempre por personal calificado que puede determinar si continuar el embarazo o interrumpirlo, cuando sea el caso. Si la gestación se ha resuelto, la paciente debe atenderse de acuerdo con las normas aplicadas a las personas con cáncer de mama y la lactancia materna se evita cuando está indicado.

▷ Abstract

The breast cancer, associated to the pregnancy, is a not very common entity. At the moment, the knowledge about the secondary effects that can be caused to the fetus is bigger and that in a beginning they were ignored. In our days we have evidence scientist for the use image studies, cytotoxic drugs, radiotherapy and surgical risks that could be presented in the fetus when being exposed them. The treatment that the patients should receive is multidisciplinary, different specialists' interactions in its handling the complications or risks that are presented to diminish. The final decision will be made by the parents or in its defect the mother, advised by personnel qualified in to continue with the pregnancy or to interrupt it when it is the case. If the pregnancy has been solved the patient it will be treated with the norms and limits with those that all the patients with cancer of the breast avoiding the maternal nursing when it is indicated.

The use of new treatments is not recommended if it is not had scientific evidence of the effects that could be presented in the

1 Médico Residente de Cuarto año de Ginecoobstetricia; 2 Oncólogo Médico Adscrito al Servicio de Oncología Ginecológica; 3 Director 4 Subdirector Médico; 5 Jefe de Ginecología Oncológica; 6 Adscrita al Servicio de Psicología Clínica Hospital de la Mujer, SSA. México, D. F.

Correspondencia: Dr. Fernando Ortega Martínez. Hospital de la Mujer SSA. Prolongación Salvador Díaz Mirón 374. Colonia Santo Tomás. Delegación Miguel Hidalgo. C.P. 11340. México, D.F. *Correo electrónico*: quovadisfer@yahoo.com.mx

No se recomienda el uso de nuevos tratamientos si no se cuenta con evidencia científica de los efectos posibles sobre la madre y el feto, cuando el cáncer de mama aparece en estas circunstancias.

Palabras clave: cáncer de mama, embarazo, México

mother and the fetus when the cancer of the breast it is presented in this circumstance.

***Key words: b**east cancer, pregnancy, Mexico.*

▹ Introducción

La relación de cáncer y embarazo es infrecuente. Sin embargo, la tendencia actual de la mujer a postergar la maternidad hasta la cuarta década de la vida y el estilo de vida incrementan los factores de riesgo para el desarrollo de neoplasias.[1]

Una vez que se reconoce la tumoración en la gestación, el médico debe dilucidar lo siguiente: ¿cómo afecta el embarazo a la neoplasia?, ¿cómo afecta la neoplasia al embarazo?, ¿qué pronóstico tienen la madre y el feto?, ¿cuándo debe iniciar el tratamiento? ¿puede el feto afectarse con el tratamiento?, ¿en qué circunstancias es necesaria la interrupción del embarazo?

Si bien existen consensos acerca de las decisiones terapéuticas, revisiones y series de casos que aportan información suficiente para adoptar una conducta diagnóstica y terapéutica ante este problema, es importante enfocar el tratamiento antineoplásico vinculado con el embarazo en forma multidisciplinaria. En este caso es esencial la intervención de los servicios de ginecoobstetricia, medicina maternofetal, oncología quirúrgica, oncología médica, patología, neonatología, psicología y trabajo social; asimismo, siempre debe tomarse en cuenta la decisión de la paciente y su pareja; cada caso particular se individualiza para elegir el mejor tratamiento para la madre y el feto.

▹ Epidemiología

A nivel mundial, la incidencia del embarazo relacionado con el cáncer de mama es en promedio de 1/1500 a 1/4,000 embarazos.[2] En México no existe una incidencia precisa de estos casos; con base en información del año 2006 de la Secretaría de Salud, la tasa de mortalidad por cáncer de mama fue de 18.1/100 000 mujeres de 25 años y mayores, con un incremento de 7% en relación con el año 2000. Del total de mujeres que fallecieron por esta causa, 48% pertenecía al grupo de 45 a 64 años de edad y 32% al de 65 años y más. Entre las entidades federativas del país, las tasas más elevadas en el año 2006 se registraron en Baja California Sur, con una mortalidad por esta causa de 30.5/100 000 mujeres de 25 y más años, Jalisco con 26.3 y el Distrito Federal con 24.9 . En contraste, las entidades con la menor mortalidad por esta causa fueron Chiapas (10/100 000), Yucatán (10.5) y Oaxaca (10.8). Entre las principales instituciones de salud pública del país, el IMSS registró la tasa de mortalidad por cáncer de mama más elevada, seguido de cerca por los servicios médicos de Petróleos Mexicanos, con tasas de 23 y 22.3 casos por cada 100 000 mujeres de 25 y más años, respectivamente. La Secretaría de Salud presentó la tasa más baja con 14.1, mientras que la tasa del ISSSTE fue de 14.6 defunciones por esta anomalía. El problema comienza a partir de los 25 años y se agrava con el paso de la edad, ya que el grupo de 35 a 44 años registró una mortalidad seis veces superior al grupo menor de esa edad y en las mujeres de 45 a 64 años la tasa triplica la del grupo anterior.[3]

Los procesos oncológicos vinculados más a menudo con la gestación son el cáncer de mama y el cáncer invasor de cuello uterino, que representan cada uno 25% del total de cánceres y embarazo. En orden descendente, la frecuencia de otras neoplasias es menor e incluye melanomas, cáncer de ovario, cáncer tiroideo, leucemias, linfomas y los tumores malignos de origen colorrectal y óseo.[4]

En la **Tabla 1** se muestra la incidencia de casos de cáncer y embarazo registrada en el Instituto Nacional de Perinatología, de acuerdo con una revisión de ocho años efectuada entre 1988 y 1996.[5]

▹ Definición

La vinculación del cáncer de mama con el embarazo se define como el hallazgo de un tumor mamario maligno en la gestación o durante el primer año posparto.[6]

Tabla 1. Incidencia de cáncer y embarazo en el Instituto Nacional de Perinatología (1988-1996)

Neoplasia	Incidencia (por número de embarazos)
Carcinoma de cérvix	1:4,780
Cáncer de mama	1:4,780
Leucemia	1:5,311
Cáncer de tiroides	1:11,950
Cáncer de ovario	1:11,950
Linfoma	1:15,933

▹ Factores pronósticos del cáncer de mama relacionado con el embarazo

Ni siquiera durante el embarazo las mujeres están exentas del riesgo de sufrir cáncer de mama. Recientes investigaciones señalan que la gestación no empeora su pronóstico, aunque sí es posible que retrase el diagnóstico del tumor. Los cambios que se producen en las mamas, como la mastitis o la aparición de nódulos durante el embarazo, pueden entorpecer el diagnóstico. Por tal motivo deben realizarlo equipos expertos, con la intervención de radiólogos y patólogos especializados.

Con base en el limitado número de estudios retrospectivos de casos y controles, el pronóstico de las mujeres con cáncer de mama en el embarazo no es similar al de las pacientes no embarazadas de la misma edad y en el mismo estadio de la enfermedad.[7-9] De manera convencional se asumía que el pronóstico era peor, pero esto era así probablemente por el avanzado estado al momento del diagnóstico o bien por una terapia menos estandarizada.

Por lo tanto, el embarazo no es por sí mismo un factor de mal pronóstico, pero sí puede dificultar el diagnóstico. Las pacientes cuyo tratamiento se retrasa hasta después del alumbramiento tienen peor supervivencia respecto de quienes se someten a él inmediatamente después del diagnóstico.[10]

▹ Características patológicas

La estirpe histológica predominante en las mujeres embarazadas es el carcinoma ductal infiltrante,[11-13] seguida a mucha distancia por el carcinoma lobulillar infiltrante. La mayoría de los tumores en la mujer embarazada es de alto grado de malignidad y la invasión al sistema linfoide y vascular es habitual.[7] La afectación metastásica de los ganglios axilares suele vincularse con el tamaño de la tumoración como factor fundamental, aunque probablemente no es el único. En las series revisadas en la bibliografía, la afectación axilar es más elevada que la observada en las pacientes no embarazadas y alcanza tasas del 54%.[14]

En el único estudio prospectivo, realizado por Middleton[14] en mujeres con carcinoma durante el embarazo, 28% de los tumores era receptor positivo de estrógeno y 24% receptor positivo de progesterona, según los resultados inmunohistoquímicos; en cambio, las mujeres jóvenes no embarazadas con cáncer de mama estudiadas por Maru y colaboradores mostraban cifras de 45% y 36%, respectivamente.[15] La enfermedad positiva para hormonas se relaciona con la edad y se reconoce más a menudo en mujeres posmenopáusicas. Sin embargo, muchos de los tumores son independientes de las hormonas en los casos de cáncer de mama y embarazo. Mientras que Elledge y colaboradores[16] encontraron siete de 12 mujeres embarazadas (58%) positivas para Her2/neu, Middleton y colaboradores[14] no identificaron ninguna diferencia en la tasa de expresión del Her2/neu (28%) en el estudio del *M.D Anderson Cancer Center*, en donde los autores valoraron a 39 pacientes con carcinoma de mama, y embarazo; en este protocolo se realizó un examen histológico e inmunohistoquímico de evaluación para determinar el estado de los marcadores pronósticos y predictivos, incluidos los receptores de estrógenos, receptor de progesterona, Her2/neu,ki67 y p53. Los investigadores concluyeron que las mujeres embarazadas con carcinoma de mama en general se presentan en etapas avanzadas de la enfermedad y los tumores tienen un pobre pronóstico y características histológicas.[17] Las observaciones del seguimiento indicaron que los tumores no siguen un curso clínico agresivo, como se había propuesto en informes anteriores. Los carcinomas de mama que se producen durante el embarazo comparten muchas similitudes histológicas y pronósticas con el carcinoma de mama desarrollado en otras mujeres jóvenes.

