



Evaluación de la sobreexpresión del oncogen Her-1 por inmunohistoquímica como factor pronóstico en cáncer de cuello uterino

Gonzalo Fabián Franco.

Tesis (Doctor en Medicina y Cirugía) - - Universidad Nacional de Córdoba. Facultad de Ciencias Médicas, 2020

Aprobada: 30 de diciembre de 2015

Este documento está disponible para su consulta y descarga en RDU (Repositorio Digital de la Universidad Nacional de Córdoba). El mismo almacena, organiza, preserva, provee acceso libre y da visibilidad a nivel nacional e internacional a la producción científica, académica y cultural en formato digital, generada por los miembros de la Universidad Nacional de Córdoba. Para más información, visite el sitio <https://rdu.unc.edu.ar/>

Esta iniciativa está a cargo de la OCA (Oficina de Conocimiento Abierto), conjuntamente con la colaboración de la Prosecretaría de Informática de la Universidad Nacional de Córdoba y los Nodos OCA. Para más información, visite el sitio <http://oca.unc.edu.ar/>



Evaluación de la sobreexpresión del oncogen Her-1 por inmunohistoquímica como factor pronóstico en cáncer de cuello uterino por Gonzalo Fabián Franco se distribuye bajo una Licencia Creative Commons Atribución-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional.

UNIVERSIDAD NACIONAL DE CORDOBA
FACULTAD DE CIENCIAS MEDICAS

EVALUACION DE LA SOBREEXPRESION DEL ONCOGEN HER-1 POR
INMUNOHISTOQUIMICA COMO FACTOR PRONOSTICO EN CANCER DE
CUELLO UTERINO

Trabajo de Tesis para optar al
Titulo de Doctor en Medicina y Cirugía

Gonzalo Fabian Franco

CORDOBA

REPUBLICA ARGENTINA

2020

COMISIÓN DE SEGUIMIENTO DE TESIS

DIRECTOR: Profesor Dr Héctor David Ferreyra

INTEGRANTES: Profesor Dr Martin Pedro Moya

Profesor Dr Santiago Rafael Bella

DEDICATORIAS

A mis Padres Estefania y Chiche.

A mis Hijos Constanza y Ramiro.

A mi Hermano Sebastian.

A mi Compañera Roxi.

A mis Maestros.

UNIVERSIDAD NACIONAL DE CORDOBA
FACULTAD DE CIENCIAS MEDICAS

Articulo 30º del Reglamento de Carrera de Doctorado en Medicina y Cirugia

“LA FACULTAD DE CIENCIAS MEDICAS NO SE HACE SOLIDARIA CON LAS
OPINIONES DE ESTA TESIS”

Agradecimientos:

- A mis Residentes, hoy especialistas, que me ayudaron con la recolección de datos: Vanina Pesci, Andrea Sbiroli y Alejandra Medina.
- A la Dra Lara Vargas del Sanatorio Allende que me ayudo con la recolección de datos de esas pacientes.
- A la Dra Patricia Calafat que desinteresadamente realizó la Lectura de la Inmunohistoquímica de la Expresión del Oncogen y a su equipo de técnicas.
- A la Profesora Maria Elisa Dionisio de Cabalier por su apoyo constante y ayuda en la selección y preparación del Material Histológico para su procesamiento.
- A Estela y Mariel , técnicas del Laboratorio de Anatomía Patológica por la selección de los Tacos Tumorales.
- A mi comisión de Tesis por su apoyo correcciones y consejos constantes.
- Un especial agradecimiento al Profesor Dr Martin Moya por su apoyo incondicional y por su colaboración de todos los cálculos estadísticos y confección de los gráficos del Capítulo Resultados.
- A todos los Integrantes de la 1era Catedra donde atendemos estas pacientes con Cáncer

INDICE

I – Resumen	6
II – Summary	8
III - Introducción	10
IV - Objetivos	37
V - Material y Métodos	38
VI - Resultados	47
VII - Discusión	66
VIII - Conclusiones	88
IX – Certificaciones	92
X - Bibliografía	96

Resumen: “Evaluación de la Sobreexpresión del Oncogen Her-1 por Inmunoquímica como Factor Pronóstico en Cáncer de Cuello Uterino.”

El Cáncer de Cuello Uterino es la principal causa de muerte en mujeres en edad reproductiva, particularmente en países en vías de desarrollo.

Mientras es curable en estadios tempranos el tratamiento de los estadios localmente avanzados son a menudo insatisfactorios.

Rol del Her1 en Cáncer de Cuello Uterino

El mecanismo de agresividad tumoral es usualmente dependiente de un estímulo de proliferación celular por varios promotores celulares, numerosos protooncogenes y oncogenes que regulan el desarrollo, diferenciación y muerte celular. El Virus del Papiloma Humano es reconocido como el principal agente etiológico del cáncer cervical, sin embargo la sobreexpresión del Receptor Epidermal Growth Factor (Factor de Crecimiento Epidérmico) o lo que es lo mismo el (Her1) es común y parece tener un rol oncogénico preponderante.

Los Trials de investigación clínica presentan resultados dispares y contradictorios acerca de si la sobreexpresión del Her1 es un factor predictor, la mayoría de los reportes muestran resultados adversos en la Sobrevida de pacientes con Cáncer Cervical aunque aún no está definida claramente su utilidad clínica, ni como medio para realizar terapias Anti Her.

El tratamiento estándar con quimio radioterapia concurrente basado en platino muestra fallas en la respuesta entre 15-45% de Estadios IB₂ – IIIb con una tasa de Sobrevida a 5 años de solamente el 66%. Por lo tanto resulta de interés investigar nuevos factores histopronósticos que ayuden a tomar decisiones terapéuticas y nuevos blancos moleculares que pudieran aumentar la tasa de respuesta al tratamiento y por lo tanto incrementar la tasa de curación y pronóstico de estas pacientes.

El Objetivo de la Investigación consiste en conocer cual es el porcentaje de Sobreexpresión del Her 1 en la cohorte de estudio, evaluar y comparar la Correlación existente entre la Sobreexpresión del mismo con una posible afectación de la Sobrevida Libre de enfermedad, su relación como Factor Predictor y Tiempo a la Recidiva, tanto Local como a Distancia como así también si existe alguna relación entre su sobreexpresión y la posibilidad de afectación de la Sobrevida Global.

Todas las variables de estudio, comparadas con el grado de sobreexpresión del oncogen manifestado a través de todas las posibles Intensidades de Tinción de 0+ a 3+.

También correlacionar la sobreexpresión del Her 1 con Factores histopronósticos considerados adversos y que influyen directamente con el objetivo primario que pudieran afectar el periodo libre de enfermedad tanto como la Sobrevida Global.

Diseño de Estudio: Se realizó un Estudio prospectivo de cohorte.

Se extrajeron muestras de 39 tacos tumorales y los datos de las Historias Clínicas de pacientes atendidas en el Hospital Nacional de Clínicas y Sanatorio Allende con Cáncer Invasor de Cuello y que fueron sometidas a tratamiento quirúrgico.

El procesamiento de los tacos tumorales de la sobreexpresión de Her1, se llevaron a cabo en el Laboratorio de Anatomía Patológica del Hospital Privado, se utilizaron muestras de tejidos fijados en formol al 10% y embebidos en parafina y se realizaron cortes de 4 – 5 micras. Para la recuperación antigénica de los cortes para Her1 se utilizó buffer citrato pH6 marca dako.

EGFR interpretación de los resultados.

NEGATIVO: Se considera negativo a la ausencia total de la tinción en la membrana

POSITIVO: Se define como positivo a cualquier tinción membranosa ya sea débil o incompleta.

INTENSIDAD DE LA TINCIÓN: score 1+ 2+ 3+.

RESULTADOS: El porcentaje de pacientes que sobre expresaron en Her1 fue del 63.9%; el 23% del total 1+, 17.9% 2+ y un 23% de 3+.

Se observó una relación directa entre la Sobreexpresión de Her 1 con intensidad de tinción de 2+ y 3+ y el acortamiento del tiempo a la recidiva. Con 3+ el tiempo promedio fue de 9 meses, con 2+ fue de 17 meses y con ausencia de sobreexpresión de 17.7 meses, comportándose este como un factor de Riesgo de acortamiento del Tiempo Libre de Enfermedad.

Cuando se evaluó Mortalidad, si bien no hubo una diferencia estadísticamente significativa entre las distintas Intensidad de tinción del Her1 y la posibilidad de morir como factor univariable de estudio, se encontró una muy clara la tendencia de Riesgo, a mayor expresión del Her1 mayores posibilidades de morir por la enfermedad, un 36.4% de muertes en el grupo no sobre expresado y un 50% de pacientes muertas en el grupo que mostro sobreexpresión máxima del oncogén.

El 100% de las pacientes que se presentaron con tumores localmente avanzados (Mayores a 4cms y/o compromiso inicial de parametrios) tenía sobreexpresión del Her1 con (3+) lo cual demuestra una fuerte asociación con la presentación de los tumores en Estadios mas avanzados, mientras que cuando la tinción fue 0 en la que resulto 36.4% en Tumores iniciales y 63.6% localmente avanzados.

En cuanto al tamaño tumoral, el 65.8% de los Tumores con 3+ mostraron un promedio de 65mm, en cambio con 2+ un promedio de 12mm de tamaño tumoral, 1+ un promedio 8mm y con una marcación de 0+ un promedio de 13mm ($p=0.012$).

Al estudiar la correlación con la Profundidad de Invasión Tumoral se encontró que con 3+ hubo una invasión micocervical de 2.7cm en promedio, 2+ de 1.17 , el de 1+ 0.88 y 1.45cm para 0+. Cuando se evaluo invasion tumoral de mitad interna vs mitad externa, se observo que las que tenian 3+ tenian capacidad de penetración del tumor en profundidad mcho mayor con una $p=0.032$ al compararlo con 2+, 1+ y 0+.

