

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**FACULTAD DE MEDICINA**

**DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN**

**INSTITUTO NACIONAL DE CANCEROLOGÍA**

**CURSO DE ESPECIALIDAD EN ONCOLOGÍA MÉDICA**

**PREVALENCIA DEL VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO EN  
PACIENTES CON CARCINOMA ANAL Y EVALUACIÓN DE  
SEROTIPOS ESPECIFICOS DE VIRUS DEL PAPILOMA  
HUMANO COMO FACTOR PRÓNOSTICO DE RESPUESTA.**

**T E S I S**

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

**PRESENTA:**

**DR. JESÚS ELVIS CABRERA LUVIANO**

**Dra. Erika Betzabé Ruiz García**

**DIRECTOR DE TESIS**

**Ciudad de México**

**2016**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

## **AUTORIZACIÓN DE TESIS**

**PREVALENCIA DEL VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO EN PACIENTES CON  
CARCINOMA ANAL Y EVALUACIÓN DE SEROTIPOS ESPECIFICOS DE VIRUS DEL  
PAPILOMA HUMANO COMO FACTOR PRÓNOSTICO DE RESPUESTA.**

---

**Dra. Erika Betzabé Ruiz García**  
**Director de Tesis**  
**Instituto Nacional de Cancerología**

---

**Dra. Sylvia Verónica Villavicencio Valencia**  
**Subdirectora de Educación Médica**  
**Instituto Nacional de Cancerología**

---

**Dr. Fernando Ulises Lara Medina**  
**Profesor titular del curso de Oncología Médica**  
**Instituto Nacional de Cancerología**

---

**Dr. Jesús Elvis Cabrera Luviano**  
**Médico Residente de Tercer Grado Oncología Médica**  
**Autor**  
**Instituto Nacional de Cancerología**

## ÍNDICE

<b>RESUMEN</b> .....	5
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	6
<b>I. ANTECEDENTES</b> .....	7
1.1 Definición del término cáncer .....	7
1.2 Definición de carcinoma anal .....	7
1.3 Epidemiología del carcinoma anal .....	8
1.4 Epidemiología en México .....	9
1.5 Screening .....	10
1.6 Etiología y Factores de riesgo .....	10
1.7 Virus del Papiloma Humano .....	12
1.8 Infección por Virus del Papiloma Humano .....	13
1.9 Diagnósticos moleculares del Virus del Papiloma Humano .....	16
1.10 Factores pronósticos .....	17
<b>II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b> .....	19
<b>III. JUSTIFICACIÓN</b> .....	19
<b>IV. HIPÓTESIS DEL TRABAJO</b> .....	19
4.1 Hipótesis nula .....	19
4.2 Hipótesis alterna.....	19
<b>V. OBJETIVOS</b> .....	20
5.1 Objetivo General .....	20
5.2 Objetivos específicos .....	20
<b>VI. MATERIAL Y MÉTODO</b> .....	21
6.1 Diseño del estudio.....	21
6.2 Población del estudio.....	21
6.3 Diseño estadístico del estudio.....	22
6.4 Consideraciones éticas.....	22
6.5 Proceso de obtención de muestra.....	23
6.5.1 Desparafinación de tejidos con Xilol .....	23
6.5.2 Extracción de ADN genómico .....	23
6.5.3 Identificación de serotipos de VPH .....	24

<b>VII. RESULTADOS</b> .....	25
7.1 Consideraciones sociodemográficas .....	25
7.2 Factores pronósticos .....	27
7.3 Genotipificación del Virus del Papiloma Humano .....	29
7.3.1 Cuantificación de ADN .....	29
7.4 Prevalencia del Virus del Papiloma Humano .....	29
<b>VIII. DISCUSIÓN</b> .....	32
<b>IX. CONCLUSIÓN</b> .....	33
<b>X. BIBLIOGRAFÍA</b> .....	34

## RESUMEN

**Justificación:** En México no se cuenta con información suficiente sobre la prevalencia de la infección por VPH en pacientes con carcinoma anal así como los serotipos de VPH implicados y la relación que guardan los distintos serotipos de VPH con la respuesta al tratamiento con quimioterapia y radioterapia.

**Pacientes y Métodos:** Estudio retrospectivo que incluyó 78 pacientes con diagnóstico de carcinoma anal , etapa clínica I a IV, en el periodo de tiempo 2005 a 2015. Se realizó análisis genómico del VPH en tejido parafinado.

**Resultados:** Con base en la clasificación de la AJCC los pacientes se encontraron en las siguientes etapas clínicas: EC I 15.4%, EC II 12.8%, ECIII A 16.7%, EC IIIB 38.5%, EC IV 16.7%. La media de edad fue 57 años, 13 pacientes se conocían con diagnóstico de VIH. El síntoma más frecuentemente reportado fue el dolor 60.3% seguido de rectorragia 59%. El sitio de recaída o progresión más frecuentemente encontrado fue a nivel local 50%, el segundo sitio con mayor recurrencia o progresión fue a nivel hepático 20%. La media de ACE al diagnóstico fue de 4.11 con un rango de 1.27 a 10.20. El tiempo medio de seguimiento fue de 24.59 meses. La mediana de supervivencia para todos los pacientes fue 12.2 meses (IC 95% 6.05 a 18.51).

En los análisis univariados para supervivencia global, el género femenino tuvo mejor supervivencia con respecto al género masculino 20.9 vs 11.26 meses respectivamente ( $p=0.002$ ).

**Conclusión:** Dentro de las variables clínicas evaluadas el género femenino tuvo prácticamente el doble de sobrevida al compararse con los hombres. No se encontró diferencias estadísticamente significativas entre la etapa clínica y el sitio de recurrencia/progresión, como es conocido la etapa clínica es el factor más importante de sobrevida en pacientes con cáncer.

**PALABRAS CLAVE:** Carcinoma anal, virus del papiloma humano, prevalencia, respuesta, sobrevida.

## INTRODUCCIÓN

El carcinoma anal es una neoplasia poco frecuente, representa el 2.5% de todas las neoplasias del tubo digestivo, es una neoplasia asociada a la infección por el virus del papiloma humano (VPH), lo cual supone un problema de salud de importancia creciente.<sup>1</sup>

Los grupos de mayor incidencia son mujeres, infección por VPH (Virus del Papiloma Humano), número de parejas sexuales, verrugas genitales, historia de tabaquismo, sexo anal e infección por VIH (Virus de Inmunodeficiencia Humana).<sup>1</sup>

Los varones homosexuales VIH positivos representan el grupo con mayor incidencia de carcinoma anal en los que la prevalencia ha aumentado hasta 144 casos por 100.000 habitantes.<sup>1,2</sup>

El tratamiento del carcinoma anal depende de la etapa clínica, históricamente los tumores localizados eran tratados con resección abdominoperineal (RAP) y colostomía permanente, con supervivencia media a 5 años de 40% a 70% con una mortalidad perioperatoria de 3%.<sup>3,4</sup>

En 1974, Nigro et al (5) logró respuestas patológicas completas en 3 pacientes utilizando la combinación de quimioterapia basada en Mitomicina C (MMC) más 5 Fluoracilo (5 FU) y radioterapia 30 Gy, alcanzando medias de supervivencia a 5 años de 72% a 89% (6 y 7), con impacto en supervivencia global, periodo libre de colostomía y reducción de recaída locorregional, por lo tanto se convirtió en el estándar de manejo para pacientes con carcinoma anal no metastásicos.<sup>4,5</sup>

El manejo de la enfermedad metastásica es basado en quimioterapia con cisplatino y 5 FU el cual es considerado el esquema de elección, con tasas de respuesta de 60% y mediana de supervivencia de 12 meses.<sup>6,7,8</sup>