Es posible que los resultados, tanto histopatológicos como inmunohistoquímico de los tumores de mujeres embarazadas con carcinoma de mama, sean similares a los de mujeres jóvenes no embarazadas con carcinoma de mama. De esta forma, las características biológicas del tumor están determinadas más por la edad en el momento del diagnóstico que por el propio embarazo.

Es preciso mencionar que tanto el grado de diferenciación tumoral como el perfil inmunohistoquímico de las tumoraciones de mama que se diagnostican durante el embarazo representan dos aspectos diferenciales de estas neoplasias, cuando se comparan con las neoplasias mamarias fuera de la gestación. Es conocido que los cánceres mamarios que se manifiestan durante la gestación son más indiferenciados. [18]

En cuanto al perfil inmunohistoquímico de estas malformaciones, puede afirmarse que no existe un patrón común y no es fácil realizar comparaciones con la evolución de los cánceres diagnosticados fuera del embarazo, ya que se imbrican factores que no están relacionados tan sólo con la gestación como la edad de las pacientes, entre otros más.[19] La posible influencia del embarazo para determinar este tipo de comportamiento biológico de los cánceres en este grupo peculiar de la población es, como ya se ha dicho, difícil de precisar.

▻ Diagnóstico de cáncer de mama durante el embarazo

Por varios años se ha creído que la relación entre la gestación y el cáncer de mama suponía una evolución desfavorable de la enfermedad en todos los casos y que provocaba una disminución notable de la supervivencia de las pacientes. Es cierto que en la mayoría de las series históricas los estadios de la enfermedad son más altos en las mujeres embarazadas que en las no gestantes; desde luego, esto supone una evolución más desfavorable. Sin embargo, al realizar un cuidadoso análisis se pudo evidenciar que los factores etiológicos no se explican tan sólo por el embarazo, sino por otros que se vinculan con la edad de las pacientes y el retraso del diagnóstico, cuando no se identifican las formas de aparición en la mama gestante. En términos generales se puede afirmar que la gestación retrasa de manera significativa el diagnóstico del cáncer de mama.[12] Esto es así porque durante el embarazo se produce una serie de cambios muy importantes en la anatomía mamaria, con proliferación intensa tubuloalveolar, aumento de la vascularización de la glándula y cambios en el metabolismo celular que son progresivos hasta el parto. Todos estos acontecimientos hacen a la mama grávida mucho más difícil de explorar, por lo que la exploración clínica ofrece menos datos conforme progresa la edad gestacional. Por ello resulta muy importante una minuciosa exploración clínica de la mama en las primeras semanas de gestación. Por otro lado, los cambios fisiológicos gravídicos limitan la sensibilidad de la mamografía y ecografía.[20,21] A esta dificultad se añade, con relativa frecuencia, la falta de atención en la aparición de síntomas mamarios (aumentos de densidad glandular, dolor y telorrea) por parte de los obstetras, quienes los consideran "cambios de la mama gestante". Probablemente esto explica, cuando menos en parte, la creencia de que el embarazo influye sobre el cáncer de mama y lo hace mucho más agresivo, con la especificación del diagnóstico primario en estadios más avanzados. Sin embargo, la forma de aparición más frecuente del cáncer de mama durante el embarazo es el nódulo palpable;[22] la mastitis carcinomatosa es excepcional: 1% a 2% de los casos[23] (**Imagen 1**).

Imagen 1.
Paciente con cáncer de mama y embarazo de 35 semanas de gestación.

▻ Diagnóstico histopatológico

Las indicaciones para la obtención de material histológico procedente del tejido mamario sospechoso por clínica, o mediante procedimientos de imagen, son idénticas a las de la mujer no embarazada, de tal manera que no hay justificación alguna para omitir el estudio anatomopatológico ante la sospecha de patología tumoral en la mama gestante.[24] Se ha empleado con mucha frecuencia la obtención de muestras histológicas mediante la biopsia con aguja gruesa (o por *trucut*). Esta técnica es segura y no se han encontrado grandes problemas en su realización; más aún, la aceptación de las pacientes para su práctica es muy buena. El diagnóstico presuntivo se confirma en 90% de los casos. El grado de diferenciación tumoral y el perfil inmunohistoquímico se obtienen con la misma seguridad. Por consiguiente, se considera que esta técnica es la indicada para establecer el diagnóstico de certeza, ya que proporciona información esencial para el conocimiento correcto del tumor. La frecuencia de fístula láctea secundaria, es mínima.

Estudios de imagen

Mamografía bilateral

Es una técnica radiológica que no interfiere con el desarrollo del feto ni limita la posibilidad de la futura lactación.

Debido a los cambios fisiológicos gravídicos, la técnica sufre una disminución en su sensibilidad y especificidad, con tasa de falsos negativos hasta de 50% según algunos autores.[25] Sin embargo, en un estudio en el que se compararon las imágenes mamográficas de pacientes antes y durante la gestación, no se reconocieron diferencias significativas en cuanto a la densidad de la mama.[26]

La mamografía durante el embarazo es segura. En el pasado no se indicaba debido al daño relacionado con la radiación fetal, pero la mayor parte de los datos recientes se opone a esta creencia. Con una mamografía estándar, en sus dos proyecciones, el feto se expone a sólo 0.4 mrad (0.004 Gy). Las malformaciones congénitas y el aborto espontáneo ocurren cuando se exponen a más de 5 a 10 rad (0.05-0.1 Gy), especialmente antes de la semana 25 de gestación. La microcefalia es el principal riesgo y puede producirse con dosis tan bajas como 10 rad en gestaciones menores de ocho semanas. El retraso mental es posible con dosis de 12 a 20 rad (0.12-0.2 Gy) entre las semanas 8 a 10.[18]

Es pronto para poder establecer el beneficio que la mamografía digital puede ofrecer al diagnóstico de la neoplasia mamaria durante la gestación. La mamografía tiene sin duda su lugar en el abordaje diagnóstico del cáncer de mama, pero su utilidad es escasa debido al aumento de la densidad del tejido mamario. En cambio, el ultrasonido mamario puede detectar tumores sin sospecha clínica, por lo que es el estudio de elección en la mujer embarazada (**Imágenes 2 y 3**).[27,28]

Ecografía mamaria

El empleo del ultrasonido con equipos de alta definición y sondas de alta frecuencia permite la discriminación entre las lesiones quísticas y las sólidas. Resulta útil para la confirmación de la punción de biopsia de las lesiones mamarias.[29] Esta técnica no diferencia entre lesiones benignas y malignas de manera concluyente. Es el método diagnóstico por imagen más recomendado para la mujer embarazada para distinguir entre lesiones sólidas y quísticas en 97% de las pacientes. Esta técnica detectó 39 (92%) de 42 lesiones cancerosas en un estudio de casos y controles en mujeres japonesas, razón por la que puede preferirse un estudio de ultrasonido que una mamografía.[27,28-30]

Radiografías de tórax y abdomen

La dosis de radiación considerada de riesgo para el embrión, es de 10 rad. En una radiografía de tórax, la exposición a la radiación es de 0.06 rad. Se necesitarían entonces 166 tomas para generar algún riesgo real de orden teratogénico. En cambio, la radiografía de abdomen expone a 0.29 rad, por lo que se necesitarían aproximadamente 34 exposiciones por este método para originar riesgo.[31]

Imagen 2.
Mastografía con proyección cefalocaudal de una paciente de 24 años de edad con cáncer de mama y embarazo.

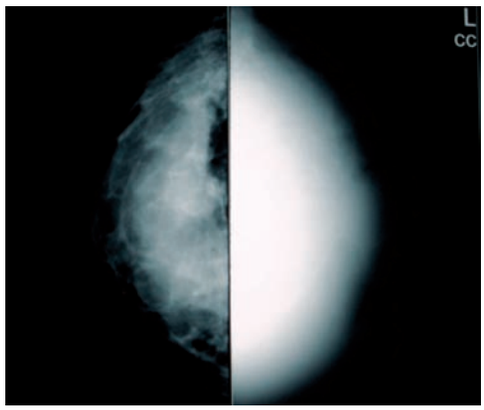
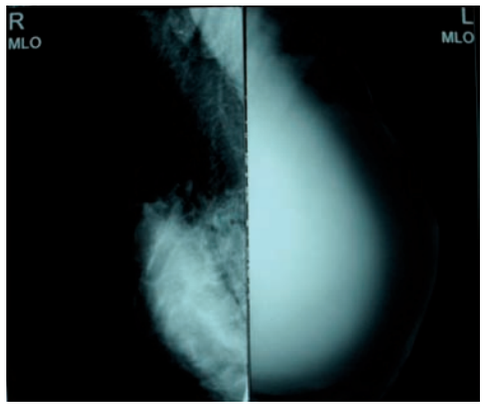


Imagen 3.
Mastografía con proyección mediolateral oblicua de una paciente de 24 años de edad con cáncer de mama y embarazo.