El Compromiso Parametrial tuvo una asociacion proporcional,cuando fue 0+ el 28.6% de tuvo parametrios comprometidos, con una 1+ 22.2%, con 2+ el 42.9% y con 3+ el 50%.

Por otra parte se observo una relación directa en la proporción de Tumores con Alto recuento mitótico e intensidad de marcación Sobreexpresión del Her1. El 66.7% de la población con Tumores de Alto recuento mitótico presentaron 3+, en cambio un 50% de esta población tuvo 2+, un 42.9% 1+ y solo 20% marcación 0+.

Cuando se comparo la ocurrencia de tumores G3 (indiferenciados) y la expresión del Her1, se observo una fuerte asociación. Solo el 15.4% de los tumores que fueron 0+ mostraron G3, mientras que el 44.4% de los que presentaron 1+ tuvieron G3, 71.4% de los que tuvieron 2+ y el 44.4% de los que presentaron máxima intensidad de tinción tuvieron tumores indiferenciados.

Con respecto a la relación de la Sobreexpresión del Her1 y la presencia de Invasión Vasculolinfatica (IVL) no se obtuvieron hallazgos significativos tampoco se pudo mostrar asociacion de Sobreexpresion del Her1 con mayor tasa de metastasis ganglionares.

CONCLUSIONES: si bien muchas de las variables no resultaron estadísticamente significativas, la tendencia es muy clara y hablaría de que a una mayor sobreexpresión del Her1 podría haber mayor crecimiento tumoral con presentaciones de tumores mas grandes al momento diagnostico, como así también mayor asociación a presentación en Estadios localmente avanzados, seguramente explicado por la asociación a factores de mal pronostico como son el Alto Recuento Mitótico y Mayor grado de Indiferenciación celular. Resulto lógico de esperar la asociación a mayor profundidad de invasión en el estroma cervical y mayor porcentaje de parametrios comprometidos. Encontrándose así la Sobreexpresión del Her1 como un factor desfavorable especialmente con mayor intensidad de Tinción, con afectacion del tiempo a la recidiva y la Sobrevida Global. A su vez podría tenerse en cuenta dentro de las variables histopronosticas e incluirlo como un factor mas de decisión terapéutica, especialmente referido a Aduvancia.

Y por ultimo la posibilidad de evaluar la Sobreexpresión del Her1 a través de la Inmunohistoquímica abre la puerta a la posibilidad futura de tratamiento con terapias targets para este subgrupo de pacientes que deberá ser evaluado en Estudios prospectivos de investigación.

Summary: "Evaluation of Overexpression of Oncogen Her-1 by Immunocytochemistry as a Prognostic Factor in Cervix Cancer".

Cervix invasive cancer is the main cause of death in women at reproductive age, particularly in developing countries. Whereas it is curable at early stages, the treatments of locally advanced stages are frequently unsatisfactory.

The role of Her1 in cervix cancer

The mechanism of tumor aggressiveness is usually dependent on a stimulus of cell proliferation by various cell promoters, numerous protooncogenes and oncogenes that regulate development, differentiation and cell death. Human Papilloma Virus is acknowledged as the main etiological agent of cervix cancer, however overexpression of Receptor Epidermal Growth Factor (Epidermal Growth Factor) or, what is the same, Her 1 is common and seems to have a preponderant oncogenic role. The clinical investigation Trials show dissimilar and contradictory results about whether the overexpression of Her1 is a predictor factor, most reports show adverse results in Survival of patients with Cervical Cancer even though its clinical usefulness is not clinically defined yet, nor as a means to carry out anti Her therapies. The standard treatment with concurrent chemo radiotherapy based on platinum, shows failures in the answer between 15-45 % of IB2- IIIb Stages with a survival rate at 5 years of only 66%. Thus, it is of interest to investigate new histopronostic factors that help take therapeutic decisions and new molecular targets that could increase the rate of answer to the treatment and therefore to increase the rate of healing and prognosis of these patients.

The Investigation Objective consists in knowing which is the percentage of Overexpression of Her1 in the study cohort, evaluating and comparing the Correlation existing between its Overexpression and a possible affectation of Free From Illness Survival, its relationship as a Predictive Factor and Time to Recurrence, Local as well as at a Distance, and also whether there exists any relationship between its Overexpression and the chance of affectation of Global Survival. All of the study variables, compared to the degree of overexpression of the oncogen shown through all the possible Intensities of staining from 0+ to 3+. Also to correlate the overexpression of Her1 with histopronostic Factors considered adverse and that directly influence on the primary objective that could affect the free from illness period as well as Global Survival.

Study Design: A cohort prospective study was carried out.

Samples from 39 tumor tissues were extracted, and the data from Clinic Histories of patients with invasive cervix cancer treated in the Hospital Nacional de Clinicas and Sanatorio Allende, and that underwent surgical treatment.

The processing of tumor tissues of the overexpression of Her1 was carried out in the Pathological Anatomy Laboratory of the Hospital Privado, samples of tissues fixed in formalin at 10% were used, and embedded in paraffin, and 4-5 micron cuts were made. For the antigenic retrieval of these cuts for Her1, pH6 citrate buffer Dako brand was used.

EFGR interpretation of results:

NEGATIVE: the total absence of tissue staining is considered negative.

POSITIVE: any membranous staining, even if it is weak or incomplete, is defined as positive.

INTENSITY OF STAINING: 1+, 2+, 3+ score.

RESULTS: The percentage of patients that overexpressed in Her1, was of 63.9 %; 23% of the total 1+, 17.9 % 2+, and 23% 3+. A direct relationship was observed between Overexpression of Her 1 with staining intensity of 2+ and 3+ and the shortening of time to recurrence. With 3+, the average time was of 9 months, with 2+ of 17 months, and with absence of overexpression of 17.7 months, this one behaving as a Risk Factor of shortening of the Free From Illness Time.

When Mortality was evaluated, even though there was not a statistically significant difference among the different staining Intensities of Her1 and the possibility of dying as a study factor, a very clear tendency of Risk was found: the higher the expression of Her1 the bigger the chances of dying due to the illness, a 36.4 of deaths in the not overexpressed group, and a 50% of patients dead in the group

that showed maximum overexpression of the oncogen. A 100% of patients who showed up with tumors locally advanced (bigger than 4cms and /or initial parametrial engagement) had 3+ overexpression of Her1, which shows a strong association with the presentation of tumors in more advanced stages, whereas when staining was 0 in which it resulted 36.4% in initial tumors, and 63. 6% locally advanced.

As regards tumor size, 65.8% of tumors with 3+ showed an average of 65mm; instead with 2+, an average of 12mm tumor size, 1+ an 8mm average, and a marking of 0+ a 13mm average (p= 0.012).

When studying the correlation with the Depth of Tumoral Invasion it was found that with 3+ there was an average myocervical invasion of 2.7cm, 2+ of 1.17, that of 1 0.88, and 1.45cm for 0+. It was observed that patients that had 3 (+) showed tumor penetration at a much higher depth than those who had less intensity of expression of Her1 = p=0.32.

The Parametrial engagement had a proportional association, when it was 0+ 28.6 % of had engaged parametria, with 1+ 22.2%, with 2+ 42.9%, and 3+ 50%. On the other hand, a direct relationship was observed in the proportion of Tumors with high mitotic count and intensity of marking overexpression of Her1. 66.7% of the population with High mitotic count Tumors showed 3+, instead a 50% of this population had 2+, 42.9% 1+, and only 20% 0+ marking.

When occurrence of G3 tumors (undifferentiated) and expression of Her1 were compared, a strong association was observed. Only 15.4% of tumors that were 0+ showed G3 , while 44.4% of those which showed maximum staining intensity had undifferentiated tumors.

As regards the relationship of Overexpression of Her1 and the presence of vasculolymphatic invasion (VLI) no significant findings were obtained , nor association of Overexpression of Her1 with a higher rate of nodal metastases could be shown.

CONCLUSIONS: Although many of the variables were not statistically significant, the tendency is very clear and it would tell that at a higher overexpression of her1 there could be a higher tumor growth with presentation of bigger tumors at diagnosis time, as well as also a higher association to presentation at locally advanced stages, surely explained by the association to bad prognosis factors such as High Mitotic Count and a Higher degree of cell Undifferentiation. It was logical to expect the association between higher depth of invasion in cervical stroma and a higher percentage of parametria engaged. It was found, thus, the overexpression of her1 as an unfavorable factor, especially with higher staining intensity ,with affectation of time to recurrence and Global Survival. At the same time, it could be taken into account within the histopronostics variables , and include it as one more factor of therapeutic decision, especially referred to Adjuvance.

And finally, the possibility of evaluating Overexpression of Her1 through Immunohistochemistry opens the door to the future possibility of treatment with target theraoies for this subgroup of patients that will have to be evaluated in prospective research studies.

INTRODUCCIÓN

El Cáncer de Cuello Uterino es la principal causa de muerte en mujeres en edad reproductiva, particularmente en países en vías de desarrollo.

Mientras es curable en estadios tempranos el tratamiento de los estadios localmente avanzados son a menudo insatisfactorios.

Desde la Publicación del Ultimo FIGO Cáncer Report (Federación Internacional de Ginecología Oncológica) se ha dado un gran paso en un esfuerzo global y mundial de reducir la carga de mujeres con cáncer cervical, así es que se publico una exhortación de la Organización Mundial de la Salud llamando a eliminar el Cáncer Cervical de la faz de la Tierra.

El HPV (Virus del Papiloma Humano) es el causante de mas del 99% de los Cánceres cervicales uterinos. Tal es el esfuerzo que en 80 Países de Bajos y Medios niveles de Ingresos económicos, la Vacunación contra el HPV, está actualmente incluida en el Programa Nacional de Vacunación. (1)

Otro gran avance ocurrido es la detección precoz de pacientes a Riesgo con la implementación del Test de HPV como Screening a gran escala.