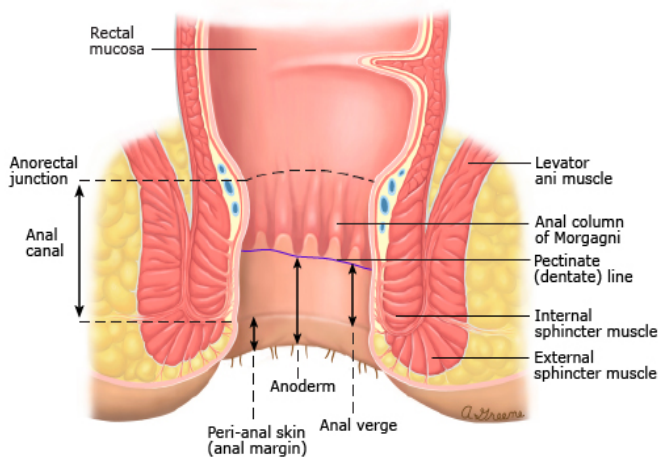
## I. ANTECEDENTES

### 1.1 Definición del término Cáncer

Cáncer es un término genérico que designa un amplio grupo de enfermedades que pueden afectar a cualquier parte del organismo. Una característica del cáncer es la rápida multiplicación de células anormales que se extienden más allá de sus límites habituales y pueden invadir partes adyacentes del cuerpo o propagarse a otros órganos, proceso conocido como metástasis.<sup>1,2</sup>

El cáncer es una de las principales causas de muerte en todo el mundo; en el 2008, de acuerdo con la Organización Mundial de la Salud, causó 7.6 millones de defunciones y se estima que éstas cifras sigan aumentando en todo el mundo hasta alcanzar 13.1 millones de defunciones en el 2030.<sup>1,2</sup>

### 1.2 Definición de Carcinoma Anal



El canal anal mide 2.5 a 3.5 cm de longitud e inicia por debajo de la unión anorrectal y termina en el ano. En la parte externa el canal anal se encuentra rodeado por los músculos del esfínter anal interno y externo.

Figura 1. Representación anatómica del canal anal.

El canal anal se encuentra dividido por la línea pectínea que delimita la transición de la mucosa glandular a escamosa.<sup>3</sup> La región proximal al ano engloba tres tipos histológicos: glandular, transicional y escamoso no queratinizante, la región distal del ano está representada por la histología escamosa. Por tal motivo en el cáncer anal se



pueden encontrar diferentes tipos histológicos, de los cuales el escamoso es el más frecuente, seguido por el adenocarcinoma, melanoma y sarcomas.<sup>4</sup>

La determinación del sitio anatómico donde se originó el tumor es sumamente importante ya que en muchas ocasiones puede ser problemático. Para fines de estadificación, los tumores se clasifican de origen rectal si el epicentro del tumor está localizado más de 2 cm proximal a la línea dentada o proximal al anillo anorrectal a la exploración rectal y aquellos que el epicentro se encuentra 2 cm o menos de la línea dentada se clasifican como tumores de canal anal.<sup>4</sup>

El carcinoma anal es un tumor maligno que representa los tumores originados en el canal anal y aquellos originados en el borde anal. El carcinoma anal de células escamosas es el tipo histológico más común. El drenaje linfático del cáncer anal depende del sitio anatómico que lo originó, de tal manera que aquellos que se originaron por arriba de la línea pectínea drenan a los ganglios perirrectales y paravertebrales, en contraste con aquellos que se originan por debajo de la línea pectínea que drenan a los ganglios inguinal superficial y femorales.<sup>4</sup>

### **1.3 Epidemiología del Carcinoma Anal**

El cáncer anal comprende alrededor del 0,3% de todas las neoplasias malignas. Con una incidencia de aproximadamente 1:100.000 personas por año.<sup>1,3</sup>

El cálculo del número de casos nuevos y defunciones para cáncer de la región anal (canal o conducto anal y ano) en los Estados Unidos en 2015 fue: 7,270 casos nuevos y 1,010 defunciones.<sup>2,5</sup>

La incidencia del carcinoma anal de células escamosas es 0.2 - 4.4 por cada 100 000 personas por año con un predominancia en el género femenino. El riesgo es mayor en poblaciones urbanas. La incidencia ha aumentado en todo el mundo durante las últimas tres décadas, particularmente en los hombres que tienen relaciones sexuales con hombres (35 por 100 000 por año) y las personas infectadas con VIH (75 a 135 por 100 000 por año).<sup>5</sup>

Para la enfermedad no metastásica, las tasas de supervivencia a 5 años oscilan entre 39.6% a 69.5% dependiendo de la etapa clínica. La supervivencia libre de progresión a 3 años es de 62-67% en los pacientes enfermedad T3-4, y 68% en aquellos con enfermedad con ganglios positivos.<sup>5</sup>

La recurrencia local o persistencia de la enfermedad es el tipo más frecuente de recaída en pacientes con cáncer anal, siendo el tratamiento quirúrgico de rescate la única posibilidad de cura en forma de una resección abdominoperineal radical, lo que resulta en colostomía permanente con tasas de supervivencia a 5 años que van desde 40% a 60%.<sup>5</sup>

#### **1.4 Epidemiología en México**

En México la frecuencia de tumores anorrectales es de 1.6% y los de canal anal corresponden al 0.18%. La incidencia ha tendido a aumentar en años recientes debido a su asociación con el virus del papiloma humano (VPH). Es más frecuente en mujeres de la séptima década de vida y en varones homosexuales en relación a infecciones por VPH en los cuales se presenta con mayor frecuencia en la segunda y tercer década de la vida.<sup>6,7</sup> Las variedades histológicas más frecuentes son el carcinoma epidermoide y el cloacogénico.<sup>6</sup>

En México, el VPH16 está presente en el 73% de todos los tumores anorrectales VPH positivos, seguido por el VPH 18 que representa el 5%. La mayoría de las lesiones premalignas están asociadas a infección por VPH, la NIA I alrededor de 91.5% y NIA 2/3 93.9%.<sup>6,7</sup>

## 1.5. Screening

En países desarrollados se han implementado programas de tamizaje para población en riesgo de carcinoma anal (pacientes con VIH, hombres que tienen sexo con hombres, mujeres con VIH), particularmente en Europa y Estados Unidos los programas de tamizaje han tenido un éxito similar a lo que sucede en cáncer de cérvix. El método implementado es la citología anal, el cual tiene como objetivo detectar lesiones precursoras, particularmente lesiones escamosas intraepiteliales de alto grado y ofrecer tratamiento temprano, con lo cual se previene la progresión a carcinoma invasor. Para pacientes homosexuales y bisexuales VIH positivos los intervalos de tamizaje deberán ser cada año <sup>7</sup>, para pacientes homosexuales y bisexuales VIH negativos el periodo de tamizaje deberá ser cada 2 a 3 años.<sup>7</sup> La sensibilidad de la citología anal es de 42 a 98% con una especificidad de 16 a 96%, la gran variabilidad se cree que depende del tamaño de la muestra de los estudios que lo han evaluado, la prevalencia de la enfermedad así como las alteraciones que pudiera tener en pacientes VIH positivos.