Tomografía computarizada

La tomografía computarizada no se recomienda durante el embarazo debido a la gran cantidad de radiación que emite y el riesgo de alterar el desarrollo fetal con estas técnicas.[1] Las consecuencias de la exposición prenatal a la radiación dependen de la dosis de radiación, su distribución y la edad gestacional en el momento de la exposición. Durante la organogénesis, y hasta las ocho semanas, puede llevar al embrión a la muerte y el feto es más sensible a las malformaciones inducidas por radiaciones, las cuales pueden ocurrir con exposiciones mayores de 0.05 Gy. En el lapso de las semanas 8 a 15 con un umbral de 0.06 a 0.31 Gy existe riesgo de retraso mental grave, microcefalia y crecimiento intrauterino retardado; entre las semanas 16 a 25, el riesgo ocurre a 0.28 Gy. Se ha calculado que la tomografía computarizada para

examinar el hígado y la pelvis pueden exponer al feto a dosis medias de 0.0036 y 0.089 Gy, respectivamente.[31]

Resonancia magnética nuclear

Dado que se trata de una técnica que no emplea radiaciones ionizantes, es segura para el feto y puede utilizarse durante la lactancia; las series son limitadas pero, en relación con los resultados en pacientes no embarazadas, la eficacia para un diagnóstico fiable es alta.[26,32]

La resonancia magnética de mamas es un examen útil en estos casos, ya que puede detectar cáncer oculto en términos mamográficos y clínicos. El examen se basa en la neovascularización y angiogénesis del cáncer y utiliza medio de contraste paramagnético (gadolinio) intravenoso, que produce impregnación de lesiones tumorales que se destacan por el aumento de vascularización y la permeabilidad capilar; esto produce una extravasación acelerada en el sitio del tumor, que debe evitarse en las pacientes embarazadas puesto que atraviesa la barrera placentaria.[33] Kriege y colaboradores[34] compararon la resonancia magnética, mamografía y examen físico en pacientes de alto riesgo en un periodo se seguimiento promedio de 2.9 años. Se detectaron 51 tumores con sensibilidad (cáncer invasivo) de 17.9% para el examen físico, 33.3% para la mamografía y 79.5% para la resonancia magnética y una especificidad de 98.1%, 95.0% y 89.8%, respectivamente.

Kuhl y colaboradores[35] compararon la efectividad de la mamografía, ultrasonido y resonancia magnética para el diagnóstico de cáncer de mama en pacientes con alto riesgo familiar. Se evaluó a 529 pacientes y se realizaron 1542 controles en un lapso promedio de 5.3 años de seguimiento. Se identificaron 42 cánceres. Las sensibilidades fueron de 33%, 40% y 49% para la mamografía sola, el ultrasonido y las dos pruebas combinadas, respectivamente. La sensibilidad de la resonancia magnética fue de 91%. La especificidad de la resonancia (97.2%) y la mamografía (96.8%) fue equivalente.

Con base en esto, se concluye que los medios convencionales para el diagnóstico de los tumores mamarios poseen las mismas indicaciones tanto para la mujer gestante como para la que no lo está, con algunas modificaciones en cuanto a su sensibilidad ya que dependen de las variaciones anatómicas de la glándula mamaria durante el embarazo, así como de los posibles efectos secundarios sobre el feto.

▷ Evaluación para establecer la etapa del cáncer mamario durante el embarazo

Según sea el estadio clínico de la presentación, una completa evaluación para determinar la etapa debe incluir la realización de una radiografía de tórax, un ultrasonido del hígado, o resonancia magnética nuclear si es necesario, y una resonancia magnética sin medio de contraste de tórax y espina lumbar para incluir el reconocimiento de metástasis óseas.

▷ Tratamiento del cáncer de mama relacionado con el embarazo

La terapéutica empleada debe individualizarse de acuerdo con la presencia o ausencia del embarazo. En presencia de gestación, las determinantes para el abordaje son la edad gestacional, la etapa del cáncer de mama y la decisión de la paciente, la cual debe incluir a la familia para decidir la continuación o la interrupción del embarazo.[36]

Tratamiento local

Tratamiento quirúrgico

La intervención quirúrgica del cáncer de mama puede ser segura durante los tres trimestres del embarazo y con un riesgo mínimo para el desarrollo del feto.[37,38] Es preferible efectuar este procedimiento después de completar las 12 semanas de gestación, debido a que el riesgo de aborto espontáneo es muy elevado antes de ese periodo.[39] En la mayoría de las pacientes embarazadas con cáncer de mama se prefiere practicar la mastectomía radical modificada más disección radical de axila en lugar de procedimientos conservadores para evitar el uso de la radioterapia. La operación quirúrgica conservadora de mama, más la disección radical de axila, puede ser posible en mujeres que se diagnostican en el tercer trimestre del embarazo, con cáncer de mama en etapas tempranas o localmente avanzado posterior a la administración de quimioterapia neoadyuvante.[40,41]

Tratamiento con radioterapia

El empleo de esta forma terapéutica como tratamiento complementario de la resección quirúrgica conservadora de mama o posmastectomía está contraindicado durante el embarazo por el riesgo de exponer el feto a la radiación. El periodo de mayor riesgo de exposición fetal es el primer trimestre de la gestación. La radiación de 10 a 90 cGy en este periodo se relaciona con un incremento del riesgo de retraso mental.[42]

Tratamiento sistémico

Quimioterapia

La información disponible para la aplicación de quimioterapia durante el embarazo es limitada. La incidencia global de malformaciones congénitas después del suministro de citotóxicos es de 3%, pero el riesgo en la

población de presentar malformaciones congénitas es de 2% a 3%.[43] El riesgo teratogénico de los citotóxicos empleados en embarazadas con cáncer de mama depende de múltiples factores, entre ellos la edad gestacional del feto y los efectos de cada agente citotóxico. Algunas series con este tipo de casos reportan que el riesgo de malformaciones congénitas por la exposición a quimioterapia en el primer trimestre es del 10% a 20%; durante el segundo y tercer trimestre, el riesgo disminuye alrededor de 1% a 3%.[44-46]

Un estudio prospectivo de 24 pacientes embarazadas con cáncer de mama del *M.D. Anderson Cancer*, tratadas con quimioterapia (esquema FAC: fluorouracilo, adriamicina y ciclofosfamida) en el segundo y tercer trimestres del embarazo, no demostró complicaciones significativas en el feto o recién nacidos.[47]

En otra serie retrospectiva de casos en la que se analizó a 160 pacientes con diferentes tipos de neoplasias y embarazo que recibieron quimioterapia basada en antraciclinas, 34 (21%) tenían el diagnóstico de cáncer de mama. Durante el primer trimestre, el porcentaje de malformaciones congénitas fue del 11%; 2% en el segundo trimestre y 0% en el tercero.[48] Actualmente se recomienda el uso de las antraciclinas durante el segundo y tercer trimestres del embarazo con riesgo mínimo de malformaciones fetales.

Existen nueve reportes sobre la administración de paclitaxel durante el embarazo. La edad media de las pacientes fue de 36 años, cinco con cáncer de ovario y cuatro con cáncer de mama. Este fármaco se empleó durante el segundo trimestre en cuatro casos y en cinco durante el tercero. En ocho de las nueve pacientes, el embarazo se resolvió por cesárea y en ninguna se registraron malformaciones congénitas.[49-55]

En seis casos se describe el uso del docetaxel en pacientes con cáncer de mama y embarazo. La edad media de las pacientes fue de 34.5 años. El tratamiento se administró en tres casos en el segundo trimestre y tres en el tercero. De los hallazgos que se reportaron, un feto desarrolló hidrocefalia antes de la administración de docetaxel y en el resto de los casos no se informaron malformaciones congénitas.[56-60]

Terapia hormonal

Se han descrito defectos neonatales con el uso de tamoxifeno en ratones hembras.[61] Sin embargo, Clark,[62] no reportó malformaciones fetales en 85 mujeres que se embarazaron mientras tomaban tamoxifeno profiláctico para el cáncer de mama. Pese a ello, no se recomienda el uso de este fármaco durante el embarazo.

Anticuerpos monoclonales

Hay seis reportes de casos en los que se ha utilizado trastuzumab en mujeres embarazadas y con cáncer de mama. La edad media de las pacientes fue de 30 años; en tres de los seis casos se presentó anhidramnios y en uno se revirtió al suspender la administración del trastuzumab. No se presentaron malformaciones congénitas.[63-66]

Seguimiento durante el embarazo

Dado que no existen pruebas que indiquen que la atención prenatal es diferente en pacientes embarazadas con cáncer de mama, la madre y el feto deben recibir la atención prenatal regular. Antes de iniciar la quimioterapia es necesario realizar una ecografía para asegurar que no existen malformaciones anteriores a la administración del tratamiento y evaluar el crecimiento fetal antes de cada ciclo.[67, 68]

Resolución del embarazo

Cuando la maduración del feto es suficiente, el embarazo puede resolverse mediante inducción del trabajo de parto o por cesárea. Si se planea administrar quimioterapia al término del embarazo, la resolución por parto vaginal no retrasa su inicio. Sin embargo, las preferencias personales de la paciente, así como su historial obstétrico, deben considerarse al tomar esta decisión. La unidad hospitalaria debe de contar con apoyo neonatal para las complicaciones posibles.[69] Aunque las metástasis a la placenta por cáncer de mama son raras, se sugiere realizar un estudio histopatológico para documentarlas cuando existan.[70,71] Si la embarazada se encuentra bajo quimioterapia, se recomienda dejar pasar por lo menos tres semanas para la resolución del embarazo, con la finalidad de evitar riesgos de neutropenia, infección y sangrado. Si el tratamiento se continúa después del parto, está contraindicada la lactancia materna durante la quimioterapia u hormonoterapia, ya que la mayoría de los medicamentos pasa a la leche materna.[72]

▷ Tratamiento de apoyo

Efecto psicológico en el embarazo relacionado con cáncer de mama

El cáncer de mama y el embarazo parecen dos sucesos opuestos. El primero evoca muerte; el segundo, vida. Cualquiera que sea el estado psicológico anterior a la notificación del cáncer, la mayoría de las mujeres experimenta reacciones de ansiedad, tristeza, indefensión, desesperanza, vergüenza, y sentimientos de impotencia ante el cáncer.[73-75] Peor aún, si se agrega el hecho de

estar embarazada, resulta un factor generador de ansiedad[76] ante el futuro de ambas vidas. Es necesario que el personal de salud ofrezca una atención adecuada y tome en cuenta todas estas manifestaciones.