Sin embargo medio millón de nuevos casos ocurren el mundo anualmente (1).

Globalmente el Cáncer de cuello uterino continua siendo uno de los mas comunes de la mujer, es el tercer cáncer más diagnosticado y la cuarta causa de muerte en la mujer en todo el mundo. Aunque en Países de Bajo y Medio nivel de Ingresos es el Segundo Cáncer mas frecuente en incidencia y el tercero mas común en términos de mortalidad. Corresponde al 9% (529,800) del total de nuevos casos y el 8% (275,100) del total de muertes por cáncer en la mujer, es decir poco más de la mitad de los casos diagnosticados mueren por la enfermedad. Más del 85% de los casos provienen de Países en vía de desarrollo. (2,3).

Luego de comparar sus tasas estandarizadas por edad, los países con menos desarrollo tienen 1,8 veces más incidencia y 2,8 veces más mortalidad que los más desarrollados (4,5).

La desproporcionada Alta Tasa de Cáncer Cervical en Países Emergentes y con deficiente acceso a atención médica es debida en gran parte a la falta de Programas de Screening que permitan diagnosticar la enfermedad en Lesiones Preinvasoras o Estadios Tempranos del cáncer (6,7). La infraestructura para el cuidado de la salud en estos países no está preparada para sostener un screening con Papanicolaou y otros test de screenings para otros cánceres.

Años de Vida Potencial Perdidos

Las muertes por cáncer cervicouterino en América representan un gran número de años de vida potencial perdidos. En 1995, murieron de cáncer cervicouterino 6.065 mujeres entre los 35 y 64 años de edad en 16 países, lo cual ocasionó la pérdida de 183.487 años de vida potencial, si se supone una esperanza de vida al nacer de 75,8 años. Las tasas actuales de incidencia y mortalidad prácticamente no han cambiado.

Mortalidad Proporcional

En el último informe de la OPS el cáncer cervicouterino ocasiona una mayor proporción de muertes por cáncer en la mujer en América Latina y el Caribe que en América del Norte.

Si se consideran las defunciones por todas las neoplasias malignas (excluidas las de piel) en mujeres América, la mortalidad proporcional por cáncer cervicouterino varía desde menos de 2,5 por ciento en América del Norte hasta 49,2% en Haití (98).

Consideraciones Anatómicas:

El Cuello es la parte más inferior del Útero, posee una estructura Cilíndrica compuesto por estroma y epitelio. La porción intravaginal presenta el ectocervix delimitado por un epitelio escamoso que se encuentra separado de la porción endocervical, cubierto por epitelio glandular, por la Zona de transformación entre ambos epitelios. El canal endocervical se extiende desde el Orificio cervical interno en contacto con el cuerpo uterino hasta la Zona de Transformación a través de la cual se comunica con la vagina. La mayoría de los Cánceres de Cérvix se originan en esta Zona de Transformación ecto-endocervical.

El hecho de que el Cérvix pueda ser fácilmente visualizado, estudiado y tratado desde el exterior través de un espejulo a contribuido a entender la Historia Natural de este Cáncer con el desarrollo de técnicas simples , ambulatorias de screening y prevención (1).

Historia natural de la enfermedad

La mayoría de los cambios patológicos que ocurren en el cuello uterino se originan en la Zona de Transformación, que se encuentra en constante reparación y metaplasia mostrando la mayor actividad celular de replicación, por lo tanto la más proclive a

mostrar cambios proliferativos cuando existen cambios en el genoma celular, frecuentemente afectado por el Virus de HPV (Papiloma Virus Humano). Este es capaz de inducir cambios en la información genética celular modificando la apoptosis celular y estimulando el crecimiento celular. En general esta es la base de las llamadas Displasias Cervicales o CIN (Neoplasias Intraepiteliales Cervicales) y actualmente denominadas SIL (Lesiones intraepiteliales escamosas).

Richardt (Nueva York), en 1967, propuso el término de neoplasia intraepitelial cervical (NIC-CIN) con tres grados progresivos (2-4). Esta clasificación estriba en el reconocimiento de la unidad del proceso patológico lo cual conlleva una relación con las técnicas terapéuticas. Esta clasificación ha sido considerada bastante adecuada durante más de 20 años y por lo tanto la más utilizada internacionalmente. No obstante, un número creciente de publicaciones señalaron la baja seguridad diagnóstica, tanto en material citológico como histológico. Se sugirió, por lo tanto, que este sistema de gradación debía ser modificado y sustituido por un sistema binario que discrimine más fehacientemente los procesos con atipia celular muy discreta de aquellos con atipia franca.

LESIÓN INTRAEPITELIAL ESCAMOSA (SIL o LIE) (ALTO-BAJO GRADO)

Las razones anteriormente expuestas, junto con los avances en el conocimiento de la carcinogénesis cervical y en el diagnóstico citológico, motivaron una reunión de representantes de organismos internacionales, científicos y profesionales, en el Instituto Nacional del Cáncer de Estados Unidos en Bethesda dando así origen a un nuevo sistema de nomenclatura para informes citológicos ginecológicos (Sistema o Clasificación de Bethesda), en el que se unificaron criterios y se adoptaron recomendaciones que la experiencia general acumulada aconsejaba. Así se elaboró un sistema binario para catalogar las anomalías celulares preneoplásicas en el extendido citológico, denominándolas lesiones intraepiteliales escamosas de alto o bajo grado (L.I.E.- S.I.L.). El término «alto grado» (SIL-A) incluye el CIN 2 y CIN 3 de la clasificación de Richardt, y el término «bajo grado» (SIL-B) el CIN 1 y las alteraciones celulares producidas por papiloma virus (HPV).

Tabla 1: Cuadro Comparativo de Clasificaciones de las Neoplasias Intraepiteliales Cervicales. Extraído de Nomenclatura de las lesiones cervicales (de Papanicolaou a Bethesda 2001) (99).

DISPLASIA/CIS Años 49-69	¿HPV?	DISPLASIA LEVE	DISPLASIA MODERADA	DISPLASIA GRAVE	CIS
CIN-NIC (Richart) Años 69-89	HPV (1976)	CIN-NIC 1	CIN-NIC 2	CIN-NIC 3	
SIL-LIP (Bethesda) Desde 1989	SIL-LIP BAJO GRADO (L-SIL)		SIL-LIP ALTO GRADO (H-SIL)		

Más del 95% de los CIN son identificados en esta zona de transformación cervical.

Los CIN se pueden comportar como lesiones precursoras del cáncer cervical dependiendo del grado de afectación celular en el espesor del epitelio escamoso cervical.

En todos los casos de CIN, el epitelio normal del cuello uterino es reemplazado por células epiteliales anormales que muestran diferentes grados de diferenciación.

Células neoplásicas indiferenciadas de apariencia basaloide o parabasaloide pueden ocupar la totalidad del epitelio (CIN 3) o éstas pueden diferenciarse a medida que se acercan a la superficie (CIN 1, CIN 2)

A medida que las células neoplásicas se diferencian, el volumen citoplasmático aumenta. Las irregularidades nucleares, el pleomorfismo, y la anisonucleosis persisten a pesar de que el tamaño nuclear usualmente disminuye.

Es así que se clasifican en tres grados dependiendo del nivel de afectación celular en el espesor epitelial cervical. Teniendo en cuenta que dicho epitelio se divide de manera practica en tres estratos. Basal o tercio inferior, medial o tercio medio y superficial o tercio superior.

En el CIN I los cambios celulares están confinados al tercio inferior, en CIN II involucran los dos tercios inferiores y el CIN III alcanza el tercio superior sin involucrar todo el espesor epitelial y cuando todo el espesor epitelial se encuentra afectado sin perforar la membrana basal es un CIN III / Carcinoma In Situ.(100)

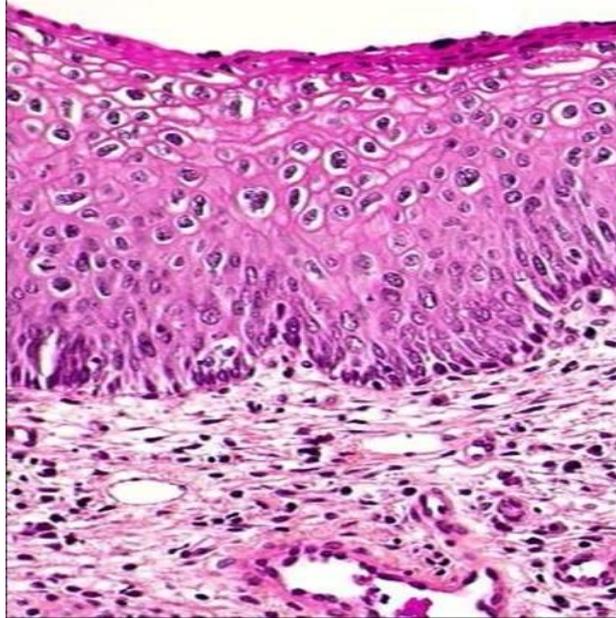


Figura 1: Fotomicroscopía de un CIN 1. De: Scully et al, WHO; Histological Typing of Female Genital Tract Tumors (100).

CIN 1: las células indiferenciadas ocupan el tercio inferior del epitelio, luego comienzan a diferenciarse de tal forma que las células epiteliales en los dos tercios superiores aparecen con más citoplasma y núcleo más pequeño (pero anormal). Las mitosis son raras.