## 1.6 Etiología y Factores de Riesgo

Históricamente se creía que el carcinoma anal era causado por inflamación local crónica asociadas a condiciones anales benignas como la enfermedad hemorroidal, fístulas y fisuras. Sin embargo estudios subsecuentes de casos y controles no encontraron relación entre la enfermedad hemorroidal, fístulas y fisuras y el desarrollo de carcinoma anal.<sup>8,9,10</sup>

1. Actividad sexual: Existe evidencia concluyente basados en estudios de casos y controles que demuestra mayor incidencia de carcinoma anal en pacientes con

antecedente de verrugas genitales RR 32.5, hombres solteros RR 8.6, hombres que tienen sexo con hombres RR 50 e infección por gonorrea RR 17.<sup>11,12</sup>

a) Infección por virus de Papiloma Humano: La infección por el virus del papiloma humano (VPH) es la enfermedad de transmisión sexual más común en Estados Unidos y supone uno de los mecanismos relacionados entre la actividad sexual y el desarrollo de cáncer anal. Algunos estudios epidemiológicos han mostrado que más del 93% del carcinoma anal escamoso está asociado a la infección por VPH.<sup>13,14</sup> De manera similar a lo que sucede en el cáncer de cérvix, el serotipo 16 de VPH es el más frecuentemente encontrado en cáncer anal.<sup>14</sup>

b) El carcinoma anal suele preceder a lesiones premalignas denominadas (NIA) lesiones anales escamosas intraepiteliales, las cuales pueden ser de bajo y alto grado.<sup>15</sup>

c) Infección por VIH ( Virus de Inmunodeficiencia adquirida): Es incierto si la infección por VIH por si sola tiene un rol directo en el desarrollo de carcinoma anal o si está mediada por la infección de VPH. La información que sustenta la relación entre VIH-VPH y cáncer anal es la siguiente:

d) Existe mayor incidencia de neoplasia intraepitelial anal en hombres VIH positivos, particularmente aquellos que tienen sexo con hombres.<sup>16,17</sup> La información de 13 cohortes que incluyeron de 34,189 pacientes VIH positivos y 114, 250 hombres no VIH positivos, mostró que en pacientes VIH positivos la incidencia de cáncer anal fue de 131 / 100, 000 pacientes.<sup>18</sup> En México la prevalencia de infección por VPH en población VIH positiva es de 86%.<sup>19</sup>

e) En pacientes VPH positivos la prevalencia de la neoplasia intraepitelial anal de alto grado y carcinoma anal es mayor que en aquellos que de manera concomitante están infectados con VIH comparados con aquellos que son VIH negativos.<sup>20</sup>

f) En un metaanálisis de 53 estudios, la prevalencia de la infección por VPH subtipos de alto riesgo (16 y 18) y cáncer anal fue significativamente mayor entre hombres que tienen sexo con hombres VIH positivos comparados con aquellos VIH negativos.<sup>16</sup>

2. Inmunosupresión crónica no asociada a VIH: Otras causas de inmunosupresión crónica como el trasplante de órgano sólido se ha asociado con mayor riesgo de neoplasia intraepitelial anal de alto grado y con el desarrollo de cáncer anal. Los pacientes receptores de trasplante renal tienen un riesgo de hasta 100 veces más de padecer cáncer anal, tal incremento se cree que está asociado con la infección persistente de VPH.<sup>21,22</sup>

3. Tabaquismo: En varios estudios de casos y controles se ha documentado mayor riesgo de cáncer anal en población fumadora.<sup>10</sup> En una serie de casos comparados con controles sin cáncer anal, el tabaquismo se asoció con riesgo significativamente mayor de cáncer anal (RR 1.9 para IT 20 y RR 5.2 para IT 50).

## **1.7 Virus del Papiloma Humano (V.P.H)**

Es un virus no encapsulado, con un genoma circular de ocho kilobases que codifica 8 genes, tiene como blanco específico las células basales epiteliales; su familia está constituida por más de 100 genotipos que se clasifican de acuerdo a las células que infectan y a su capacidad para generar modificaciones complejas en la información del hospedero.<sup>23</sup>

Propiedades genómicas y taxonomía: De manera general el VPH se compone de tres oncogenes: E5, E6 y E7, los cuales modulan el proceso de transformación, dos proteínas reguladoras E1 y E2 los cuales modulan la transcripción y la replicación, dos proteínas estructurales L1 y L2 que componen la cápsula viral.<sup>24</sup>

El genoma del VPH está comprimido en genes tempranos y tardíos así como en regiones no codificantes, todos ellos, activos en los procesos de replicación, transcripción y carcinogénesis. Los marcos de lectura tardía codifican las proteínas de

la cápside L1 y L2 que se transcriben sólo en las células infectadas. Los primeros marcos de lectura € codifican de forma abierta las proteínas E1, E2, E5, E6 y E7, vinculados en la regulación de la replicación y en la expresión de otros genes. Éstas moléculas proteicas tienen la capacidad de regular la función de los genes supresores de tumor mediante la derogación de la actividad de las proteínas p21, p53, pRb, eventos que resultan en la alteración de la apoptosis, en defectos relacionados con la reparación del ADN y del control del ciclo celular.<sup>23,24</sup>

### **1.8 Infección por el Virus del papiloma humano (V.P.H.)**

La infección por VPH es la enfermedad de transmisión sexual más común, típicamente se presenta entre los 15 y 25 años, se ha estimado que al menos el 50% de la población sexualmente activa estarán expuestos a la infección por VPH a lo largo de la vida. La mayoría de las infecciones por VPH no requieren tratamiento, ya que típicamente la infección se autolimita entre 6 y 12 meses. Sin embargo, la población con infección persistente tienen mayor riesgo de desarrollar lesiones premalignas. En Estados Unidos la mediana de tiempo para desarrollar lesiones premalignas detectadas por citología se presenta aproximadamente 10 años después del inicio de la vida sexual.<sup>24</sup>

Se considera que la infección persistente por genotipos de VPH de alto riesgo (VPH-AR) es el factor etiológico fundamental para la aparición de la mayoría de las neoplasias anogenitales. El espectro de genotipos de VPH-AR implicados en el carcinoma anal y sus lesiones precursoras es similar al descrito en el carcinoma de cérvix. El serotipo más frecuentemente aislado en población general es VPH-16, presente en el 65-75% de los casos, seguido del serotipo 18. Solos o en asociación, ambos serotipos se encuentran en el 78% de todos los carcinomas anales.<sup>25,26</sup>

Los papilomavirus han cohabitado con la especie humana a través del tiempo, basado en el análisis de secuencia de ADN, se han reconocido más de 100 serotipos de VPH

que causan diversos rangos de lesiones epiteliales. A nivel evolutivo todos los papilomavirus que se conocen se han agrupado en 16 géneros y los VPH se agrupan en 5 de éstos géneros. Los dos géneros de VPH más importantes son los papilomavirus Alpha y los Beta. La mayoría de los VPH que infectan el área genital pertenecen al género Alpha.<sup>25</sup>

El virus del papiloma humano (VPH) infecta células epiteliales basales, causando lesiones benignas y malignas de piel y mucosas. Actualmente se reconocen 150 serotipos de VPH, de los cuales al menos 40 afectan la región ano genital, dentro de éstos los más representativos son VPH 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 56, 58, 59 y 66. El genoma del virus del papiloma humano (VPH) consiste en una molécula de ADN circular de doble cadena con un tamaño que oscila entre 7600 y 8000 pares de bases el cual se replica en las células infectadas como un plásmido de múltiples copias.<sup>25,26</sup>

El genoma está dividido en cuatro regiones: la región larga de control (LCR), la cual no contiene marco de lectura donde se ubican el origen de replicación y elementos *cis* de la regulación como promotores y potenciadores, la segunda región es donde se encuentran las proteínas de expresión temprana E1, E2, E4, E5, E6 y E7 relacionadas con la replicación; E1 con la transcripción, E2 con la transcripción, E6 y E7 relacionadas con la transformación celular, la tercera región corresponde a las proteínas de expresión tardía L1 y L2 que constituyen la cápside viral y se expresan únicamente en los queratinocitos diferenciados de la capa superficial de la lesión, donde se producen partículas víricas maduras, finalmente la cuarta región es altamente variable y no codificante entre los genes L5 y E2.<sup>26,27</sup>

La región no codificante de control (LCR) contiene sitios de unión para las proteínas C2 y E1 localizadas cascada arriba en la secuencia del promotor p97 que controla la transcripción de las oncoproteínas E6 y E7. De igual forma, existe una regulación dependiente de la expresión de las proteínas E6 y E7 por la E2, capaz de reprimir el efecto de ambas. Desde que se reconoció el efecto de la infección persistente de los genotipos de alto riesgo del VPH sobre la probabilidad de desarrollar cáncer de cérvix

se descubrió la capacidad de adhesión lineal del genoma del virus en los cromosomas del huésped, evento que suele presentarse de forma tardía. La integración del genoma viral es al azar y ocurre con mayor predilección en los sitios donde hay cierta fragilidad. Dicha unión, se produce gracias a la interrupción en la secuencia del gen E1/2 lo que produce sobreexpresión de E6 y E7 que conducen a la alteración de las principales vías supresoras de tumor.<sup>26,27</sup>