En el aspecto psicológico, el embarazo es un periodo en el que se llevan a cabo tareas de maduración emocional, las cuales forman parte de un proceso que transcurre por tres etapas.[77] La primera es la aceptación del embarazo, la adaptación a los cambios fisiológicos y físicos, así como la aceptación de la amenaza del parto con sus riesgos y dolor. La segunda, la adaptación a la función materna, que supone dejar o cambiar otros papeles personales y la interacción con los otros. La tercera se relaciona con el proceso de vinculación entre madre y feto.

Por sí mismo, el embarazo, sin ninguna aparente complicación, representa un grado de estrés elevado y genera tensión emocional,[77] fluctuaciones en el estado de ánimo, mayor labilidad e hipersensibilidad emocional.[76] Cuando el proceso del embarazo se ve alterado por alguna dificultad, ya sea malformación fetal o alteraciones cromosómicas que generen síndromes, el curso natural del proceso psicológico del embarazo se modifica y activa diferentes reacciones emocionales, que Torres denomina reacciones de duelo.[77] Éstas experimentan una intensificación debido a las expectativas y esperanzas relacionadas con la procreación de un hijo.

En el Instituto Nacional de Perinatología de la Ciudad de México, en un estudio realizado con pacientes cuyo embarazo era de alto riesgo, se encontraron dos áreas que originan alteraciones psicológicas: la primera se relaciona con el suceso mismo, como reacción de ajuste a la situación transitoria a través de fluctuaciones en el estado de ánimo o malestar psicológico, como los trastornos adaptativos con estado de ánimo depresivo, ansiedad y mixtos, además del duelo y algunos problemas conyugales. La segunda área es aquella en la que el embarazo reactiva conflictos anteriores no resueltos, causan angustia o son inconscientes, persistentes y recurrentes; en esta categoría se encuentran los trastornos del estado de ánimo, los trastornos de ansiedad y los de personalidad.[76]

En el caso de la confirmación de un diagnóstico de cáncer de mama en la mujer embaraza, éste se convierte en el factor detonante que exacerba el estado de estrés y desencadena una serie de reacciones psicológicas, que dependen de los antecedentes psicológicos, sociales y médicos de cada paciente (**Tabla 2**).

▷ Recomendaciones para los médicos

Haber se ha referido a la relación paciente-médico como una de las más importantes y señala que la paciente tiene la sensación de que su vida se halla en manos del médico; los conflictos y la comunicación deficientes pueden generar mayor preocupación y ansiedad.[73] Garza resalta la importancia de que todo el equipo de oncología tenga la sensibilidad para apoyar a la paciente, así como calidad humana para establecer la interacción entre el médico y el paciente. Para fortalecer dicha relación, y a la luz del efecto psicológico al que está sometida la mujer gestante que presenta cáncer de mama, cabe resaltar aspectos básicos e importantes en una relación de ayuda.[75]

Okun, de acuerdo con su modelo de terapia de las relaciones personales, establece tres dimensiones para las relaciones de ayuda, definida como el apoyo para entender, superar o enfrentar problemas. La primera dimensión consta del desarrollo de una relación cálida, de confianza, sincera, empática, entre las personas que forman la relación. La segunda dimensión está formada por las habilidades de comunicación: escuchar mensajes verbales y percibir los mensajes no verbales. La tercera dimensión consta de los valores y actitudes personales, la ética, la formación y la práctica profesional; se resalta la importancia de cobrar conciencia de los propios valores sociales, económicos y culturales para poder reconocer las propias necesidades y problemas, para separarlos de los de sus pacientes, algo que denomina autoconciencia.[79]

La transmisión de la información a la paciente es constante. Dada su importancia, se considera una habilidad verbal compartir información objetiva de acuerdo con los hechos,[79] así como escoger de modo cuidadoso las palabras.[73] Es de ayuda para la paciente resumirle la información y disipar sus dudas. Es importante hacerlo al final de la consulta o al principio de una cita posterior, de tal forma que el clínico tenga la oportunidad de alentar a la paciente a compartir su opinión.[79] Esto permite asimilar la información de manera eficiente durante las consultas y la paciente puede tomar notas, preguntar y anotar las dudas; todo ello facilitará su comprensión.[73]

Cuando el médico confirma un pronóstico desfavorable, es asunto controversial la decisión de notificarlo o no al paciente. Ocultar la verdad es delicado porque puede perderse la confianza en el médico, además de que es importante que el paciente conozca el pronóstico para que pueda realizar ajustes y planear las condiciones de vida familiar y económica.[75] Sin embargo, en muchos casos el paciente no asimila el pronóstico desfavorable y fallece antes del tiempo previsto. Es por ello que es necesario ser sensibles frente a esta situación, ser empático y apoyarse en la familia para tomar la decisión que se crea conveniente.

Es de vital importancia que la paciente confíe en su médico y que sienta seguridad para expresar sus sentimientos,

Tabla 2.
Factores que alteran la respuesta de la paciente embarazada

	Psicológicos	Sociales	Médicos
Condiciones desfavorables	Antecedentes de trastornos psiquiátricos: alcoholismo, toxicomanía, depresión, ansiedad crónica, altos niveles de angustia al inicio y durante la enfermedad, estrategias de afrontamiento limitadas.[78] Etapa de vida que cursa (juventud o vida adulta).[75,78]	Conceptualizaciones previas de la enfermedad y las experiencias que tenga con el cáncer.[74, 73] La construcción social que se tenga de la enfermedad en relación con un evento catastrófico, muerte, incapacidad, desfiguración física, dependencia e interrupción de la relación con los otros.[78] Sentimientos de culpa (un estado de salud malo se imputa a motivos personales y debilidad de carácter).[73]	Tipo de cáncer. Estadio. Síntomas indicativos de vulnerabilidad, como el dolor[78]
Condiciones favorables	Autoconfianza. Estabilidad emocional. Fortaleza. Afectividad positiva. Autoestima adecuada. Afrontamiento satisfactorio a situaciones de estrés (la enfermedad y cambios en el estilo de vida que genera).[74]	Las condiciones de vida, recursos económicos, disponibilidad del apoyo médico, familia, pareja, hijos, amigos. El compromiso y la comunicación que haya entre ellos.[75]	Diagnóstico detectado a tiempo

con la certeza que se la va a escuchar;[73] de esa manera puede lograrse su cooperación[75] y se crea una atmósfera de confianza en la que se sienta respetada.[80]

El respeto supone un sincero interés, que se puede demostrar en la manera de expresar atención,[80] como respetar las horas concertadas[73] y hacer sentir que el problema de la paciente no es menos importante para la persona que ofrece la ayuda. Es preciso mostrar total respeto a la paciente y su mundo y demostrarlo no sólo con palabras sino también con el comportamiento.[80]

Las habilidades empáticas fomentan la confianza y son esenciales para la efectividad de las destrezas de comunicación y la eficacia de todo el proceso de ayuda.[79] La empatía es un estado de inmersión total en el paciente; el médico debe ver la enfermedad desde la perspectiva de la persona, abandonar temporalmente su espacio y tratar de pensar, actuar y sentir como si ocupara el espacio del otro, para luego regresar a sí mismo y percibirlo desde las referencias personales.[80] Es posible entonces comprender las emociones y sentimientos del paciente y establecer con él un ambiente de empatía, incluidos los propios valores del enfermo.[79] De esa forma se puede comprender lo que resulta especial de su enfermedad y considerar sus necesidades por encima de todo.[73]

Escuchar es una herramienta esencial y equivale a conceder atención a la forma de explicar las preocupaciones y el tono, las expresiones y los gestos utilizados. Esto crea una interacción con retroalimentación entre emisor y receptor;[80] esto, a su vez, favorece la comunicación asertiva de la paciente,[73] ya que cada persona tiene formas distintas de reaccionar.

En conjunto, dichas herramientas de comunicación ayudan a trabajar de manera vinculada en busca de la mejor solución para ponerla en práctica.[79] A su vez, fomentan la responsabilidad de la paciente para que asuma sus decisiones con base en una buena información.[73] La mujer embarazada con diagnóstico de cáncer de mama debe tomar decisiones vitales: a qué tipos de tratamiento puede someterse para el cáncer (quimioterapia durante el embarazo), posibilidad de abortar o esperar hasta el término del embarazo, entre otras, de acuerdo con las recomendaciones del médico. En ello reside la importancia de tener comunicación, no sólo entre el médico y el paciente, sino entre los propios clínicos de las distintas especialidades. Si la relación no es fluida entre ambos, o entre los especialistas, el médico que lleva el caso debe estar dispuesto a mejorarla, o bien a ayudar a encontrar a otro médico.[73]

Además de aportar el conocimiento, experiencias, habilidades e información, el profesional de la salud debe ver al paciente como un ser humano, con una historia, prejuicios y debilidades; en muchos casos, el comportamiento revela que se evalúan los pensamientos y sentimientos de la paciente de acuerdo con los propios,

y el clínico acaba por decidir lo que debe pensar o sentir la persona.[80] En última instancia, la única finalidad es promover un mejor estado psicológico en estas pacientes.