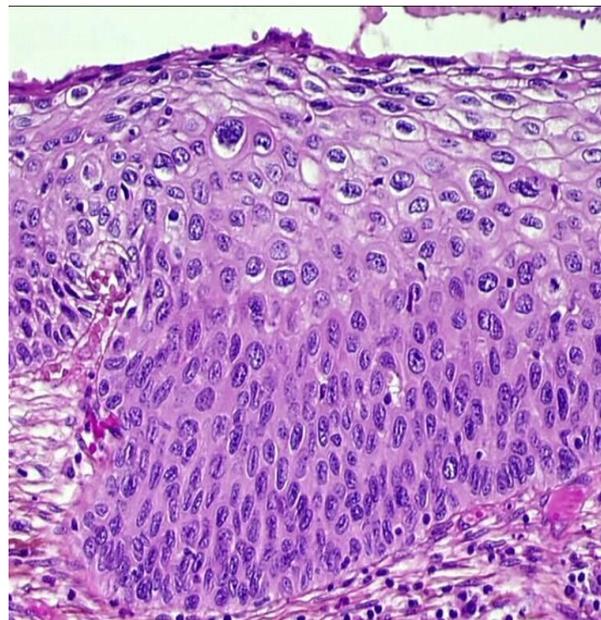


Figura 2: Foto microscopía de un CIN 2. Extraído de: Scully et al, WHO; Histological Typing of Female Genital Tract Tumors (100)

CIN 2: las células indiferenciadas ocupan dos tercios del epitelio y luego comienzan a diferenciarse de tal forma que las células epiteliales en el tercio superior del epitelio aparecen con más citoplasma y con núcleos más pequeños (pero anormales). Las mitosis están confinadas a los dos tercios inferiores del epitelio.

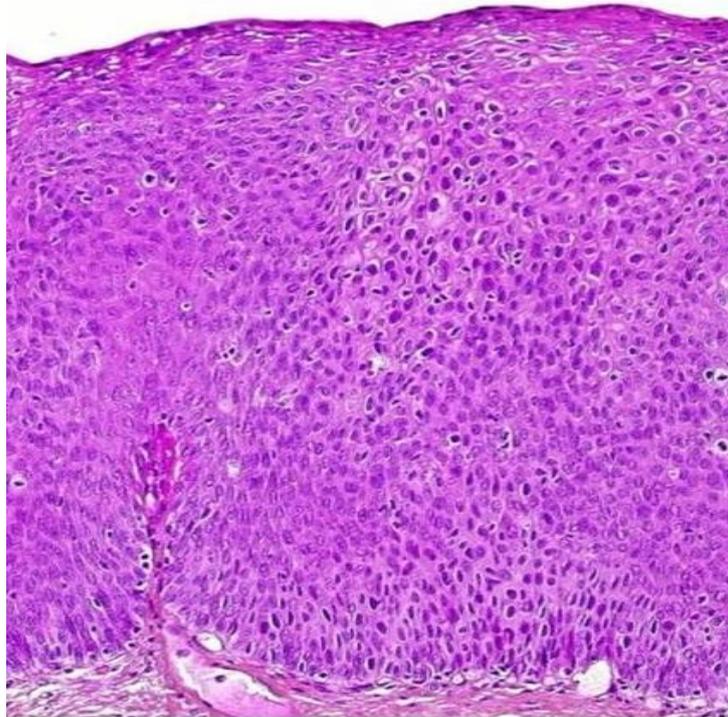


Figura 3: Fotomicroscopia de un CIN 3. Extraído de: Scully et al, WHO; Histological Typing of Female Genital Tract Tumors (100)

CIN 3 (carcinoma in situ): Las células neoplásicas indiferenciadas ocupan la totalidad del epitelio. Las mitosis incluidas las mitosis anormales se pueden ver por todo el epitelio. En cáncer intraepitelial la membrana basal se mantiene intacta y el estroma no está invadido por células tumorales

Así como la mayor tasas de regresión la presentan las lesiones CIN I, los mayores precursores a Cáncer Cervical son el CIN II y CIN III, habitualmente como resultado de la infección persistente por Virus HPV de Alto Riesgo y su integración epigenética en la célula huésped.

El Metanálisis de Ostor (8) que incluyó 64 estudios, 274 carcinomas y 15.473 casos con un seguimiento entre 1-12 años presentó los siguientes resultados que se ilustran en la Tabla 2.

Tabla 2: Historia Natural del CIN. Obtenido del Metanálisis de Ostor (8).

	REGRESION	PERSISTENCIA	PROGRESION Cáncer In Situ	PROGRESION INVASION
CIN I	57%	32%	11%	1%
CIN II	43%	35%	22%	5%
CIN III	32%	56%	-	12%

La detección temprana y tratamiento de los cambios preneoplásicos han sido la principal razón por la cual el Cáncer de Cuello cayó del segundo al sexto cáncer más común en Estados Unidos y en el Reino Unido.

Un análisis de cinco grandes estudios de seguimiento en pacientes tratadas por SIL mostraron una reducción del Riesgo de Cáncer Invasor de Cuello del 95% en 8 años(8).

ADENOCARCINOMA IN SITU (AIS) (OMS 2014)

Es una Lesión intraepitelial que contiene epitelio glandular de apariencia maligna y conlleva un riesgo significativo de desarrollar un adenocarcinoma si no es tratado.

También se la denomina lesión intraepitelial glandular de alto grado (HG-CGIN).

El adenocarcinoma in situ muestra reemplazo del epitelio glandular normal, tanto de la superficie de la mucosa endocervical, como de las glándulas endocervicales, por epitelio neoplásico; éste muestra pseudoestratificación, disminución o pérdida completa de la mucina intracitoplasmática, atipia nuclear, con macrocariosis, hiper cromasia, cromatina irregular y en grumos gruesos y nucléolos prominentes. El epitelio neoplásico compromete las estructura glandulares pre-existentes, por lo que la lesión conserva la arquitectura lobular. El adenocarcinoma in situ puede presentar diferenciación intestinal, con células caliciformes o endometroide.

Factores de Riesgo

Causalidad

Los virus del papiloma humano (VPH) de alto riesgo (tipos 16 y 18) y de mediano riesgo (tipos 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58 y 59) cumplen con los criterios de causalidad(10,11). Los de Alto Riesgo fueron reclasificados como carcinogénicos aunque se sugirió incluir también a los de mediano riesgo y a los tipos 68, 73 y 82 y denominar a los tipos 26, 53 y 66 como probablemente carcinogénicos(12).

Los criterios de causalidad pueden ser analizados de la siguiente forma:

a) intensidad: La exposición a VPH de alto riesgo es mínimo 15 veces mayor en mujeres con cáncer de cérvix(9,13,14).

b) consistencia: La asociación se ha observado en países de alto y bajo riesgo y en mujeres de diferentes edades y culturas informándose virtualmente en todos los estudios (14-15).

c) especificidad: Más del 90% de los casos pueden atribuirse a VPH de alto riesgo(10), además no existen hipótesis biológicas alternas para explicar su etiología(16);

d) secuencia temporal: Ante la evidencia inicial de la asociación con VPH, el siguiente paso fue demostrar que la infección precedía a la neoplasia usando estudios de cohortes(16,17);

e) gradiente biológico: Los niveles elevados de material genético del VPH16 tienen alto valor predictivo en la progresión de la enfermedad. Existe una curva dosis-respuesta que muestra que sólo la exposición persistente a la infección puede producir carcinogénesis (18,19)

f) verosimilitud: El potencial oncogénico de los VPH de alto riesgo ha sido demostrado tanto in vitro como en animales (10,16) y en estudios de cohortes que buscan establecer la historia natural de la enfermedad(17);

g) coherencia: Las mujeres con actividad sexual de inicio reciente y negativas al VPH que luego adquieren una infección por VPH16 desarrollan posteriormente neoplasia cervical(17,20,21).

h) experimento: La investigación de vacunas contra el VPH ha demostrado que el control de esta infección puede traducirse en el control del cáncer(22);

i) analogía: Más del 15% de neoplasias involucran agentes infecciosos que podrían inducir carcinogénesis. Según las revisiones de Kuper(23) y Mueller(24) se deduce que la asociación entre el VPH y el cáncer de cuello uterino es análoga con las descritas para otros agentes y carcinomas.

Dentro del grupo de *cofactores directos* se encuentran el tabaquismo, la influencia hormonal, la infección por *Chlamydia trachomatis*, el tipo de HLA, la inmunosupresión y la susceptibilidad genética. Los carcinógenos del tabaco pueden encontrarse en el moco cervical de las mujeres fumadoras y, por tanto, el consumo de tabaco es una variable obligatoria en los estudios de causalidad(25, 26).

La asociación entre el uso de contraceptivos orales y el carcinoma cervical no es consistente(26-28) y pierde significación cuando se ajusta por la presencia de infección por VPH(12).

La *C. trachomatis* actuaría como cofactor del VPH considerándose de alto riesgo a sus tipos I, D y G (29,30).

La dieta y la actividad física no han mostrado asociación causal (31-33).

Los *cofactores indirectos* más frecuentemente estudiados son el inicio temprano de la actividad sexual, el número de compañeros sexuales, el tener un compañero sexual de alto riesgo, el antecedente de enfermedades sexualmente transmitidas y el antecedente de citología anormal(35).

La escolaridad muestra una asociación fuerte con el cáncer de cuello uterino en mujeres no escolarizadas hasta el punto de considerarse una forma para definir grupos de riesgo(36).

Actualmente es reconocido que el Cáncer Cervical es un raro resultado a largo plazo de una Infección persistente del Tracto Genital Inferior de por lo menos 15 tipos de HPV de Alto Riesgo, considerados hoy como “causa necesaria” para su desarrollo.

La infección persistente denota la presencia del mismo tipo específico de DNA de HPV en esas mujeres las que presentan mas posibilidad de desarrollar lesiones cervicales precancerosas.

Este conocimiento ha resultado en nuevas iniciativas de prevención y detección temprana de lesiones preinvasoras.

Los dos mayores avances para lograr el control del Cáncer Cervical incluye:

Prevención Primaria del Cáncer Cervical a través de la Vacunación contra HPV y el Screening de Lesiones precancerosas.