El marco de lectura abierto de E5 se transcribe a partir de la fórmula episómica del ADN viral y ejerce efectos procancerígenos durante las primeras etapas de la infección sin que su presencia sea necesaria para mantener el fenotipo maligno. Sin embargo, se ha demostrado que la proteína E5 estimula el crecimiento celular a través de la activación y regulación del receptor para el factor del crecimiento epidérmico (EGFR), hecho que conduce hacia la señalización anormal generando la sobreexpresión de algunos protooncogenes y la represión de la cinasa dependiente de ciclinas A1 (CDKN1A/p21).<sup>25,26,27</sup>

La proteína E6 se expresa de manera temprana durante la infección por el virus del papiloma humano, lo cual le confiere varias funciones que alteran el ambiente celular: el bloqueo de la apoptosis mediante la degradación de p53, alteración de la transcripción de genes celulares a través de la interacción con p300 y CBP, incremento de la vida celular por la sobre activación de la telomerasa. La acción clave de E6 en el virus del papiloma humano es la inhibición de la función de p53 mediante su degradación por la vía de la ubiquitina.<sup>26</sup>

De manera normal, la proteína p53 se activa cuando el ADN celular sufre algún daño, con lo cual se induce la expresión de la proteína p21, dicha proteína es un inhibidor de cinasas dependientes de ciclinas que se unen a los complejos de ciclina G1 con proteína CDK, la cual conduce a la célula más allá del punto de control G1 del ciclo celular. La proteína p21 bloquea la actividad cinasa de éstos complejos, evitando así la progresión de la célula en fase S y la replicación del ADN, con lo cual las células no podrán progresar en la fase S del ciclo celular y se retrasarán en la fase G1 o morirán



por apoptosis. Por lo tanto, la degradación de p53 tiene como consecuencia la evasión del punto de control del ciclo celular G1/S.<sup>27,28</sup>

La proteína E7 del VPH es capaz de degradar el Rb por la ubiquitinación y la inactivación funcional de la proteína, éste hallazgo conduce a la sobreexpresión de la cinasa dependiente de ciclina p16 y NK4A; la detección de la sobreexpresión de p16 es considerada como un marcador indirecto de la infección por VPH en el que juega un importante papel la hiperproliferación celular. La familia pRB controla la replicación celular, la unión de E7 con pRB conduce a la liberación de los factores de transcripción E2F independientemente de la presencia de factores de crecimiento externos, lo que promueve el progreso de la fase S del ciclo celular y por lo tanto la replicación celular.<sup>26,27,28</sup>

Con la división de las células basales infectadas por el virus del papiloma humano, los genomas virales son distribuidos en las células hijas, éstas células se separan de la capa basal, migran hacia el estrato granuloso y sufren diferenciación. Cuando las células epiteliales normales no infectadas migran hacia las capas suprabasales, salen del ciclo de división celular. Sin embargo, cuando las células infectadas migran hacia las capas suprabasales, se mantienen activas en el ciclo celular debido a la acción de la proteína E7, corroborando el papel transformante en las células infectadas (referencia 53) Éstas células entran en la fase S y activan la expresión de factores de replicación celular requeridos para la replicación viral. Las oncoproteínas virales E6 y E7 no sólo son necesarias para la inmortalización y retención de las células en el ciclo celular, también son necesarias para el mantenimiento extracromosomal del virus del papiloma humano en células basales no diferenciadas.<sup>27,28</sup>

### **1.9 Diagnósticos Moleculares para VPH**

Hoy en día las técnicas basadas en la detección del ADN del VPH son las más precisas, sensibles y específicas en la detección de lesiones pre-malignas y han demostrado su utilidad en la disminución tanto de la mortalidad como de la morbilidad por cáncer cervicouterino. Históricamente los métodos moleculares de elección para la identificación del VPH en tejido o fracciones de ADN fueron: el southern blot, el dot blot y la hibridación in situ, aunque la sensibilidad entre estos métodos era muy variable.

Los métodos más utilizados en la detección de lesiones de alto riesgo y cáncer son la captura de híbridos de segunda generación CH2 así como, los protocolos que emplean la PCR seguida de técnicas de hibridación para tipificación de VPH.<sup>29</sup>

### **1.10 Factores Pronósticos en cáncer anal**

El factor pronóstico más importante es la etapa clínica al momento del diagnóstico, en un análisis multivariado se demostró que el estatus ganglionar es un factor pronóstico independiente de control local y supervivencia.<sup>30</sup> Un estudio retrospectivo realizado por la Universidad de Washington mostró que el género tiene un rol pronóstico en el periodo libre de enfermedad, en el cual a 5 años la supervivencia libre de enfermedad fue de 54% para los hombres y 80% para las mujeres.<sup>31</sup>

En pacientes VIH positivos la respuesta al tratamiento con quimioterapia y radioterapia parece no tener diferencias significativas cuando se compara con población VIH negativa, sin embargo los pacientes VIH positivos tienen mayores tasas de toxicidad y menor apego al tratamiento.<sup>32</sup> Un estudio Sueco que analizó a 215 pacientes mostró que la mayor expresión de Ciclina A estaba asociado con mayores tasas de supervivencia 77% vs 59%  $p=0.005$ , también mostró que la menor expresión de p21 estaba asociado a mayor tasa de recurrencia locorregional 27% vs 14%  $p= <0.005$ .<sup>33</sup> El papel del virus del papiloma humano como factor pronóstico también se ha investigado y recientemente una publicación retrospectiva demostró que los tumores VPH positivos (documentado mediante la expresión de p16) tenían mayor control local 88% vs 63%  $p= 0.002$ , con una tendencia a mejorar la supervivencia global en pacientes VPH positivos.<sup>34</sup>

El receptor de crecimiento epidérmico (EGFR) es una glucoproteína transmembrana de 170 kDa, los ligandos de éste receptor son los factores de crecimiento epidérmico (EGF) y el factor de crecimiento transformante alfa (TGF alfa).<sup>35,36</sup>

Algunos estudios han documentado la sobreexpresión de EGFR en neoplasias epiteliales como carcinomas colorrectales, pulmón, páncreas, mama, cabeza y cuello y vejiga. EGFR contribuye al desarrollo y proliferación tumoral a través de estimulación autócrina celular, por lo tanto en las neoplasias donde EGFR esté sobreexpresado por lo regular traduce un peor pronóstico.<sup>35,36,37</sup>

Debido a la importancia de EGFR en el desarrollo y proliferación tumoral, EGFR ha sido objeto de estudio para el desarrollo de moléculas que bloqueen su acción.

La expresión de EGFR en carcinoma anal es de 80 a 90%.<sup>36,37</sup>

Un estudio realizado por Smago y cols en los cuales desarrollaron una plataforma de biomarcadores de 199 pacientes con carcinoma anal, se realizaron evaluaciones por inmunohistoquímica (IHQ), hibridación in situ (ISH) y secuenciación de genes (GNS). Tal estudio mostró que la prevalencia de sobreexpresión de EGFR fue de 88%, PTEN 46.4%, cMET 15%, cKIT 5.7% y mediante secuenciación masiva se documentó que PI3K se encontraba mutado en 60% de los pacientes analizados.<sup>35</sup>

Aún no es claro el papel que desempeñan tales mutaciones para el desarrollo, tratamiento o respuesta al tratamiento del carcinoma anal, sin embargo abre el camino para investigaciones futuras.<sup>35,36,37</sup>

## II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En México el cáncer anal es una neoplasia poco frecuente, representa el 0.18% de todas las neoplasias, históricamente el cáncer anal era más frecuente en mujeres de la sexta década de la vida.