▹ Conclusiones

El cáncer de mama durante el embarazo constituye un reto para el equipo multidisciplinario que enfrenta esta entidad. En necesario contar con los recursos suficientes para instituir un tratamiento oportuno y buscar la mejor alternativa para la paciente y el feto. Afortunadamente, se dispone de estudios de imagen para determinar el diagnóstico, datos del efecto de la radioterapia sobre el feto, procedimientos quirúrgicos indicados y, aunque limitado, uso racional de citotóxicos. La integración de nuevas técnicas, procedimientos y medicación se encuentra limitada por cuestiones éticas, cuando se relaciona el cáncer con el embarazo; en la actualidad, sólo el reporte de casos especiales puede proporcionar alguna evidencia o experiencia.

Bibliografía

1. DiSaia PJ, Creasman WT. Cancer in pregnancy in clinical gynecologic oncology, 6th Edición, Mosby U.S.A; 2001 439-72.
2. Molckovsky M, Madarnas Y. Breast cancer in pregnancy: a literature review. *Breast Cancer Res Treat* 2008;108:333-338.
3. SALUD MÉXICO 2006, Secretaría de Salud. Información para la rendición de cuentas. 2007, México.
4. Millet A, Rodríguez M. García, S. Cáncer de mama asociado a gestación. *Rev Gin Obst* 2000;1:89.
5. Gonell-Morel GE. Cáncer y embarazo: ocho años de experiencia institucional. Tesis Instituto Nacional de Perinatología. UNAM 1996.
6. Smith BL. The breast. *Cur Probl Obstet Gynecol Fertil* 1996;1:5.
7. Petrek JA. Breast cancer during pregnancy. *Cancer* 1994;74:518-527.
8. Petrek JA, Dukoff R, Rogatko A. Prognosis of pregnancy associated breast cancer. *Cancer* 1991; 67: 869-72.
9. Maggard MA, O´Connell JB, Lane KE, Liu JH, Etzioni DA, Ko CY. Do young breast cancer patients have worse outcomes? *J Surg Research* 2003;113:108-113.
10. Pabst Feller I, Ballesteros R, Garbiñe. Cancer of the breast and pregnancy. *Bol Hosp San Juan de Dios* 1989; 36(6):376-86.
11. Parente JT. Amsel M, Lerner IR, *et al*. Breast cancer associated with pregnancy. *Obstet Gynecol* 1988; 71: 861.
12. DL, Theriault RL. Holmes FA, *et al*. Management of breast câncer during pregnancy using a standardized protocol. *J Clin Oncol* 1999; 17: 855.
13. King RM, Weich JS, Martin JK. Carcinoma of the breast associated with pregnancy. *Surg Gynecol Obstet* 1985; 160: 228-32.
14. Middleton LP, Amin M. Breast carcinoma in pregnant women. Assessment of clinicopathological and inmunihistoquimical features. *Cancer* 2003; 98: 1055-60.
15. Maru D, Middleton IP, Wang S, Valero V, Sahin A. HER -2 neu and p53 overexpression as biomarkers of breast carcinoma in women age 30 years and younger. *Cancer* 2005;103:900-905.
16. Elledge RM, Ciocca DR, Langone G, McGuine WL. Estrogen receptor, progesterone receptor, and HER-2/Neu protein in breast cancers from pregnant patients. *Cancer* 1993; 71(8):2499-506.
17. Lebeau A, Delmling D, Kaltz C, *et al*. Her2/neu analysis in archival tissiue samples of human breast câncer comparison of immunohistochemistry and fluorescence in situ hybridation. *J Clin Oncol* 2001;19:354-363.
18. Pavlidis N, Pentheroudakis G. The pregnant mother with breast cancer: Diagnostic and therapeutic management. *Can Treat Rev* 2005; 31: 439- 447.
19. Gentilini M, Masullo N, *et al*. Breast cancer diagnosed during pregnancy and lactation: biological features and treatment options. *Eur J Sur Onco* 2005; 31. 232-236.
20. Barrat J, Marpeau L, Demuynk B. Cancer du sein et grossesse. *Fr Gynecol Obstet* 1993; 88: 544.
21. Sorosky JI, Scott-Conner CEH. Breast disease complicating pregnancy. *Obstet Gynocol Clin North Am* 1998; 25 (2); 353.
22. Fernández-Cid A, Dexeus S, Mallafró J. Cáncer de mama en embarazo y puerperio. In: Fernández-Cid A. Mastología. 20 ed. Barcelona: Masson SA. 2000: 711-23.
23. Ouerleu D. Cancers el grossesse. In: Encycl Méd Chir Gynécologie/Obstétrique Paris: Editions Scienlifi ques et Medicales Elsevier SAS. 2000: 5-049-C-l0, 12 pp.
24. Novotny DB, Maygarden SJ, Shermer RW, Frable WJ. Fine needle aspiration of benign and malignant breast meases associatcd with pregnancy. *Acta Cytol* 1991; 35:676-686.
25. Disaia PJ. Cáncer y embarazo. In: Disaia PJ. Precis – V. Actualizaciones en Obstetricia y Ginecología. Ed. española. Barcelona: Medical Trends SL. 1998: 353.
26. Swinford AE. Adler DD y Garver KA. Mammographic appearance of the breasts during pregnancy and lactation: false assumptions. *Acad Radiol* 1998; 5:467.
27. Cárdenas-Sánchez J, Sandoval-Guerrero F. Segunda revisión del Consenso Nacional sobre Diagnóstico y Tratamiento del Cáncer Mamario, Colima, México 2005. p.36-37.
28. Norma Oficial Mexicana NOM-041-SSA2-2002, Para la prevención, diagnóstico, tratamiento, control y vigilancia epidemiológica del cáncer de mama. Diario Oficial de La Federación. Septiembre de 2003.
29. Hernández G. Cáncer de mama y embarazo. In: Díaz-Faes. Cáncer de mama: avances en diagnóstico y tratamiento. León: Santiago García, 1990: 230-42.
30. Woo JC,Yu T, Hurd TC.Breast cancer in pregnancy a literatura review. *Arch Surg* 2003; 138:91-8.
31. Ring AE, Smith IE, Ellis PA. Breast cancer and pregnancy. *Ann Oncol* 2005;16:1855-60.
32. Mattison DR. Augtuaco T. Magnetic resonance imaging in pregnatal diagnosis. *Clin Obstet Gynecol* 1988; 31,353.
33. Kriege M, Brekelmans C, Boetes C, Besnard P, Zonderland H, Obdeijn I, *et al*. Efficacy of MRI and mammography for breast-cancer screening in women with a familial or genetic predisposition. *N Engl J Med* 2004;351:427-37.
34. Kreige M, Brekelmans C, Boetes C, Muller S, Zonderland H, Obdeijn I, *et al*. Differences between first and subsequent rounds of the MRISC breast cancer screening program for women with a familial or genetic predisposition. *Cancer* 2006;106:2318-26.
35. Kuhl, Warner E, Plewes D, Hill K, Causer P, Zubovits J, Jong R, *et al*. Surveillance of BRCA1 and BRCA2 mutation carriers with magnetic resonance imaging, ultrasound, mammography, and clinical breast examination. *JAMA* 2004;292:1317-25.
36. Breast carcinoma during Pregnancy. International Recommendations from a Expert Meeting. *Cancer* 2006;106:2.
37. Mazze RI, Kallen B. Reproduction outcome after anesthesia and operation during pregnancy: a registry study of 5405 cases. *Am J Obstet Gynecol* 1989; 161:1178–1185.
38. Duncan PG, Pope WDB, Cohen MM, Greer N. Fetal risk of anesthesia and surgery during pregnancy. *Anesthesiology* 1986; 64:790–794.
39. Tummers P, De Sutter P, Dhont M. Risk of spontaneous abortion in singleton and twin pregnancies after IVF/ICSI. *Hum Reprod* 2003; 18:1720–1723.
40. Kuerer HM, Gwyn K, Ames FC, Theriault RL. Conservative surgery and chemotherapy for breast carcinoma during pregnancy. *Surgery* 2002;131:108–110.
41. Kaufmann M, von Minckwitz G, Smith R, et al. International expert panel on the use of primary (preoperative) systemic treatment of operable breast cancer: review and recommendations. *J Clin Oncol* 2003; 21:2600–2608.
42. National Commission on Radiological Protection. Pregnancy and Medical Radiation. *Ann IRCP* 2000; 30.
43. Kalter H, Warkany J. Congenital malformations. *N EnglJ Med* 1983;308:424–431.
44. Doll DC, Ringenberg QS, Yarbro JW. Antineoplastic agents in pregnancy. *Semin Oncol* 1989; 16:337–346.
45. Ebert U, Loffler H, Kirch W. Cytotoxic therapy and pregnancy. *Pharmacol Ther* 1997; 74:207–220.
46. Woo JC, Yu T, Hurd TC. Breast cancer in pregnancy: a literature review. *Arch Surg* 2003; 138:91–98.
47. Berry DL, Theriault RL, Holmes FA, *et al*. Management of breast cancer during pregnancy using a standardized protocol. *J Clin Oncol* 1999;17:855–861
48. Germann N, Goffinet F, Goldwasser F. Anthracyclines during pregnancy: embryo–fetal outcome in 160 patients. *Ann Oncol* 2004;15:146–150,
49. Sood AK, Shahin MS, Sorosky JI. Paclitaxel and platinum chemotherapy for ovarian carcinoma during pregnancy. *Gynecol Oncol* 2001; 83: 599–600.
50. Mendez LE, Mueller A, Salom E, Gonzalez-Quintero VH. Paclitaxel and carboplatin chemotherapy administered during pregnancy for advanced epithelial ovarian cancer. *Obstet Gynecol* 2003; 102: 1200–1202.