PREVENCION PRIMARIA

VACUNAS CONTRA HPV

Cerca del 80% de las mujeres adquirirán a lo largo de su vida por lo menos una infección por HPV de Alto Riesgo, lo cual sugiere la ubicuidad natural de la infección por HPV y refleja la facilidad de transmisión que tiene el Virus. (103).

La prevalencia específica por edad muestra un pico del 25% en menores de 25 años, lo cual sugiere que la infección es transmitida predominantemente a través de la vía sexual próximo a al inicio de relaciones sexuales. Por lo tanto la vacunación profiláctica como estrategia preventiva debería estar dirigida a mujeres antes del inicio de su actividad sexual, haciendo foco en adolescentes entre los 10 y 14 años. Están disponibles tres vacunas indicadas para varones y mujeres desde los 9 años para la prevención de Lesiones premalignas y Cáncer de Cérvix, vulva , vagina y ano causados por HPV de Alto riesgo, una Bivalente dirigida contra HPV 16 y 18, una Cuadrivalente contra HPV 16, 18, 6 y 11 y una Nonavalente que extiende su cobertura a los tipos 31, 33, 45, 52 y 58. Todas las vacunas son recombinantes compuestas de partículas Virus-like (VLPs) no infecciosas ya que no contienen DNA viral. Para mujeres y varones entre 9 y 14 años se indican 2 dosis (0.5ml día 0 y 2da entre 5-13 meses). Para mayores de 15 años y pacientes inmunocomprometidos independientemente de la edad se recomienda una tercera dosis (0.5ml día 0, 1 y 6 meses) (104)

OMS recientemente reporto que no existen problemas de seguridad con respecto a las vacunas. Hay evidencia de la alta efectividad en reducción de la prevalencia de HPV de alto riesgo y ocurrencia de verrugas ano genitales y lesiones de alto grado cervicales en mujeres jóvenes.(104)

PREVENCION SECUNDARIA

Screening y Detección.

Uno de los mayores avances en la prevención del cáncer ginecológico se ha centrado en la detección de las lesiones pre malignas del cérvix uterino y también en el diagnóstico de lesiones invasivas tempranas que presentan altas chances de curación. Hasta hace muy poco el Screening o cribado se centraba en encontrar células con cambios displásicos o ya de características invasivas. No obstante, la valoración de los resultados obtenidos en la aplicación de los primeros programas de cribado, los recientes descubrimientos etiopatogénicos referidos al HPV y la aparición de nuevas

técnicas diagnósticas, plantean numerosos interrogantes y perspectivas de futuro en la prevención del cáncer cervical.

Han pasado muchos años desde la aplicación de las primeras campañas de cribado de Cáncer de Cuello y aún quedan muchos interrogantes como si la citología exfoliativa por Papanicolaou es la mejor técnica diagnóstica aplicable en la actualidad, cada cuanto tiempo debe repetirse una citología de cribado, cuando debe discontinuarse, si los nuevos métodos de diagnóstico citológico como la Citología en medio líquido deben sustituir al clásico Papanicolaou, si los test de HPV van a desplazar al cribado citológico o en definitiva si cumple el cribado del cáncer de cérvix los criterios exigibles para cualquier técnica de cribado poblacional. El Cribado de cáncer de cuello uterino cumple con todos los requisitos para que su aplicación resulte coste-efectiva.

PRUEBAS DIAGNÓSTICAS

Citología convencional (Papanicolaou)

Es un test calificado como de rentabilidad sub óptima(37), puesto que la frecuencia de falsos negativos puede ascender hasta el 50% para las lesiones de SIL de bajo Grado y entre el 6 y el 45% para las de SIL de Alto Grado (7). Un tercio de los falsos es atribuible a una mala interpretación citológica, pero los otros dos tercios son una consecuencia directa de la obtención, proceso y calidad de la muestra(38). El meta análisis de Nanda de 2003(8) demuestra un amplio rango de sensibilidad de la citología entre el 30 y el 87%, contrastada con una alta especificidad (86-100%).

El desafío actual es disminuir la tasa de falsos negativos (8, 10).

El antiguo sistema de Bethesda incorporó unos calificadores sobre la adecuación de la muestra citológica para calificar si la muestra citológica que llega al laboratorio es adecuada para su evaluación. Se puede identificar un subgrupo de «muestras limitadas» con una tasa de falsos negativos superior al 80%. En sentido opuesto, en el subgrupo de «muestras correctas» la sensibilidad asciende por encima del 75%.

Resulta imprescindible una toma citológica con el instrumental adecuado (cepillo endocervical), así como una correcta fijación y transporte.

Otro aspecto a considerar es que de la rigurosidad de esta toma dependerá la sensibilidad del test.

La repetición periódica de la prueba citológica identifica eficazmente la mayoría de los falsos negativos surgidos en determinaciones anteriores compensando así las limitaciones de la prueba.

La citología Pap esta declinando sustancialmente en Países desarrollados en favor del Test de HPV, aunque en los países en vía de desarrollo donde prevalece la enfermedad no esta disponible ampliamente por falta de acceso a tecnología, cobertura de seguros de salud y pobre organización por lo que aun en estos lugares el Pap sigue siendo el caballo de batalla del Screening del Cáncer Cervical.

Colposcopia

Es un excelente método, en combinación con el diagnóstico citológico, para la identificación y localización de las lesiones y de gran utilidad posterior confirmación por biopsia colpoguiada. Requiere un aprendizaje importante, un tiempo de estudio prolongado. Aisladamente, tiene una tasa de falsos negativos inferior al 10% pero alcanza hasta un 90% de falsos positivos (muy baja especificidad) (7).

En combinación con la citología convencional mejora mucho la sensibilidad y especificidad que cada uno de estos estudios por separado.

Se intentaron otras tecnologías para mejorar los resultados de la Citología como Lectura computarizada de los frotis (PAPNET), micro espectroscopia y redes neurales. Es un método automatizado que selecciona los preparados citológicos sospechosos para la posterior revisión, en microscopía convencional, por un citólogo calificado (12). La sensibilidad del PAPNET para identificar lesiones de SIL-Alto Grado no es superior a la de la citología convencional (87,5 vs 94,6%) (13,14,15). Es un método extremadamente caro y con poca trascendencia clínico-terapéutica(15,16). Actualmente PAPNET no está comercializado y tiende al desuso.

También se intento con la Citología en medio líquido que permitía una homogeneización de la muestra para posterior extensión en monocapa celular, limpia de grumos y residuos, mejorando así la lectura microscópica. A su vez, esta técnica permite, opcionalmente, la detección de HPV sin necesidad de un nuevo proceso de muestreo. Múltiples trabajos originales describen el aumento de sensibilidad del diagnóstico citológico tras un proceso en medio líquido (17-19).

No obstante cabe destacar que la optimización del proceso citológico mejora la interpretación, pero no influye sobre la adecuación técnica y topográfica de la toma de la muestra (10).

Tipificación del virus del papiloma humano (HPV)

El descubrimiento del papel etiopatogénico del HPV en el cáncer cervical ha promovido muchos trabajos de investigación para la valoración de su eficacia como método

diagnóstico-pronóstico, incluso respecto a las lesiones precursoras (SIL). Es bien conocida la asociación entre cáncer de cérvix y los subtipos de HPV de «alto riesgo»; HPV16 (OR=138,1), HPV18 (OR=92,3) (105). Igualmente hay una correcta asociación estadística entre la presencia de estos subtipos de HPV y la severidad del SIL (20, 21). Por lo tanto identificar directamente la presencia del Virus se pensó como optimo.

El test de HPV tiene un excelente valor predictivo negativo de la determinación viral. Si no se demuestra virus la posibilidad de que se esconda una lesión de alto grado es prácticamente remota. En la práctica, las lesiones de ASCUS-SIL-B, donde la sensibilidad de la citología desciende drásticamente (y los estudios intra e interobservador denotan las máximas discordancias, con abundantes falsos negativos), la asociación de una determinación negativa de HPV podría prácticamente excluir la posibilidad de lesión histológica severa oculta. Con ello, este subgrupo de pacientes podría retornarse al programa de cribado evitando profundizar en el costoso protocolo diagnóstico (colposcopia, biopsia, etc.) y disminuyendo la tasa, no despreciable, de sobre tratamientos (107).

En el contexto de la declinación de infecciones por HPV después de la introducción de las vacunas desde hace una década, muchos sistemas de salud consideran un switch hacia el Screening Primario para HPV el cual es mucho mas sensible y con mayor Valor Predictivo negativo que el pap y además permite extender los intervalos de frecuencia del estudio (108,109)

Una combinación juiciosa de Vacunación y Screening para HPV muestra claramente un enorme potencial para eliminar el cáncer en un futuro previsible.

Factores pronósticos

La probabilidad de supervivencia de las mujeres con cáncer de cuello uterino depende del tipo de HPV, el subtipo histológico, el estadio clínico al diagnóstico, la profundidad de invasión tumoral, la presencia de invasión vascular, las metástasis a ganglios linfáticos, la edad y el esquema de tratamiento (39-44).

Las mujeres infectadas con HPV 18 tienen un pronóstico más pobre como consecuencia de mayor compromiso nodal y mayor profundidad de invasión del estroma(38). La baja tensión de oxígeno tumoral antes de iniciar el tratamiento puede inducir resistencia a la radiación(40)

La supervivencia es menor en pacientes con carcinomas indiferenciados y de células pequeñas y mixtas(42, 43).

Según el estudio de Alfsen (43), la mortalidad de las mujeres con cáncer de cuello uterino aumenta 1,8 veces después de los 35 años; su supervivencia a 5 años es del 76% en estadio I, 46% en estadio II, 19% en estadio III y 0% en estadio IV; además el autor encontró que la mortalidad aumenta dos veces si hay infiltración del cuerpo uterino, 2.2 veces si hay invasión vascular, 1.8 veces si hay hasta dos nódulos linfáticos positivos y 4.7 veces si son más.