Actualmente existe una transición epidemiológica del cáncer anal y esto debido a la infección por VPH, dando como resultado mayor afección a hombres, hombres que tienen sexo con hombres y población VIH positivo en los cuales la prevalencia de VPH es cercana al 90%.

Existe información que correlaciona la infección por VPH como un factor de mejor pronóstico en pacientes con cáncer anal tratados con quimioterapia y radioterapia. Sin embargo en nuestro país se desconoce la prevalencia de VPH en pacientes con cáncer anal, los serotipos más frecuentes y si existe alguna relación entre los diferentes serotipos con la respuesta al tratamiento estándar.

## III. JUSTIFICACIÓN

Tomando en cuenta los antecedentes descritos, en México no se cuenta con información suficiente sobre la prevalencia de la infección por VPH en pacientes con carcinoma anal así como los serotipos de VPH implicados y la relación que guardan los distintos serotipos de VPH con la respuesta al tratamiento con quimioterapia y radioterapia.

## IV. HIPÓTESIS DE TRABAJO

### ***Hipótesis nula***

No existe relación entre algún serotipo específico de VPH como factor pronóstico de respuesta en pacientes con carcinoma anal tratados con quimioterapia y radioterapia

### ***Hipótesis Alternativa***

Existe un serotipo específico de VPH como factor pronóstico de respuesta a tratamiento con quimioterapia y radioterapia.

## **V. OBJETIVOS**

### ***5.1 Objetivo General***

Analizar la prevalencia y serotipos específicos de VPH en pacientes con carcinoma anal EC I a IV en población mexicana

### ***5.2 Objetivos específicos***

1. Estimar la prevalencia de VPH en población mexicana con carcinoma anal en el periodo del 2005 a 2015 a través de qPCR.
2. Evaluar los serotipos específicos de VPH por qPCR
3. Evaluar la asociación entre algún serotipo de VPH y la respuesta al tratamiento en pacientes con carcinoma anal así como con las características clinicopatológicas.
4. Evaluar la asociación entre entre la etapa clínica y el sitio de recurrencia ó progresión
5. Estimar el tiempo de sobrevida global de los pacientes.
6. Evaluar la asociación entre algún serotipo de VPH y la respuesta al tratamiento en pacientes con carcinoma anal con la sobrevida global de los pacientes.

## **VI. MATERIAL Y MÉTODOS:**

### **6.1 Diseño del estudio**

Estudio retrospectivo

### **6.2 Población del estudio**

Se incluyeron pacientes mexicanos con diagnóstico de carcinoma anal EC I a IV tratados en el Instituto Nacional de Cancerología en el periodo de 2005 a 2015.

#### ***Pacientes:***

##### **Criterios de inclusión**

- Pacientes con diagnóstico de carcinoma anal escamoso EC I a IV tratados en el Instituto Nacional de Cancerología en el periodo de tiempo 2005 a 2015.
- Edad mayor a 18 años.
- Buen funcionamiento clínico (Valorado por la clasificación de ECOG igual o <2)
- Funcionamiento renal, hepático y hematológico normal.
- En caso de pacientes femeninas prueba de embarazo negativa.

##### **Criterios de exclusión**

- Otro carcinoma dentro de los 5 años previos al diagnóstico de éste.
- Pacientes cuyo tejido tumoral no haya pasado el control de calidad por qPCR
- Pacientes con síndromes carcinogénicos.

### **6.3 Diseño estadístico del estudio**

#### ***Análisis estadístico del estudio***

Para el análisis estadístico, se realizó captura de las variables clínicas y patológicas de los pacientes en una base de datos del programa SPSS v.22 en español.

Se resumieron las variables continuas como medias y desviaciones estándar o como medianas con rango intercuantílico según la distribución de los datos (normal o no) que se valoró por la prueba de Kolmogorov Smirnov. Las variables categóricas fueron resumidas como frecuencias y porcentajes. Las diferencias en porcentaje se evaluaron con la prueba de  $\chi^2$ . Se estimaron los tiempos de supervivencia global y supervivencia libre de progresión mediante el método de Kaplan Meier y compararon los tiempos mediante la prueba de Log rank o la prueba de Breslow. El tiempo de supervivencia global se calculó desde la fecha de diagnóstico del paciente a la fecha de muerte o último seguimiento, Todos los análisis fueron realizados con el paquete estadístico de SPSS v.22 en español. Las curvas de supervivencia fueron graficadas.

### **6.4 Consideraciones éticas**

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

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

fue diagnóstica. Las complicaciones más importantes de éste procedimiento son: sangrado, dolor y perforación intestinal, por lo cual se recabó el consentimiento informado de los pacientes.

## **6.5 Proceso de obtención de muestras**

Se realizó una búsqueda intencionada en el archivo clínico INCAN identificando a los pacientes con diagnóstico de carcinoma anal en el periodo de tiempo 2005 a 2015. Solicitud de bloques de tejido parafinado al servicio de patología.

### **6.5.1 Desparafinación de tejidos con Xilol.**

Se obtuvieron 3 cortes de 10 µm de cada muestra y se realizaron dos lavados a temperatura ambiente con 1 mL de xilol precalentado a 65°C, después de colocar el mL de xilol se dio vortex por 10 segundos a cada muestra y se ultracentrifugaron a máxima velocidad por 3 minutos. Se desechó el sobrenadante y la pastilla se lavó de la misma forma con etanol absoluto. Los tejidos se incubaron a 65°C hasta que el alcohol se evaporó por completo.

### **6.5.2 Extracción de ADN genómico**

Para la extracción de ADN se utilizó el kit de qiagen “AllPrep DNA/RNA FFPE” y se siguieron las instrucciones del manual. Las muestras desparafinadas se resuspendieron en 150 µl de amortiguador PKD y se adicionaron 10 µl de proteinasa K, se mezclaron en vortex. Las muestras se incubaron a 56°C por 15 minutos, se incubaron en hielo por 3 minutos y se centrifugaron a 13, 500 rpm durante 15 minutos. El sobrenadante se desechó y la pastilla se resuspendió en 180 µl de amortiguador ATL más 40 µl de proteinasa K, se mezcló y se incubó a 56°C por 1 hora. Posteriormente, las muestras se incubaron por 2 horas a 90°C sin agitación y se centrifugaron a máxima velocidad por 30 segundos. A cada muestra se le adicionaron 200 µl de amortiguador AL, se agitaron



con vortex, se adicionaron 200 µl de etanol absoluto y se volvieron a mezclar. Los sobrenadantes se transfirieron a columnas QIAamp MinElute y se centrifugaron a 10 000 rpm durante un minuto. Las columnas se transfirieron a tubos nuevos, se les adicionaron 700 µl de amortiguador AW1 y se centrifugaron durante 15 segundos a 10 000 rpm. Las columnas se transfirieron a tubos nuevos, se les adicionaron 700 µl de amortiguador AW2 y se volvieron a centrifugar como ya se describió. Las columnas se transfirieron a tubos nuevos, se les adicionaron 700 µl de etanol absoluto y se volvieron a centrifugar como ya se describió. Las columnas se transfirieron a tubos nuevos y con las tapas abiertas se centrifugaron por 5 minutos a máxima velocidad con la finalidad de secar la membrana de las columnas. Las columnas se transfirieron a tubos de 1.5 mL, se adicionaron 50 µl de amortiguador ATE sobre la membrana de la columna y se incubó durante un minuto. Posteriormente, se centrifugaron por un minuto a máxima velocidad para eluir el ADN.

Las muestras fueron cuantificadas en un nanodrop 2000 y se tomaron en cuenta ratios 260/280 entre 1.8-2.1 para pureza y de 260/30 entre 1.8 y 2.2. Para conocer la concentración exacta de cada una de las muestras se hizo una dilución 1:100 y se cuantificaron por qPCR con RNase P utilizando una curva estándar de 7 puntos por duplicado con diluciones 1:2 comenzando por una concentración de 5 ng/ µl.