51. Gadducci A, Cosio S, Fanucchi A, *et al*. Chemotherapy with epirubicin and paclitaxel for breast cancer during pregnancy: case report and review of the literature. *Anticancer Res* 2003; 23: 5225–5229.
52. Gonzalez-Angulo AM, Walters RS, Carpenter RJ Jr, *et al*. Paclitaxel chemotherapy in a pregnant patient with bilateral breast cancer. *Clin Breast Cancer* 2004; 5: 317–319.
53. Bader AA, Schlembach D, Tamussino KF et al. Anhydramnios associated with administration of trastuzumab and paclitaxel for metastatic breast cancer during pregnancy. *Lancet Oncol* 2007; 8: 79–81.
54. Mantovani G, Gramignano G, Mais V, *et al*. Use of chemotherapy for ovarian cancer during human pregnancy: case report and literature review. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2007; 131: 238–239.
55. Lycette JL, Dul CL, Munar M, *et al*. Effect of pregnancy on the pharmacokinetics of paclitaxel: a case report. *Clin Breast Cancer* 2006; 7:342–344.
56. De Santis M, Lucchese A, De Carolis S, *et al*. Metastatic breast cancer in pregnancy: first case of chemotherapy with docetaxel. *Eur J Cancer Care* 2000; 9: 235–237.
57. Gainford MC, Clemons M. Breast cancer in pregnancy: are taxanes safe? *Clin Oncol* 2006;18:159.
58. Potluri V, Lewis D, Burton GV. Chemotherapy with taxanes in breast cancer during pregnancy: case report and review of the literature. *Clin Breast Cancer* 2006; 7: 167–170.
59. Nieto Y, Santisteban M, Aramendia JM, *et al*. Docetaxel administered during pregnancy for inflammatory breast carcinoma. *Clin Breast Cancer* 2006; 6:533–534.
60. Sekar R, Stone PR. Trastuzumab use for breast cancer in pregnancy. *Obstet Gynecol* 2007; 110: 507–510
61. Cunha GR, Taguchi O, Namikawa R, Nishizuka Y, Robboy SJ. Teratogenic effects of clomiphene, tamoxifen, and diethylstilbestrol on the developing human female genital tract. *Hum Pathol* 1987;18:1132–1143.
62. Clark S. Prophylactic tamoxifen. *Lancet* 1993;342:168.
63. Fanale MA, Uyei AR, Theriault RL, *et al*. Treatment of metastatic breast cancer with trastuzumab and vinorelbine during pregnancy. *Clin Breast Cancer* 2005; 6: 354–356.
64. Watson WJ. Herceptin (trastuzumab) therapy during pregnancy: association with reversible anhydramnios. *Obstet Gynecol* 2005; 105: 642–643.
65. Waterston AM, Graham J. Effect of adjuvant trastuzumab on pregnancy. *J Clin Oncol* 2006; 24: 321–322
66. Shrim A, Garcia-Bournissen F, Maxwell C, *et al*. Favorable pregnancy outcome after trastuzumab (herceptin) use during pregnancy. Case report and updatedliterature review. *Reprod Toxicol* 2007; 23: 611–613.
67. ACOG Committee on Obstetric Practice. ACOG practice bulletin. Diagnosis and management of preeclampsia and eclampsia. Number 33, January 2002. American College of Obstetricians and Gynecologists. *Int J Gynaecol Obstet* 2002;77:67–75.
68. Lamont RF. International Preterm Labour Council. Evidence- based labour ward guidelines for the diagnosis, management and treatment of spontaneous preterm labour. *J Obstet Gynaecol* 2003;23:469–478.
69. Lydon-Rochelle M, Holt VL, Martin DP, Easterling TR. Association between method of delivery and maternal re-hospitalization. *JAMA* 2000;283:2411–2416.
70. Alexander A, Samlowski WE, Grossman D, *et al*. Metastatic melanoma in pregnancy: risk of transplacental metastases in the infant. *J Clin Oncol* 2003;21:2179–2186.
71. Dunn JS Jr, Anderson CD, Brost BC. Breast carcinoma metastatic to the placenta. *Obstet Gynecol* 1999; 94:846.
72. Theriault RL, Stallings CB, Buzdar AU. Pregnancy and breast cancer: clinical and legal issues. *Am J Clin Oncol* 1992; 15:535–539.
73. Haber S. Cáncer de mama: manual de tratamiento psicológico. Barcelona: Paidós. 2000.
74. García V, González B. Bienestar psicológico y cáncer de mama. Avances en Psicología Latinoamericana 2007; 25: 72-80.
75. Garza G. Cáncer. Guía para médicos, pacientes y familiares. México: Ed. Trillas. 2006.
76. Gómez L, Aldana C. Alteraciones psicológicas en la mujer con embarazo de alto Riesgo. *Psicología y Salud* 2007;17: 53-61.
77. Torres G. Impacto emocional del embarazo de alto riesgo. *Rev Colomb Psiq* 2004; 33: 258-297.
78. Meza RM. Guía clínica de intervención psicológica de la mujer con cáncer de mama y ginecológico. *Perinatol Reprod Hum* 2007; 21:72-80.
79. Okun B. Ayudar de forma efectiva, Counseling. Técnicas de terapia y entrevista. Barcelona: Paidós. 2001.
80. Benjamin A. The helping interview with case illustrations. Boston: Houghton Mifflin Company. 2001.

Artículo de revisión

Trastornos del gusto en pacientes oncológicos

Taste disorders in oncology patients

Sánchez-Lara K, Rodríguez-Ríos L, Sosa-Sánchez R, Green-Renner D.

▹ **Resumen**

Las alteraciones de la función gustativa, como la disgeusia, se han reportado hasta en 50% a 60% de los pacientes sometidos a tratamiento oncológico. Dichas alteraciones son factores etiológicos que contribuyen a la anorexia y efectos secundarios de la pérdida de peso y desnutrición que afectan la calidad de vida del paciente. Debido al propio padecimiento y a algunos tratamientos oncológicos, la cavidad bucal está expuesta a complicaciones y alteraciones que promueven la atrofia y destrucción de las papilas gustativas. La pérdida de la percepción gustativa suele ser transitoria y no existen tratamientos específicos recomendables para esta afección; sin embargo, las modificaciones dietéticas y recomendaciones alimentarias durante este proceso pueden disminuir la pérdida de peso y mejorar de forma significativa la calidad de vida del paciente oncológico.

Palabras clave: Disgeusia, cáncer, calidad de vida, México.

▹ **Abstract**

Taste disorders have been reported in 50-60% of oncology patients. These alterations can adversely affect food choice and intake, and have been implicated in weight loss, malnutrition and diminished quality of life of cancer patients. Taste disturbances should attributed to tumor, medications and oncology treatments, as a result of excessive dryness of the oral cavity or damage or destruction of taste buds. Most of the time, taste disorders in cancer patients are reversible, although treatment options for taste disturbances remain limited, dietetic modifications and treatment can reduce weight loss and improve quality of life in oncology patients.

Key words: *Disgeusia, cancer, quality of life, Mexico.*

Centro Oncológico Integral Diana Laura Riojas de Colosio. Fundación Clínica Médica Sur

Correspondencia: Lic. Karla Sánchez Lara. Puente de Piedra No. 150, Col Toriello Guerra, Delegación Tlalpan C.P. 14050 México, D. F. Teléfono: 5424-7200 extensiones: 7232 y 7283. *Correo electrónico:* ksanchez@medicasur.org.mx

▷ Introducción

Los cambios en la percepción de los sabores ocurren en 30% a 60% de los pacientes bajo tratamiento oncológico.[1-3] Los trastornos del gusto pueden manifestarse como ausencia del gusto,[4] disminución de la sensibilidad (hipogeusia); incremento de la sensibilidad para alguno o todos los sabores (hipergeusia) o distorsión del sabor normal (disgeusia).[5,6] Los cambios en los umbrales de percepción y reconocimiento de uno o más de los cinco gustos básicos: ácido, salado, dulce, amargo y umami, [7] tienen importancia clínica en el paciente oncológico, ya que además de afectar en grado notorio su calidad de vida,[8] es uno de los principales factores de modificación de los hábitos alimentarios y de la anorexia, lo cual favorece la pérdida de peso y la desnutrición del paciente con cáncer.[9,10]