Thoms (44) reportó una supervivencia de 66% a 26 meses en pacientes en estadio IB tratadas con radioterapia mientras que el 100% de las que fueron intervenidas quirúrgicamente seguían vivas. Wang(44) observó que al comparar con radioterapia, el tratamiento con quimioterapia disminuía en un 38% el riesgo de muerte de las pacientes con enfermedad recurrente.

En una revisión sistemática se concluyó que la quimio radiación aumentaba la supervivencia general (hazard ratio (HR)=0,71), la supervivencia libre de progresión (HR=0,61) y que disminuía la recurrencia local (HR=0,61) y distante (HR=0,57) con efectos más significativos en las mujeres tratadas en estadios iniciales de la enfermedad(46).

Estatificación FIGO

El cáncer cervical se disemina por extensión directa hacia el parametrio, vagina, útero y órganos adyacentes como vejiga y recto. Además se disemina a lo largo de los canalículos linfáticos hacia los ganglios regionales , obturadores, iliacos externos e internos , Iliacos comunes pudiendo ascender hacia los par aórticos. Puede dar origen a Metástasis a distancia en Pulmón, hígado y esqueleto como manifestación tardía de una diseminación hematógena.

Hasta ahora la estadificación FIGO esta basada principalmente en el examen clínico, con la adición de ciertos procedimientos que ha permitido el Comité de Ginecología Oncológica de la Federación, como Imágenes y hallazgos patológicos cuando están disponibles, los que permiten asignar una Estadio determinado, han sido publicados como la Nueva Clasificación revisada de FIGO 2018 , presentada en el XXII Congreso Mundial de Ginecología y Obstetricia (110).

TABLA 3. Carcinoma del cuello uterino^a, Estadificación FIGO. *Adaptado del FIGO Committee on Gynecologic Oncology (47, 48).*

Estadio	
I	El carcinoma está estrictamente limitado al cuello uterino (no se debe tener en cuenta la extensión al cuerpo).
IA	Carcinoma invasor, que se puede diagnosticar sólo mediante microscopía con invasión muy profunda ≤ 5 mm y mayor extensión de ≥ 7 mm.
IA1	Invasión estromal de ≤ 3 mm de profundidad y extensión de ≤ 7 mm.
IA2	Invasión estromal de >3 mm y no >5 mm con extensión que no es >7 mm.
IB	Lesiones con Invasión estromal >5 mm o con extensión que >7 mm.
IB1	Lesión ≤ 2 cm en su dimensión mayor.
IB2	Lesión de 2 a 4 cm en su dimensión mayor.
IB3	Lesión >4 cm
II	El carcinoma invade más allá del útero, pero no la pared pélvica ni el tercio inferior de la vagina.
IIA	Invasión hasta los 2/3 superiores de la vagina. Sin invasión parametrial.
IIA1	Lesión ≤ 4 cm en su dimensión mayor.
IIA2	Lesión >4 cm en su dimensión mayor.
IIB	Con invasión paramétrica sin llegar a pared pélvica.
III	El tumor se extiende a la pared pélvica o compromete el tercio inferior de la vagina, o causa hidronefrosis o disfunción renal y/o involucra Ganglios pélvicos y/o paraorticos.
IIIA	El tumor compromete el tercio inferior de la vagina sin extensión hasta la pared pélvica.
IIIB	Extensión hasta la pared pélvica o hidronefrosis o disfunción renal.
IIIC	IIIC1: Metástasis en ganglios pélvicos IIIC2: Metástasis en ganglios paraorticos
IV	El carcinoma se diseminó más allá de la pelvis misma o comprometió (probado mediante biopsia) la mucosa de la vejiga o recto. Un edema de Bullar, como tal, no es suficiente para clasificar en estadio IV.
IVA	Diseminación del crecimiento hasta los órganos adyacentes.
IVB	Diseminación hasta los órganos distantes.

Clasificación Histopatológica

Es condición que todos los cánceres sean confirmados por examen microscópico. Se clasifican como Carcinomas de Cérvix cuando su ocurrencia es primaria en el cérvix.

La Clasificación vigente es la Última de la OMS del 2014 en su apartado “Tumores de los Órganos Reproductivos Femeninos”(111).

TUMORES EPITELIALES (OMS 2014)

Tumor de células escamosas y sus precursores

- Carcinoma de células escamosas
 - Queratinizante
 - No queratinizante
 - Papilar
 - Basaloide
- Warty
- Verrugoso
- Escamo transicional
- Tipo linfopitelioma

Tumores glandulares y sus precursores

- Adenocarcinoma
- Adenocarcinoma endocervical, tipo usual
- Carcinoma mucinoso
- Tipo gástrico
- Tipo intestinal
- Tipo células en anillo de sello
- Carcinoma velloglandular
- Carcinoma endometroide
- Carcinoma de células claras
- Carcinoma seroso
- Carcinoma mesonéfrico
- Adenocarcinoma con carcinoma neuroendócrino

Otros tumores epiteliales

- Carcinoma adenoescamoso
- Carcinoma de células vidriadas
- Carcinoma adenoide basal
- Carcinoma adenoide quístico
- Carcinoma indiferenciado

Tumores neuroendocrinos

- Carcinoma neuroendócrino de alto grado
- Carcinoma neuroendócrino de células pequeñas
- Carcinoma neuroendócrino de células grandes

El Grado diferenciación Tumoral, si bien no modifica la Estadificación debe ser informado ya que puede influir en la decisión terapéutica.

- Gx: El grado no puede ser evaluado
- G1: Bien diferenciado
- G2: Moderadamente diferenciado
- G3: Pobremente Diferenciado o Indiferenciado.

TRATAMIENTO

Neoplasia Intraepitelial Cervical

Ante el diagnóstico de CIN I el manejo debería ser solo la observación ya que el 88% no progresaría a una Displasia mayor a (CIN II o III) (49), solo debería realizarse el seguimiento con Citología , Colposcopia y Test de Captura Hibrida(50,51). Si la lesión persiste por más de 2 años debido a su mayor posibilidad de progresión está indicado un procedimiento ablativo o escisional como podría ser mediante Asa de Leep o Bisturí frío (50).

Cuando la biopsia revela CIN II y III la escisión de la lesión está indicada ya que el Riesgo de progresión a una enfermedad invasiva es mucho más alto que en lesiones de bajo grado, 5% estimado para CIN II y 12-31% para CIN III(8, 52). En mujeres menores de 21 años la tasa de regresión de lesiones de Alto grado es mayor, alcanza el 60%(51, 53). En adolescentes ante el diagnostico de CIN II, se indica P16 y/o Ki 67 para estimar posibilidad de progresión ya que ante la positividad de estos marcadores

se supone mayor agresividad y por el contrario su negatividad o baja expresión del Ki 67, se puede tomar una conducta mas expectante.

Cáncer Temprano de Cuello Uterino (Estadios Ia₁, Ia₂, Ib₁, Ib₂ IIa₁)

Estadio Ia₁

Ha sido ampliamente tratado con resultados satisfactorios y seguros con Cono cervical en casos de deseo de descendencia y estricto control de seguimiento o Histerectomía extrafascial en quienes no deseen descendencia. Los márgenes juegan un rol trascendental los cuales deben ser negativos para asegurar que el tratamiento ha sido suficiente y reduciendo así el riesgo de recurrencia(54).

En el caso de presencia de Invasión vasculolinfática una histerectomía radical modificada o una traquelectomía radical puede considerarse ya que aumenta el riesgo de impacto ganglionar metastásico (55). Si bien no es Estándar hay varios estudios on going que plantean como linfadenectomía.

Estadio IA₂

En este Estadio hay un pequeño riesgo de Metástasis ganglionar por lo que debe realizarse una Linfadenectomía pélvica en el marco de una Histerectomía Radical tipo B (112,113). En casos de bajo Riesgo (sin invasión linfovascular) una histerectomía simple o traquelectomía mas linfadenectomía pélvica o ganglio centinela puede ser un tratamiento quirúrgico aceptable (114,115). En caso de deseo de fertilidad las opciones de tratamiento son : 1) Cono Cervical mas Linfadenectomía Laparoscópica o 2) Traquelectomía Radical abdominal, vaginal o Laparoscópica con Linfadenectomía pélvica (115,116).

Estadio Ib₁ – IIa₁

Tradicionalmente el tratamiento Estándar para estos estadios ha sido la Histerectomía Radical o Radioterapia. Dado que la tasa de respuesta y Sobrevida son equivalentes para ambos tratamientos(56,57) por lo que elección en general se hace en función de las reacciones adversas de cada terapéutica y de la preferencia del médico.

La alternativa a la Cirugía es la Radioterapia pélvica de haz externo combinada con dos o más aplicaciones de braquiterapia intracavitarias es un tratamiento apropiado en las lesiones en estadios IA₂ y IB₁. La braquiterapia con alta tasa de dosis (ATD), con iridio (192) es preferida porque elimina la exposición del personal médico a la radiación, acorta

el tratamiento, otorga mas comodidad para el paciente y manejo para pacientes ambulatorios con resultados comparables con la braquiterapia de Baja Tasa en cuanto al control regional local y las tasas de complicaciones(58-60,61,62).

Luego del Tratamiento quirúrgico si la paciente presenta Alto Riesgo de Recurrencia como en caso de ganglios pélvicos positivos, márgenes quirúrgicos positivos y enfermedad del parametrio residual (Criterios de Peters) se indica Quimio Radioterapia Concurrente que consiste en Radioterapia pélvica total en el rango de 50 Gy administrada por 5 semanas más quimioterapia con cisplatino con o sin fluorouracilo (5-FU)(63,64). Asi el riesgo de mortalidad por cáncer del cuello uterino disminuye entre 30 y 50% mediante esta modalidad concurrente de quimiorradioterapia (63,74).