### **6.5.3 Identificación de serotipos de VPH**

Para la identificación de los serotipos de VPH de alto riesgo se utilizó el Kit Abbott Real Time High Risk VPH y se siguieron las indicaciones del manual. El kit Abbott mediante PCR multiplex en tiempo real detecta 14 tipos de VPH de alto riesgo (16, 18, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 59, 66, 68) y genotipifica los VPH 16 y 18. Utiliza un control celular interno ( $\beta$ -globina) y no tiene reactividad cruzada con VPH de bajo riesgo. Muestra una sensibilidad del 97.5% y una especificidad del 99.4%. Para todos los ensayos se incluyó un control positivo y un negativo.

## **VII. RESULTADOS**

### **7.1 Características socio-demográficas de los pacientes estudiados:**

Se evaluaron un total de 78 pacientes con diagnóstico de carcinoma anal los cuales fueron atendidos en el Instituto Nacional de Cancerología durante del 2005 al 2015. De éstos , un sesenta y dos por ciento fueron mujeres (49/78) y el resto hombres (37.2%; 29/78). Con base en la clasificación de la AJCC los pacientes se encontraron en las siguientes etapas clínicas: EC I 15.4%, EC II 12.8%, ECIII A 16.7%, EC IIIB 38.5%, EC IV 16.7%. La media de edad fue 57 años, 13 pacientes se conocían con diagnóstico de VIH. El síntoma más frecuentemente reportado fue el dolor 60.3% seguido de rectorragia 59%. El sitio de recaída o progresión más frecuentemente encontrado fue a nivel local 50%, el segundo sitio con mayor recurrencia o progresión fue a nivel hepático 20%. La media de ACE al diagnóstico fue de 4.11 con un rango de 1.27 a 10.20. (Tabla 1).

**Tabla 1.** Características generales de los pacientes (N=78)

<b>Género</b>	% (n/N)
Mujer	62.8 (49/78)
Hombre	37.2 (29/78)
<b>Edad</b>	
Media (SD)	57.7 (16.2)
<b>Actividad Sexual</b>	
Heterosexual	70.5 (55/78)
Homosexual	16.7 (13/78)
<b>VIH</b>	
Se desconoce	79.5 (62/78)
Positivo	16.7 (13/78)
Negativo	3.8 (3/78)
<b>Síntomas</b>	
Dolor	60.3 (47/78)
Rectorragia	59 (46/78)
Pérdida de peso	15.4 (12/78)
Astenia	3.8 (3/78)
<b>ECOG</b>	
0	50 (39/78)
1	44.9 (35/78)
2	5.1 (4/78)
3	0 (0/78)
<b>Grado Histológico</b>	
1	15.9 (11/78)
2	44.9 (31/78)
3	37.7 (26/78)
<b>Etapas Clínicas</b>	
I	15.4 (12/78)
II	12.8 (10/78)
IIIA	16.7 (13/78)
IIIB	38.5 (30/78)
IV	16.7 (13/78)
<b>Sitio de recaída/progresión</b>	
Local	50 (10/20)
Hígado	20 (4/20)
Inguinal	10 (2/20)
Pulmón	10 (2/20)
Supraclavicular	5 (1/20)
Hueso	5(1/20)
<b>ACE</b>	
Mediana	4.11 (1.27 a 10.20)

## 7.2 Factores pronósticos

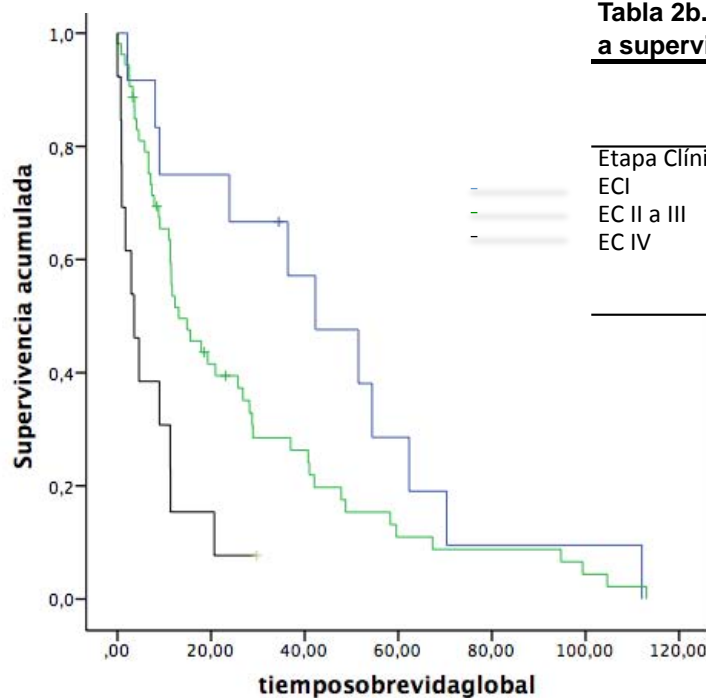
El tiempo medio de seguimiento fue de 24.59 meses. La mediana de supervivencia para todos los pacientes fue 12.2 meses (IC 95% 6.05 a 18.51). (Tabla 2a)

En los análisis univariados para supervivencia global, el género femenino tuvo mejor supervivencia con respecto al género masculino 20.9 vs 11.26 meses respectivamente ( $p=0.002$ ) (Tabla 2a).

**Tabla 2a. Análisis univariado de factores clínicos asociados a supervivencia global**

	Análisis Univariado		
	Mediana	95% CI	P
<b>GLOBAL</b>	12.28	[6.05 - 18.51]	
<b>Género</b>			
Mujer	20.9	[1.19 - 40.66]	0.002
Hombre	11.26	[5.63 - 16.90]	
<b>Edad</b>			
<60 años	13.076	[7.78 - 18.35]	0.097
60+ años	11.69	[0 - 29.85]	
<b>Actividad Sexual</b>			
Heterosexual	11.46	[3.41 - 19.51]	0.799
Homosexual	26.8	[0.97 - 52.64]	
<b>Grado Histológico</b>			
G1	15.54		0.706
G2	11.69		
G3	13.07	[2.25 - 15.68]	
G4	11.35	[5.66 - 10.36]	
<b>Sitio de recaída/progresión</b>			
Local	11.49	[5.18 - 17.81]	0.315
Hígado	13.07	[NR]	
Inguinal	12.28	[NR]	
Pulmón	11.26	[NR]	
Supraclavicular	42.05	[NR]	
Hueso		[NR]	
<b>Síntomas</b>			
Dolor	17.9	[7.90 - 27.90]	0.477
Rectorragia	12.28	[0.002- 24.57]	
Pérdida de peso	8.8	[0 - 30.27]	
Astenia	42.28	[40.23 - 44.33]	

La etapa clínica como es de esperarse también demostró un diferencia estadísticamente significativa en la supervivencia global, de tal manera que pacientes con EC I llegan a alcanzar 42 meses de supervivencia comparados con pacientes en EC IV en los cuales la supervivencia cae a 12.2 meses ( $p < 0.001$ ) (Tabla 2b, Figura 2) . En el análisis univariado no se encontraron diferencias en el tiempo de sobrevida por edad, actividad sexual, grado histológico, sitio de recaídas ni por algún síntoma en específico.(Tabla 2b).



**Tabla 2b. Análisis univariado de la etapa clínica asociado a supervivencia global**

	Mediana	Análisis Univariado 95% CI	P
<b>Etapa Clínica</b>			
EC I	42.2	[19.0 - 65.50]	0.001
EC II a III	13	[5.70 - 20.45]	
EC IV	12.2	[0.186 - 6.97]	

Figura 2. Resultado de la supervivencia global de acuerdo a etapa clínica.