▷ Mecanismos de la percepción normal de los sabores

El gusto permite reconocer los sabores propios de los alimentos; es una percepción mediada por quimiorreceptores, que junto con el olfato forma parte de la quimiosensibilidad relacionada con la alimentación. En la cavidad bucal se manifiesta la primera etapa del sistema sensorial gustativo, donde el paladar, faringe, epiglotis, laringe, y sobre todo la lengua, están cubiertos de papilas que albergan los botones gustativos. Cada botón gustativo contiene entre 50 y 100 células receptoras gustativas, que se renuevan de manera constante.[11] El sabor amargo se percibe en la base de la lengua, mientras que el dulce en la punta, el ácido a los lados, el salado en los bordes y el umami (glutamato) en el plano medio de la lengua.[12] La sensación de los sabores se inicia con la interacción del estímulo (alimento degustado), con receptores acoplados a la proteína G y a los canales del sodio y potasio que convierten y transmiten la información química a un segundo mensajero celular, del tipo de los nucleótidos cíclicos como el inositol trifosfato o diacilglicerol; esta transmisión también puede ocurrir mediante el flujo directo de sodio a través de los canales de sodio que despolarizan a la membrana e inducen una carga positiva intracelular, la cual activa a los canales de calcio y hace posible la liberación de neurotransmisores. Éstos emiten impulsos en las neuronas de los pares craneales VII y IX y transportan la información hasta el sistema nervioso central.[13] En consecuencia, la información sensorial (color, forma, olor, textura, sabor y temperatura) se transmite al cerebro, donde se integra con la memoria y sensaciones de hambre/saciedad. Si después de consumir un alimento se experimenta una sensación negativa, como dolor abdominal o diarrea, dicha experiencia se conserva en la memoria como un estímulo desagradable y puede identificarse dicho alimento como aversivo.[14] Los cambios en la percepción del sabor pueden tener un efecto negativo en el consumo de ciertos alimentos, lo cual contribuye a la desnutrición.[15]

▷ Trastornos del gusto en pacientes oncológicos

Diversos autores han señalado anormalidades en la percepción de los sabores básicos en pacientes oncológicos,[16-21] sobre todo en los cambios del umbral para el sabor dulce; a esto se atribuye el frecuente rechazo de los pacientes a la carne y los dulces, así como la preferencia por los lácteos. DeWys,[22] fue el primer investigador en vincular los umbrales de percepción de sabor con los factores etiológicos de la anorexia en personas con cáncer. Otros estudios han reportado que los trastornos gustativos reducen la calidad de vida de los individuos afectados, al cambiar los hábitos alimentarios y promover una disminución del consumo de nutrimentos.[23]

En un estudio realizado por Hutton y colaboradores[8] en 66 pacientes oncológicos, los sujetos con trastornos del gusto mostraron menor consumo energético (900-1,100 kcal/día), mayor pérdida de peso y menor calidad de vida, comparados con aquéllos sin los trastornos del gusto. En otro estudio de 72 pacientes sometidos a quimioterapia, 82% suprimió el consumo de uno o más alimentos en su dieta y los alimentos más afectados fueron el café, té, cítricos, chocolate y carnes rojas.

▷ Mecanismos patogénicos de los trastornos del gusto en pacientes oncológicos

Existen diversos factores que influyen en la disgeusia, como el sitio del tumor, estadio tumoral, estado fisiológico y hábitos del paciente, antecedentes de tabaquismo, alcoholismo, deficiencias nutricionales y tratamientos oncológicos utilizados.[24]

Deficiencias nutricionales

Es frecuente que los pacientes con cáncer tengan deficiencias en ciertos nutrimentos, como las vitaminas A, B_6 y B_{12}, hierro, zinc y cobre, relacionados con alteraciones del gusto.[25,26] El zinc participa en la regeneración de células de los botones gustativos; varios estudios han demostrado un nexo entre la deficiencia de zinc y las alteraciones del gusto;[11,27-31] otros estudios no han podido demostrar dicha relación.[32,33] El hierro participa en varios sistemas enzimáticos y se ha vinculado con atrofia de las papilas gustativas que contribuyen de forma secundaria a la hipogeusia.[4]

Tabla 1.
Fármacos reportados que alteran los sentidos del gusto y el olfato[26]

Antibióticos	Anfotericina B, ampicilina, azitromicina, ciprofloxacina, claritromicina, etambutol, estreptomicina, griseofulvina, lincomicina, metronidazol, ofloxacina, sulfasalacina, tetraciclina
Anticonvulsivos	Carbamazepina, fenitoína, lamotrigina
Antidepresivos	Amitriptilina, clomipramina, desipramina, doxeína, imipramina, nortriptilina, litio
Antihistamínicos	Clorfeniramina, loratadina, seudoefedrina
Diuréticos, antihipertensivos y bloqueadores de los canales del calcio	Acetazolamida, amilorida, betaxolol, captopril, diltiazem, enalapril, hidroclorotiazida, nifedipina, nitroglicerina, propanolol, espironolactona, diazóxido
Agentes antiinflamatorios y antirreumáticos	Alopurinol, auranofina, colquicina, dexametasona, miocrisina, hidrocortisona, penicilamina, sales de oro, levamisol, fenilbutazona
Antineoplásicos	Azatioprina, cisplatino, docetaxel, doxorrubicina, metotrexato, vincristina
Agentes tiroideos	Metimazol, propiltiouracilo
Hipoglucémicos	Glipicida, fenformina
Hipolipémicos	Fluvastatina, lovastatina, pravastatina
Relajantes musculares	Baclofén, dantroleno
Opiáceos	Morfina, codeína
Anestésicos locales	Benzocaína, tetracaína
Agentes de higiene dental	Sodio lauril sulfato (en dentífricos)

▷ Tratamientos oncológicos que afectan el sentido del gusto

Alteraciones del gusto, relacionadas con radioterapia. La mayoría de los pacientes que reciben radioterapia experimenta tempranamente pérdida parcial o completa del sentido del gusto.[34] Los trastornos gustativos son originados por las células de los corpúsculos gustativos de las papilas linguales fungiformes y circunvaladas, que son muy sensibles a la radiación.[35] Los efectos de dichas anomalías se incrementan por la disminución temporal o permanente de la secreción salival por déficit funcional de las glándulas salivales, en particular de la parótida.[36] Los efectos adversos o secundarios a la radioterapia en los tejidos bucales pueden ser agudos, como atrofia con sensación de sequedad o ardor bucal, mucositis y disgeusia, o bien crónicos como la hiposialia, caries dentales, trismos y osteorradionecrosis.[37]

Alteraciones del gusto relacionadas con quimioterapia. La disgeusia es muy frecuente en sujetos sometidos a quimioterapia;[38] el riesgo de efectos tóxicos en la cavidad bucal obedece a múltiples factores, entre ellos las elevadas tasas de renovación celular de la mucosa, la microflora y traumatismo en los tejidos bucales. Los fármacos quimioterápicos pueden ocasionar neurotoxicidad directa sobre las células gustativas[39] y potenciar xerostomía e infecciones. Además, los pacientes pueden percibir un sabor desagradable relacionado con permeación del fármaco a través del tejido bucal.[40] La disgeusia vinculada con citotóxicos es casi siempre reversible a las pocas semanas de finalizar el tratamiento. La **Tabla 1** señala algunos de los fármacos empleados en el tratamiento oncológico y relacionados con la disgeusia.

▷ Diagnóstico

Cuando un paciente presenta alteraciones del gusto puede referir los siguientes síntomas:[41] un sabor menos placentero de los alimentos después del tratamiento; percepción de todas las bebidas y alimentos con sabor idéntico; modificación del sentido del gusto o el olfato que afecta la capacidad para comer normalmente; y pérdida del apetito.

▷ Tratamiento nutricional

Las células de los botones gustativos suelen regenerarse en aproximadamente cuatro meses, aunque el grado de

afectación de un paciente a otro puede variar; la percepción reaparece de forma gradual, a pesar de que los niveles previos se recobran hasta casi un año después del término del tratamiento con radioterapia o quimioterapia.[42] Generalmente nunca es necesario un tratamiento específico para la alteración,[43] si bien deben tomarse medidas nutricionales adicionales que prevengan la anorexia, la pérdida de peso y el agotamiento muscular.[44] El manejo de los pacientes comprende lo siguiente: identificación de poblaciones de alto riesgo; inicio de intervenciones nutricionales preterapéuticas y atención oportuna de lesiones; educación del paciente en cuanto a higiene bucal y reconocimiento de alimentos que resuelven o disminuyen los síntomas.

Se recomienda condimentar los alimentos con hierbas y especias suaves y utilizar técnicas culinarias modificadoras del sabor de las carnes, o sustituir éstas por otros alimentos que aporten proteínas de alto valor biológico. Es conveniente elegir platillos agradables al paciente, así como modificar la consistencia y textura de los alimentos, preferir alimentos suaves o añadir salsas cremosas, caldillos y gelatinas, con objeto de favorecer la palatibilidad y el proceso de masticación y deglución. Además, debe intentarse un mayor número de comidas para conseguir un mayor aporte energético. La complementación con micronutrimentos como el zinc, hierro, ácido fólico y vitaminas del complejo B, puede ayudar a atenuar el sabor metálico que puede percibirse en la lengua.[40] Debe considerarse el uso de complementos alimenticios en caso de no poder cubrir los requerimientos calóricos necesarios; en el mercado existen algunos productos que consideran las alteraciones gustativas en pacientes oncológicos y no agregan sabores fuertes o dulces. Cada paciente debe experimentar a través de prueba y error para encontrar los alimentos que puedan consumirse con la mínima modificación del sabor.

▹ Recomendaciones farmacológicas

En cuanto a los fármacos, se ha observado que los complementos de zinc (220 mg de sulfato de zinc) dos veces al día pueden ser eficaces;[45] sin embargo, debe prestarse atención a la dosis administrada, ya que dosis elevadas de zinc pueden ocasionar graves efectos secundarios, como alteraciones gastrointestinales y hematológicas, por ejemplo anemia, leucopenia y neutropenia.[46] Se ha propuesto que la complementación con glutamina podría disminuir la incidencia o gravedad de la mucositis relacionada con la quimioterapia.[47] No obstante, en un estudio realizado en pacientes que recibían quimioterapia basada en taxanos (21 individuos recibieron 30 g/día de glutamina y 20 placebo) no se encontraron diferencias significativas entre la complementación con glutamina y la disgeusia.[48]

▹ Conclusiones

Los efectos tóxicos relacionados con el tratamiento oncológico pueden incidir en la mucosa bucal y ocasionar alteraciones del gusto. No existen métodos específicos para el tratamiento de dichas anomalías, pero las recomendaciones alimentarias individuales pueden evitar la pérdida de peso y desnutrición y mejorar la calidad de vida del paciente. El manejo de las complicaciones bucales comprende la identificación de poblaciones de alto riesgo, educación del paciente, inicio de intervenciones antes del tratamiento y control oportuno de las lesiones; todas son medidas esenciales para la atención completa del paciente.