Después del tratamiento quirúrgico, en las pacientes a las que se les encuentra enfermedad ganglionar para aórtica con volumen tumoral pequeño y enfermedad pélvica controlable pueden ser curadas por medio de la radioterapia pélvica y para aórtica y quimioterapia concomitante(65,66). El tratamiento de pacientes con radioterapia y quimioterapia de campo extendido de los ganglios paraórticos no resecados conduce al control de la enfermedad por largo tiempo en aquellas pacientes con enfermedad ganglionar de bajo volumen (<2 cm) por debajo de Lumbar 3(66). Las pacientes con márgenes vaginales próximos (<0,5 cm) podrían beneficiarse también de la radioterapia pélvica(71).

Preservación de la fertilidad en Cáncer de Cuello en mujeres jóvenes:

Según publicaciones recientes, en los últimos años ha habido un aumento del 77% en la incidencia del cáncer cérvico-uterino invasor en mujeres jóvenes entre 25 y 34 años, los que en su mayoría corresponderían a tumores pequeños y estadios tempranos que podrían beneficiarse de tratamientos quirúrgicos conservadores de la fertilidad.

Estas circunstancias determinan un número creciente de mujeres en edad reproductiva con deseo de descendencia futura que tendrán tumores pequeños y que podrían beneficiarse de un tratamiento que conserve su fertilidad y ofrezca igual tasa de curación que los tratamientos radicales.

La traquelectomía radical abdominal o vaginal con linfadenectomía pélvica, es una opción relativamente nueva utilizada en mujeres con cáncer de cuello uterino en estadios iniciales que quieren preservar su fertilidad y consiste en extirpar el cuello uterino hasta istmo, parametrios, manguito vaginal más linfadenectomía pelviana, de

esta manera se abarcaría toda la zona de diseminación local de la neoplasia y se conserva el cuerpo uterino anastomosándolo a la vagina.

Los criterios de selección serían: Deseo de fertilidad futura, Estadios Ia1 con IVL, Ia2 y Ib1 menores de 2cm, ausencia de evidencia de metástasis a distancia por métodos de imágenes ni metástasis pelvianas ganglionares con RMN.

En conclusión, esta técnica ofrece la posibilidad de conservar la fertilidad con tasas de embarazos aceptables y con tasa de curación y recidiva equiparables a la cirugía radical.

En los últimos años se están publicando en la literatura internacional algunos reportes de procedimientos ultraconservadores en cáncer de cuello pero que aun están bajo protocolos estrictos de investigación como son quimioterapia neoadyuvante seguido de cono cervical en los cuales a todas las pacientes se le realiza linfadenectomía pelviana laparoscópica y como condición no debe haber metástasis ganglionares y el cono debe ser suficiente, es decir pasar por límites quirúrgicos libres de lesión, hay 8 embarazos reportados con esta técnica (118,119).

En la misma Línea Rob publica una serie de otra técnica ultraconservadora en la que realiza linfadenectomía laparoscópica con identificación de ganglio centinela seguida de un cono amplio o traquelectomía simple si los ganglios fueron negativos, con esta técnica reportaron un nivel de seguridad oncológica y 8 nacidos vivos.(120).

Estadios Localmente Avanzados (E IB3 Ila2 III, Iva)

El tamaño del tumor primario y la extensión hacia parametrios o vagina es un importante factor de pronóstico y debe ser evaluado cuidadosamente al escoger la terapia óptima. Cinco ensayos clínicos aleatorizados en fase III, han mostrado que existe una ventaja en cuanto a la Supervivencia Global cuando se emplea una terapia a base de cisplatino administrada conjuntamente con radioterapia(63,64,72,74,75).

El riesgo de mortalidad por cáncer del cuello uterino disminuyó entre 30 y 50% mediante el uso concurrente de quimiorradioterapia(63,64, 72-75).

En las pacientes a las que se les encuentra enfermedad ganglionar para aórtica con volumen tumoral pequeño y enfermedad pélvica controlable pueden ser curadas por medio de la radioterapia pélvica y para aórtica y quimioterapia concomitante(65). El tratamiento de pacientes con radioterapia y quimioterapia de campo extendido de los ganglios paraaórticos no resecaados conduce al control de la enfermedad por largo tiempo en aquellas pacientes con enfermedad ganglionar de bajo volumen (<2 cm) por debajo

de L3. Los pacientes con márgenes vaginales próximos (<0,5 cm) podrían beneficiarse también de la radioterapia pélvica(71).

Rol del Her1 en Cáncer de Cuello Uterino

El mecanismo de agresividad tumoral es usualmente dependiente de un estímulo de proliferación celular por varios promotores celulares , numerosos protooncogenes y oncogenes que regulan el desarrollo, diferenciación y muerte celular, los cuales han sido estudiados para identificar Targets moleculares terapéuticos que podrían utilizarse como predictores de Sobrevida en el manejo del Cáncer(121,122).

El tratamiento estándar con quimio radioterapia concurrente basado en platino muestra fallas en la respuesta entre 15-45% de Estadios IB₂– IIIb con una tasa de Sobrevida a 5 años de solamente el 66% (123).

Enormes esfuerzos se necesitan para mejorar la tasa de Sobrevida en pacientes con cáncer cervical avanzado.

Por lo tanto resulta de interés investigar nuevos blancos moleculares que pudieran aumentar la tasa de respuesta al tratamiento y por lo tanto incrementar la tasa de curación y pronóstico de estas pacientes.

El Virus del Papiloma Humano es reconocido como el principal agente etiológico del cáncer cervical, sin embargo la sobreexpresión del Receptor Epidermal Grow Factor (Factor de Crecimiento Epidérmico) o lo que es lo mismo el (Her1) es común y parece tener un rol oncogénico preponderante.

Los Trials de investigación clínica presentan resultados dispares y contradictorios acerca de si la sobreexpresión del Her1 es un factor predictor, la mayoría de los reportes muestran resultados adversos en la Sobrevida de pacientes con Cáncer Cervical (124). La expresión de EGRF se comporta como un biomarcador pronostico aunque aún no está definida claramente su utilidad clínica ni como medio para realizar terapias Anti Her en cáncer de cuello uterino.

El EGFR es un Receptor glicoproteína transmembrana de 170-kDa codificado por el Protoocogen ubicado en el Cromosoma 7p12.

La familia de receptores HER comprende cuatro receptores: HER-1 (EGFR), HER-2 (neu/erb B2), HER-3 y HER-4 con una estructura de tres dominios: uno extracelular de unión al ligando, uno transmembrana y un dominio intracelular con actividad tirosin quinasa.

Los receptores son inactivos como monómeros, pero la unión del ligando al dominio extracelular induce la formación de homodímeros y heterodímeros. Esto resulta en la fosforilación (activación) de la tirosin quinasa a través de la dimerización que consecuentemente pondrá en marcha una vía de señales compleja e interrelacionada. Estas vías de señales que se activan están implicadas en el control de muchos procesos celulares como la apoptosis, migración, crecimiento celular, adhesión, diferenciación, expresión génica y desarrollo celular.

El EGFR se presenta en muchos tejidos normales y en una amplia variedad de tumores sólidos incluyendo el cáncer de cuello uterino.

En mucosa cervical normal el EGFR se expresa en el citoplasma y la membrana de las células tanto dentro de la capa basal como células diferenciadas superficiales.

La expresión del EGFR está asociada con el Virus del Papiloma Humano (VPH) el cual incrementa su expresión intracitoplasmática incrementando el grado de neoplasia intraepitelial aunque no está relacionado con el tipo de HPV(75).

La proteína E5 de HPV 16 puede activar el EGFR a través de ligando a una subunidad de proteína bomba de ATPasa llevando a una disminución de la degradación de Receptores de EGFR incrementando así el reciclado de EGFR y sobre expresándolo (77-80).

La expresión de HPV E6 de Alto Riesgo también se lo ha visto relacionado a un incremento de los niveles de EGFR(81-83). Los cambios en los niveles funcionales de las proteínas E6/7 de HPV puede alterar la tasa de crecimiento de líneas celulares de cáncer cervical reduciendo la estabilidad de EGFR a nivel post-transcripcional(84). La inestabilidad genómica inducida por HPV ha sido hipotetizada a través de la mutación sufrida por el EGFR(85).

Sin embargo existen reportes de que las mutaciones de EGFR son poco comunes en Lesiones Cervicales de Alto Grado como así también en Carcinomas invasores(86,87), lo cual sugiere que proteínas de HPV de Alto Riesgo afectan a nivel proteico el EGFR y no a nivel genómico.

En cáncer de cuello uterino la expresión de EGFR varía entre el 6-90% dependiendo de la metodología de estudio utilizada. Su sobreexpresión está asociada a mal pronóstico en algunos estudios pero no en otros(76-79,81,83-88). La desregulación de EGFR causa oncogenicidad, pero los mecanismos biológicos exactos para promover el desarrollo celular no está completamente comprendido aun. Los roles de la coexpresión de Ligandos de Receptor [EGF, TGF α (factor de transformación de crecimiento) ,

amphiregulina], amplificación génica, descenso de los niveles de fosfatasa, heterodimerización y cross-talk entre otros miembros de la familia de receptores erbB y la interacción con la downregulation y otras vías de señales celulares y proteínas virales han sido implicadas en el proceso oncogénico y siguen siendo un objeto activo de investigación(89).