## 7.3 Genotipificación del Virus del Papiloma Humano (preliminares)

### 7.3.1 Cuantificación de ADN

Las muestras se cuantificaron en nanodrop para conocer los ratios 260/280 (pureza) y 260/230 (restos orgánicos). Los rangos aceptados para utilizar las muestra de ADN fueron 1.8-2.0 y 1.8 a 2.2, respectivamente. Adicionalmente, las muestras fueron cuantificadas por qPCR utilizando RNase P (Figura 3), con una curva estándar por duplicado con diluciones 1:2 iniciando con una concentración de 5 ng/μl y terminando con 0.08 ng/μl.

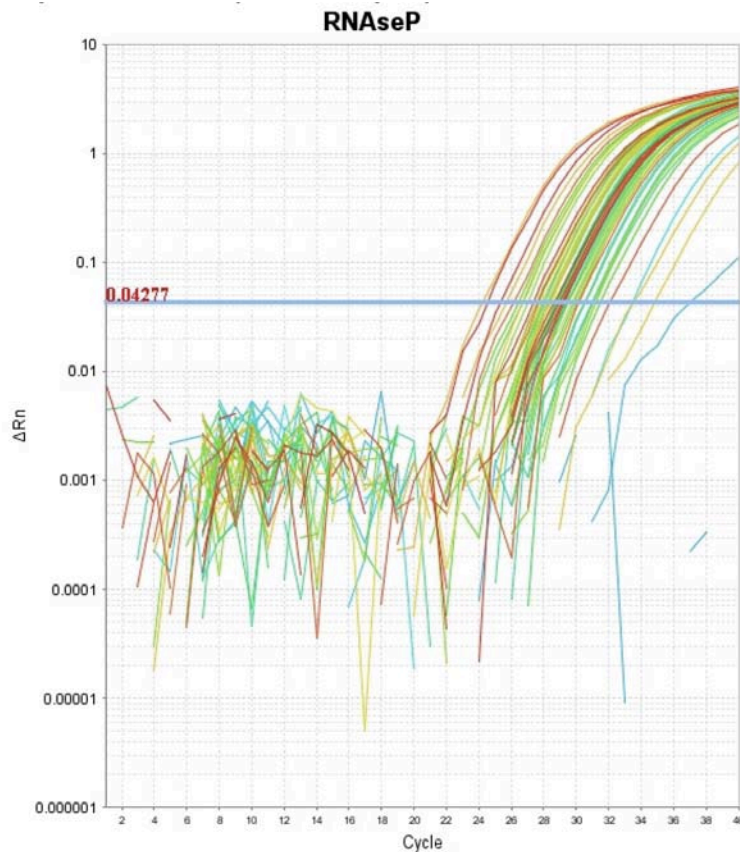


Figura 3. Ejemplo de las amplificaciones por qPCR de RNase P utilizada para cuantificar las muestras de ADN utilizadas.

En la siguiente tabla (Tabla 3) se muestran los radios de cada muestra y las cuantificaciones (nanodrop y RNase P) de las muestras utilizadas en este trabajo. De las 78 muestras 5 no fue detectable la cuantificación para RNase P.

Tabla 3. Cuantificaciones de ADN de las muestras utilizadas en ng/ $\mu$ l con nanodrop y RNase P (qPCR).

ID del experimento	ng/ul	260/280 (pureza)	260/230 (restos orgánicos)	Control de calidad por qPCR
				RNAseP (ng/ul)
A1	251	2.02	1.3	45
A2	264.4	2.01	1.25	48
A3	84.8*	2.07	0.72	28
A4	928.8	2.02	1.85	205
A5	481.8	2.01	1.66	99
A6	735.3	2.05	1.83	171
A7	117.2*	1.96	0.91	35
A8	126.7	2.03	1.71	53
A9	39.5	2.04	1.6	22
A10	404	2.02	1.58	74
A11	20.2*	1.92	0.93	14
A12	435.4	2.02	1.6	91
A13	68.8	2.05	1.83	25
A14	22.6	1.87	1.28	25
A15	353.7	2.01	1.41	65
A16	142.9	2.05	2.01	50
A17	111.6	2.02	1.75	19
A18	220.8	2.02	1.21	19
A19	80.7	1.95	1.62	33
A20	578.4	2	1.65	87
A21	649.6	2.04	1.78	143
A22	388.3	2.02	1.59	102
A23	105.6*	2.06	0.81	30
A24	185.4	2.05	1.97	62
A25	522.7	2	1.63	73
A26	76.7	2.07	1.92	no determinado
A27	59.5	2.06	1.68	7
A28	280.7	2.02	2.06	25
A29	179.6*	2.04	1.02	17
A30	168.1*	2.03	0.98	40
A31	322.6*	2.01	1.3	88
A32	697.5	2.03	1.72	166
A33	84.1	2.02	1.8	185
A34	193.9*	1.97	0.98	15
A35	185.6	2.05	2	58
A36	20.6*	2.08	1.26	24
A37	327.5	2.01	1.36	58
A38	210.1	2.02	1.77	52
A39	20.3*	1.97	0.99	16
A40	74.8*	2.06	0.54	24
A41	116*	2.04	0.8	34
A42	321.5	2.01	1.29	54
A43	96.1	2.04	1.44	44
A44	115.9	2.04	1.51	47
A45	100.3	2.06	1.59	14
A46	193.6	2.04	1.84	13
A47	151.2	2.05	1.7	10
A48	157.3	2.02	1.72	36
A49	228.7	2.02	2.12	2
A50	302.8	2.01	2.12	44
A51	4.9*	1.21	-0.07	no determinado
A52	19.2*	2.03	0.76	no determinado
A53	13.1*	1.9	1.8	no determinado
A54	71.7	1.96	-1.75	40
A55	190	1.97	1.8	29
A56	50.9	2	2.08	22
A57	46.8	1.94	1.73	27
A58	237.8	1.97	3.73	68
A59	191	1.96	3.74	49
A60	516.3	1.97	1.97	30
A61	244.3	1.95	3.09	39
A62	336.4	1.98	2.98	18
A63	49.7	1.99	2.62	101
A64	239	1.95	3.35	57
A65	214.6	2.01	3.88	58
A66	119.8	1.93	15.29	40
A67	23.3*	1.75	1	6
A68	142.3	2.02	1.94	22
A69	73.5	2	1.81	21
A70	337.4	2.02	2.07	36
A71	266	2.01	2.07	39
A72	148.9	2.04	1.9	41
A73	85*	2.06	0.67	25
A74	62*	2.05	0.6	20
A75	43.5	2.09	1.5	no determinado
A76	148.5	2.04	1.28	44
A77	494.5	2.01	1.81	82
A78	160.8*	2.07	1.13	45



#### **7.4 Prevalencia del virus del papiloma humano y correlación de los diferentes serotipos con la respuesta al tratamiento (Análisis pendiente)**

### **VIII. DISCUSIÓN**

Dentro de nuestro conocimiento, es el primer estudio en población mexicana donde se busca la prevalencia del virus del papiloma humano en pacientes con carcinoma anal, los serotipos más frecuentes y la correlación pronóstica con la supervivencia.

Dentro de los factores clínicos se encontró que el género femenino confiere mejor pronóstico de sobrevida comparado con el género masculino. Es importante mencionar que en la población de alto riesgo para el desarrollo de carcinoma anal (hombres que tienen sexo con hombres VIH positivos) se estima una prevalencia de VPH mayor al 80%, en un estudio llevado a cabo en un hospital mexicano se demostró que en pacientes VIH positivos la prevalencia de VPH fue del 86% <sup>40</sup>. En nuestro estudio únicamente se conoció el estatus de VIH en el 20.5%, no hubo diferencia estadísticamente significativa en sobrevida global entre pacientes VIH positivos y VIH negativos, sin embargo el número de pacientes es limitado para poder realizar una asociación.