Bibliografía

1. Cheng KK. Oral mucositis, dysfunction, and distress in patients undergoing cancer therapy. *J Clinical Nurs* 2007;16(11):2114-21.
2. Ruo Redda MG, Allis S. Radiotherapy-induced taste impairment. *Cancer Treat Rev* 2006;32(7):541-7.
3. Yamashita H, Nakagawa K, Nakamura N, *et al*. Relation between acute and late irradiation impairment of four basic tastes and irradiated tongue volume in patients with head-and-neck cancer. *Int J Rad Oncol Biology, Physics* 2006;66(5):1422-9.
4. Osaki T, Ohshima M, Tomita Y, Matsugi N, Nomura Y. Clinical and physiological investigations in patients with taste abnormality. *J Oral Pathol Med* 1996;25(1):38-43.
5. Welge-Lussen A, Gudziol H. [Etiology, diagnostic and therapeutic management of taste disorders]. *Ther Umsch* 2004;61(5):302-7.
6. Markley EJ M-KD, Henkin RI. A classification of dysgeusia. *J Am Dietetic Assoc* 1983;83:578-80.
7. Wrobel BB, Leopold DA. Clinical assessment of patients with smell and taste disorders. *Otolaryngol Clin North Am* 2004;37(6):1127-42.
8. Hutton JL, Baracos VE, Wismer WV. Chemosensory dysfunction is a primary factor in the evolution of declining nutritional status and quality of life in patients with advanced cancer. *J Pain Symp Man* 2007;33(2):156-65.
9. Trant A S SJ, Douglas H O. Is taste related to anorexia in cancer patients? *Am J Clin Nutrit* 1982;36:45-58.
10. Schiffman SS. Contribution of taste and smell losses to the wasting syndrome. *Age Nutr* 1996;7:106-20.
11. Henkin RI, Schecter PJ, Friedewald WT, Demets DL, Raff M. A double blind study of the effects of zinc sulfate on taste and smell dysfunction. A*m J Med Scien* 1976;272(3):285-99.
12. Shadan S. Molecular biology: a taste of umami. *Nature* 2009;457(7226):160.
13. Margolskee RF. Molecular mechanisms of bitter and sweet taste transduction. *J Biol Chem* 2002;277(1):1-4.
14. Kondoh T, Torii K. Brain activation by umami substances via gustatory and visceral signaling pathways, and physiological significance. *Biol Pharm Bull* 2008;31(10):1827-32.
15. Donini LM, Savina C, Cannella C. Eating habits and appetite control in the elderly: the anorexia of aging. *Inter Psychog/IPA* 2003;15(1):73-87.
16. Nakazato Y, Imai K, Abe T, Tamura N, Shimazu K. Unpleasant sweet taste: a symptom of SIADH caused by lung cancer. *J Neurol Neurosurg Psych* 2006;77(3):405-6.
17. Carson JA, Gormican A. Taste acuity and food attitudes of selected patients with cancer. *J Am Diet Assoc* 1977;70(4):361-5.
18. Williams LR, Cohen MH. Altered taste thresholds in lung cancer. *Am J Clin Nutrit* 1978;31(1):122-5.
19. Markley EJ, Mattes-Kulig DA, Henkin RI. A classification of dysgeusia. *J Am Dietetic Assoc* 1983;83(5):578-80.
20. Schiffman SS. Taste and smell in disease (first of two parts). *N Engl J Med* 1983;308(21):1275-9.
21. Yamashita H, Nakagawa K, Hosoi Y, *et al*. Umami taste dysfunction in patients receiving radiotherapy for head and neck cancer. *Oral Oncol* 2009;45(3):e19-23.
22. DeWys. Abnormalities of taste as a remote effect of neoplasm. *Ann NY Acad Sci* 1974;230:427-34.
23. Bernhardson BM, Tishelman C, Rutqvist LE. Self-reported taste and smell changes during cancer chemotherapy. S*upp Care Cancer* 2008;16(3):275-83.

24. Silvestre Donat F, Puente Sandoval A. Efectos adversos del tratamiento del cáncer oral. *Av Odontoestomatol* 2008;24:111-21.
25. Ravasco P. Aspects of taste and compliance in patients with cancer. *Eur J Oncol Nurs* 2005;9 Suppl 2:S84-91.
26. Bromley SM. Smell and taste disorders: a primary care approach. *Am Fam Phys* 2000;61(2):427-36, 38.
27. Ripamonti C, Zecca E, Brunelli C, *et al*. **A randomized, controlled clinical trial to evaluate the effects of zinc sulfate on cancer patients with taste alterations caused by head and neck irradiation.** *Cancer* 1998;82(10):1938-45.
28. Fukasawa T, Orii T, Tanaka M, Suzuki N, Kanzaki Y. Relation between drug-induced taste disorder and chelating behavior with zinc ion; statistical approach to the drug-induced taste disorder, part II. *Chem Pharm Bull* 2008;56(8):1177-80.
29. Heyneman CA. Zinc deficiency and taste disorders. *An Pharmac* 1996;30(2):186-7.
30. Nakata Y, Hirashima T, Kondou Y, *et al*. [Involvement of zinc in taste disturbance occurring during treatment for malignant tumor in the chest and the effects of polaprezinc oral disintegrating tablets (a retrospective study)]. *Gan Kagaku Ryoho* 2008;35(6):955-9.
31. Stoll AL, Oepen G. Zinc salts for the treatment of olfactory and gustatory symptoms in psychiatric patients: a case series. *J Clinl Psych* 1994;55(7):309-11.
32. Bolze MS FG, Striker JA, Cheng CG, Elipse BG. Taste acuity, plasma zinc levels and weight loss during radiotherapy. *Radiology* 1982;144:163-9.
33. Halyard MY, Jatoi A, Sloan JA, *et al*. Does zinc sulfate prevent therapy-induced taste alterations in head and neck cancer patients? Results of phase III double-blind, placebo-controlled trial from the North Central Cancer Treatment Group (N01C4). *Inter J Radiat Oncol, Biology, Physics* 2007;67(5):1318-22.
34. Yamashita H, Nakagawa K, Tago M, *et al*. Taste dysfunction in patients receiving radiotherapy. *Head Neck* 2006;28(6):508-16.
35. Silvestre-Donat PS A. Efectos adversos del tratamiento del cáncer oral. *Av Odontoestomatol* 2008;24:111-21.
36. Epstein JB, Emerton S, Kolbinson DA, *et al*. Quality of life and oral function following radiotherapy for head and neck cancer. *Head Neck* 1999;21(1):1-11.
37. Sandow PL, Hejrat-Yazdi M, Heft MW. Taste loss and recovery following radiation therapy. *J Dental Res* 2006;85(7):608-11.
38. Berteretche MV, Dalix AM, d'Ornano AM, Bellisle F, Khayat D, Faurion A. Decreased taste sensitivity in cancer patients under chemotherapy. *Supp Care Cancer* 2004;12(8):571-6.
39. Mossman KL. Gustatory tissue injury in man: radiation dose response relationships and mechanisms of taste loss. *Brit J Cancer* 1986;7:9-11.
40. Comeau TB, Epstein JB, Migas C. Taste and smell dysfunction in patients receiving chemotherapy: a review of current knowledge. *Supp Care Cancer* 2001;9(8):575-80.
41. Spielman AI. Chemosensory function and dysfunction. *Crit Rev Oral Biol Med* 1998;9(3):267-91.
42. Erkurt E, Erkisi M, Tunali C. Supportive treatment in weight-losing cancer patients due to the additive adverse effects of radiation treatment and/or chemotherapy. *J Exp Clin Cancer Res* 2000;19(4):431-9.
43. Buntzel J, Glatzel M, Kuttner K, Weinaug R, Frohlich D. Amifostine in simultaneous radiochemotherapy of advanced head and neck cancer. *Sem Rad Oncol* 2002;12(1 Suppl 1):4-13.
44. Lees J. Incidence of weight loss in head and neck cancer patients on commencing radiotherapy treatment at a regional oncology centre. *Eur J Cancer Care* 1999;8(3):133-6.
45. Heckmann SM, Hujoel P, Habiger S, *et al*. Zinc gluconate in the treatment of dysgeusia-a randomized clinical trial. *J Dental Res* 2005;84(1):35-8.
46. Chobanian SJ. Accidental ingestion of liquid zinc chloride: local and systemic effects. *Ann Emerg Med* 1981;10(2):91-3.
47. Savarese DM, Savy G, Vahdat L, Wischmeyer PE, Corey B. Prevention of chemotherapy and radiation toxicity with glutamine. *Cancer Treat Rev* 2003;29(6):501-13.
48. Strasser F, Demmer R, Bohme C, *et al*. Prevention of docetaxel- or paclitaxel-associated taste alterations in cancer patients with oral glutamine: a randomized, placebo-controlled, double-blind study. *The Oncol* 2008;13(3):337-46.