En la literatura existe información discordante en los que p16 (marcador de inmunohistoquímica suborrago de infección por VPH) confiere mejor respuesta a tratamiento y por lo tanto mayor supervivencia, dos estudios llevados cabo por Ajani *et al*,<sup>38</sup> y por Bruland *et al*,<sup>39</sup> evaluaron p16 como factor pronóstico y no encontraron ninguna asociación. Por el momento se están llevando a cabo los análisis experimentales para conocer la prevalencia del virus del papiloma humano y la correlación clínica que pudieran tener.

## **IX. CONCLUSIÓN**

Por el momento los resultados definitivos de la prevalencia e identificación de los serotipos del virus papiloma humano y la asociación como factor pronóstico están pendientes. Dentro de las variables clínicas evaluadas el género femenino tuvo prácticamente el doble de sobrevida al compararse con los hombres. No se encontró diferencias estadísticamente significativas entre la etapa clínica y el sitio de recurrencia/progresión. En población de alto riesgo de infección por VPH (hombres que tienen sexo con hombres VIH positivos) en los cuales la incidencia de carcinoma anal es mayor, se deberían contar con estrategias de detección temprana para mejorar los desenlaces.

## X. BIBLIOGRAFÍA:

1. Rebecca L. Siegel, MPH; Kimberly D. Miller PMH: Cancer Statistics, 2015. *Ca Cancer J. Clin* 2015; 56 7-30.
2. Rebecca L. Siegel, MPH; Kimberly D. Miller PMH: Cancer Statistics, 2016. *Ca Cancer J. Clin* 2016; 66 7-30. American Joint Committee on Cancer Staging Manual, 7th, Edge SB, Byrd DR, Compton CC, et al (Eds), Springer, New York 2010. p.165.
3. Klas JV, Rothenberger DA, Wong WD, Madoff RD. Malignant tumors of the anal canal: the spectrum of disease, treatment, and outcomes. *Cancer*. 1999;85(8):1686
4. Sing R, Nime F, Mittelman A. Malignant epithelial tumors of the anal canal. *Cancer* 1981; 48: 11Klotz RG, Transitional cloacogenic carcinoma of the anal canal. Clinicopathologic study of three hundred seventy three cases. *Cancer* 1967;20: 1727
5. Johnson LG, Madeleine MM, Newcomer LM, Schwartz SM, Daling JR Anal cancer incidence and survival: the surveillance, epidemiology, and end results experience, 1973-2000.. *Cancer*. 2004;101 (2):281.
6. Vieyra F, Luna-Pérez P, Peña J P, Rodríguez-Coria D. Características clínicas asociadas de 41 pacientes con carcinoma epidermoide de ano, estudiados en un centro de cáncer. *Rev Gastroenterol Mex* 1997; 62 (2): 89-93.
7. Chin-Hong PV, Palefsky JM. Natural history and clinical management of anal human papillomavirus disease in men and women infected with human immunodeficiency virus.
8. Kline Rj, Spencer Rj, Carcinoma associated with fistula-in-ano. *Arch Surg*. 1964;89:989.
9. Buckwalter Ja, Relationship of chronic anorectal disease to carcinoma. *AMA Arch Surg*. 1957;75(3):352.

10. Holly EA, Whittemore AS Anal cancer incidence: genital warts, anal fissure or fistula, hemorrhoids, and smoking. *J Natl Cancer Inst. Correlates of homosexual behavior and the incidence of anal cancer.*
11. Bouvard V, *Lancet Oncol* 2009; 10: 321, Alemany L, *Int J Cancer* 2015; 136, 98).
12. Critchlow CW, Surawicz CM Prospective study of high grade anal squamous intraepithelial neoplasia in a cohort of homosexual men: influence of HIV infection, immunosuppression and human papillomavirus infection. *AIDS.* 1995;9(11):1255.
13. Tilston P. J Anal human papillomavirus and anal cancer. *Clin Pathol.* 1997;50(8):625.
14. Bjørge T, Engeland A Human papillomavirus infection as a risk factor for anal and perianal skin cancer in a prospective study.. *Br J Cancer.* 2002;87(1):61.
15. Palefsky JM, Holly EA Virologic, immunologic, and clinical parameters in the incidence and progression of anal squamous intraepithelial lesions in HIV-positive and HIV-negative homosexual men. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol.* 1998;17(4):314.
16. Machalek DA Anal human papillomavirus infection and associated neoplastic lesions in men who have sex with men: a systematic review and meta-analysis., *Lancet Oncol.* 2012;13(5):487.
17. Palefsky JM. Anal intraepithelial neoplasia and anal papillomavirus infection among homosexual males with group IV HIV disease. *JAMA.* 1990;263(21):2911.
18. Silverberg MJ, Risk of anal cancer in HIV-infected and HIV-uninfected individuals in North America.. *Clin Infect Dis.* 2012;54(7):1026.
19. Méndez Martínez et al. *BMC Infectious Diseases* 2014, 14: 671
20. Sobhani I. Prevalence of high-grade dysplasia and cancer in the anal canal in human papillomavirus-infected individuals. *Gastroenterology.* 2001;120(4):857.
21. Penn I. J Incidence and treatment of neoplasia after transplantation. *Heart Lung Transplant.* 1993;12(6 Pt 2):S328.
22. Penn I. Cancers of the anogenital region in renal transplant recipients. Analysis of 65 cases. *Cancer.* 1986;58(3):611.
23. Nubia Muñoz, Epidemiologic Classification of Human Papillomavirus Types Associated with Cervical Cancer.. *N Engl J Med* 2003; 348, 518

24. Lowy DR, Howley PM. Fields virology. Papillomaviruses. Philadelphia, USA: Lippincott, Williams. and Wilkins; 2001. p. 2231–64.
25. Longworth MS. Pathogenesis of human papillomaviruses in differentiating epithelia. *Microbiol Mol Biol Rev* 2004;68:362
26. Thomas M. The role of the E6 P53 interaction in the molecular pathogenesis of HPV. *Oncogene* 1999;18:7690
27. Doorbar J. The papillomavirus life cycle. *J Clin Virol* 2005; (suppl1):S7
28. Walboomers JM. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol* 1999; 189:12
29. Lourdes Gutierrez, Diagnóstico molecular del virus del papiloma humano en el desarrollo del cáncer cervical. *Salud Pública de México* vol.51, supple3 Cuernavaca Jan.2009
30. Longo WE et al, Recurrent squamous cell carcinoma of the anal canal. Predictor of initial treatment failure and results of salvage therapy. *Ann Surg* 220:40, 1994
31. Myerson RJ, Kong F et al: Radiation therapy for epidermoid carcinoma of the anal canal, clinical and treatment factor associated with outcome. *Radiother Oncol* 61:15, 2001.
32. Edelman S, et al: Combined modality therapy for HIV infected patients with squamous cell carcinoma of the anus: outcomes and toxicities. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 66:206, 2006.
33. Nilsson PJ, et al. Prognostic significance of cyclin A in epidermoid anal cancer. *Oncol Rep* 16:443, 2006.
34. Sabine Mai et al, Prognostic Relevance of HPV infection and p16 overexpression in squamous cell anal cancer, *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 4, 819, 2015
35. Smaglo, *Oncotarget*, Vol 6 No 41, 2015
36. Bilmoria KY, Outcomes and prognostic factor for squamous cell carcinoma of the anal canal: analysis of patients from the national cancer database. *Dis Colon Rectum* 2009;52:624
37. Das P. Prognostic factors for squamous cell cancer of the anal canal. *Gastrointestinal Cancer Res* 2008; 2:10

38. Ajani JA, Molecular biomarkers correlate with disease free survival in patients with anal canal carcinoma treated with chemoradiation. *Dig Dis Sci* 55:1096, 2010
39. Bruland O, Gene expression reveals two distinct groups of anal carcinomas with clinical implications. *Br J Cancer* 96:1264, 2008
40. Rocio Méndez M. Multiple Human Papillomavirus infections are highly prevalent in the anal canal of human immunodeficiency virus positive men who have sex with men. *BMC Infectious Disease* 2014, 14:671