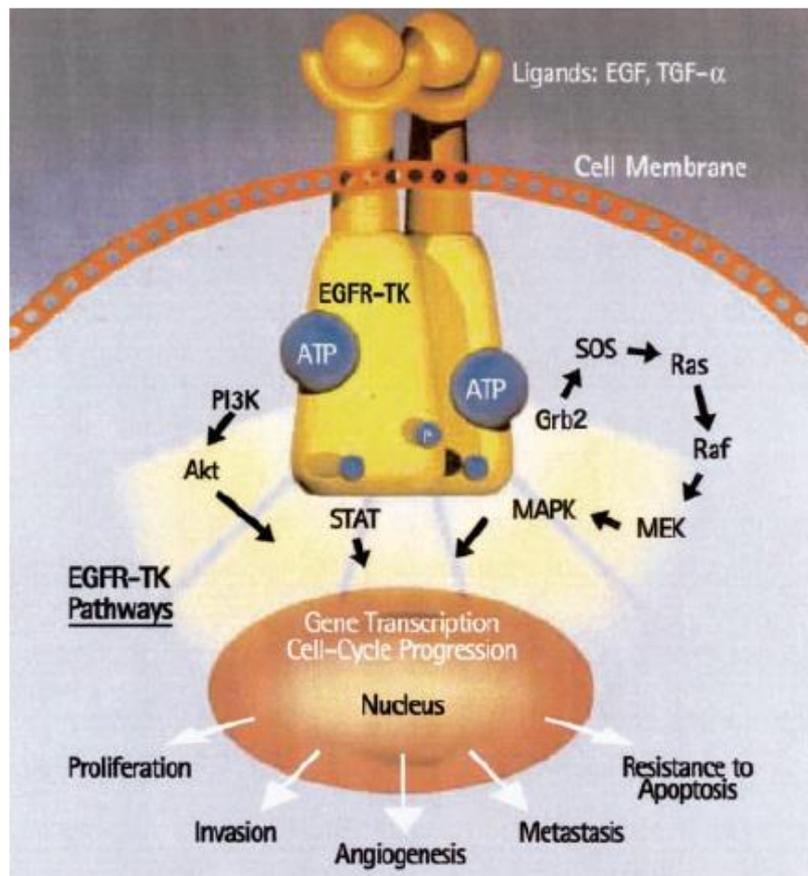


Figura 4: Vías Claves de Transducción de EGFR-TK activado

de Herbst et al, *Clinical Cáncer Research*, 2003. (125)

Grb2, growth factor receptor-bound protein 2; *SOS*, son of sevenless; *STAT*, signal transducer(s) and activator(s) of transcription; *MEK*, MAP/Erk (extracellular regulated kinase) kinase.

La unión HER1/EGFR se realiza a través de Ligandos específicos como el Factor de Crecimiento Epidérmico transformando el TGF- α (factor de crecimiento alfa) a través de dimerización y transfosforilación. HER1/EGFR fosforilados contienen dímeros que estimulan una cascada de señales conduciendo a efectos celulares como la

proliferación celular, capacidad de invadir, angiogénesis tumoral y el desarrollo de la capacidad para evitar la apoptosis.

Actuales usos de la Inhibición de EGFR en cáncer.

Los efectos oncogénicos relacionados con la alteración de la fisiología del EGFR han convertido al sistema EGF/EGFR en un blanco muy atractivo y prometedor para la intervención inmunoterapéutica basada en agentes antagonistas específicos del oncogén.

Los inhibidores de EGFR han tenido probada eficacia en algunos Ensayos Clínicos en pacientes con Cáncer de Pulmón, Colon, Páncreas y de Cabeza y Cuello, pero no hay prácticamente publicaciones sobre su uso en Cáncer de cuello uterino(90-93).

Los tratamientos dirigidos antidiaria que bloquean la señalización HER pueden seguir dos Vías Diferentes farmacológicas targets Her1:

1. **Anticuerpos monoclonales anti EGFR** (contra el dominio extracelular): Panitumumab, Pertuzumab, Cetuximab, Nimotuzumab.
2. **Inhibidores específicos del Dominio Tirosin Kinasa** (capaces de bloquear la actividad enzimática del receptor): Erlotinib (Tarceva®), Gefitinib (Iressa®), Lapatinib (Tycerb®).

El Cetuximab está aprobado como agente simple o en combinación con Irinotecan para el tratamiento de Cáncer colorectal metastásico y como agente simple o en combinación con Radioterapia para el tratamiento de cánceres de Cabeza y Cuello(91-93).

Los resultados favorables sobre cánceres de cabeza y cuello sugerirían el uso de una estrategia similar para otros tumores epiteliales EGFR dependientes y tumores radiosensibles como el cáncer de cuello uterino.

Está claro en función de reportes de distintos ensayos clínicos que solamente un subgrupo de pacientes responde a la Inhibición de EGFR, aunque aún no hay un claro factor predictor de respuesta.

En cáncer de colon el *KRAS wild-type* es un predictivo de respuesta al Cetuximab o panitumumab (94-96). En contraste la mutación del KRAS en cáncer de páncreas no predice respuesta a erlotinib. En cáncer de pulmón la mutación de EGFR se asocia a

respuesta a Erlotinib(97). Esto ejemplifica la complejidad de la biología del EGFR el cual no es completamente entendido al presente.

Conclusiones

Las terapias para inhibir el crecimiento de tumores mediante el bloqueo del EGFR con agentes moleculares, representan una nueva oportunidad de éxito en el tratamiento a los pacientes con cáncer. Estas terapias parecen ser sustancialmente superiores a las modalidades convencionales empleadas hasta la fecha.

Algunos de estos agentes ya han comenzado a evaluarse en pacientes. Corresponderá ahora a la investigación preclínica, de conjunto con la evaluación derivada de los ensayos clínicos, la búsqueda y selección de marcadores apropiados que permitan predecir de forma temprana qué tipos de tumores resultarán más afectados con un tratamiento determinado, con vistas a incrementar los efectos beneficiosos en los pacientes, y al mismo tiempo evitar exposiciones innecesarias a terapias, muchas veces invasivas. La aplicación combinada de manera racional de estos agentes moleculares, con las llamadas terapias citotóxicas tradicionales, podría conducir a una etapa superior en el tratamiento del cáncer, en que por fin sea común observar remisiones tumorales o estabilizaciones de la enfermedad, así como emplear tratamientos prolongados de baja toxicidad y, a su vez, extender la supervivencia de los pacientes con una calidad de vida apropiada.

Las principales razones que convierten al EGFR en un blanco relevante para la terapia del cáncer:

1. El EGFR es una proteína TK relacionada con el proceso de señalización celular.
2. El EGFR es el producto de un Oncogén
3. El EGFR se expresa en muchos tipos de tumores en niveles relativamente muy superiores a los encontrados en tejidos normales.
4. La sobreexpresión de EGFR parece estar asociada con un mal pronóstico y con una mala evolución de a enfermedad en algunos tipos de tumores
5. Varios agentes inmunoterapicos específicos contra el REGF son capaces de inhibir su actividad, lo que lleva a importantes efectos antitumorales.

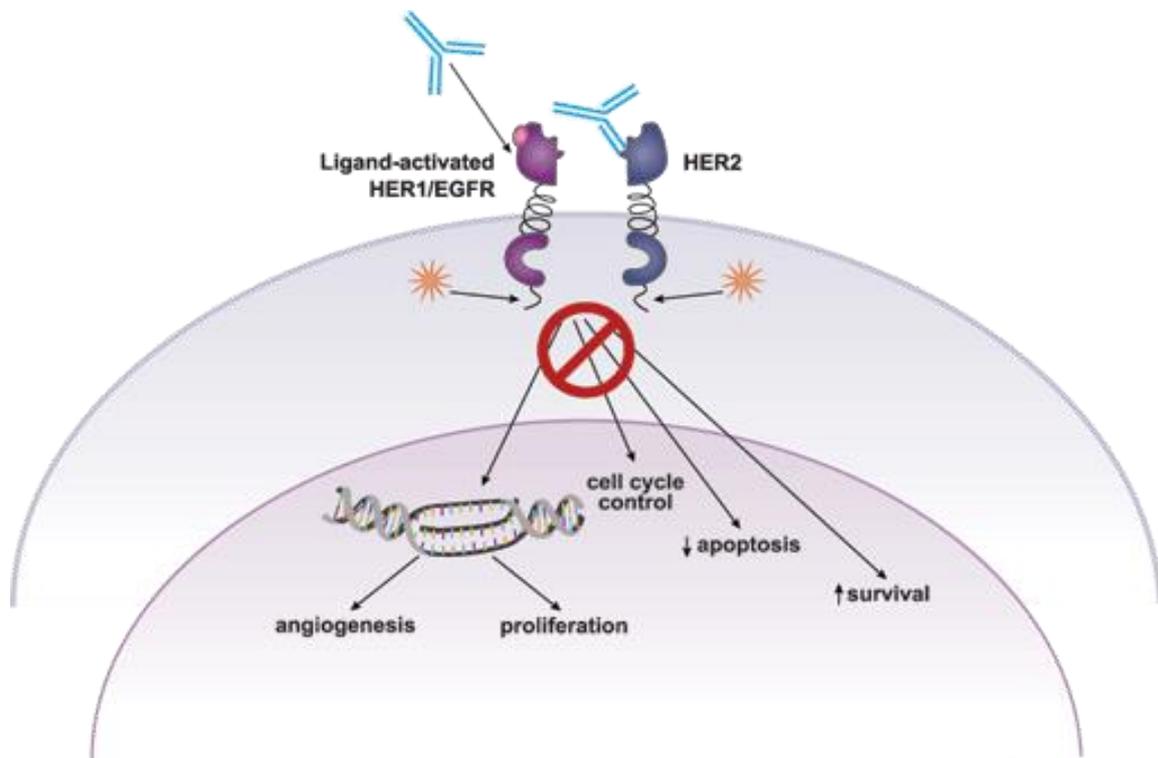


Figura 5: Terapias Targets HER1/EGFR. (sitios de unión Dominio-Ligando)

HER1 tiene un Dominio Ligando Extracelular y un Dominio Intracelular Tirosin Kinasa el que es activado para iniciar múltiples señales en cascada por lo tanto pueden ser atacados en varios sitios diana por diversas vías.

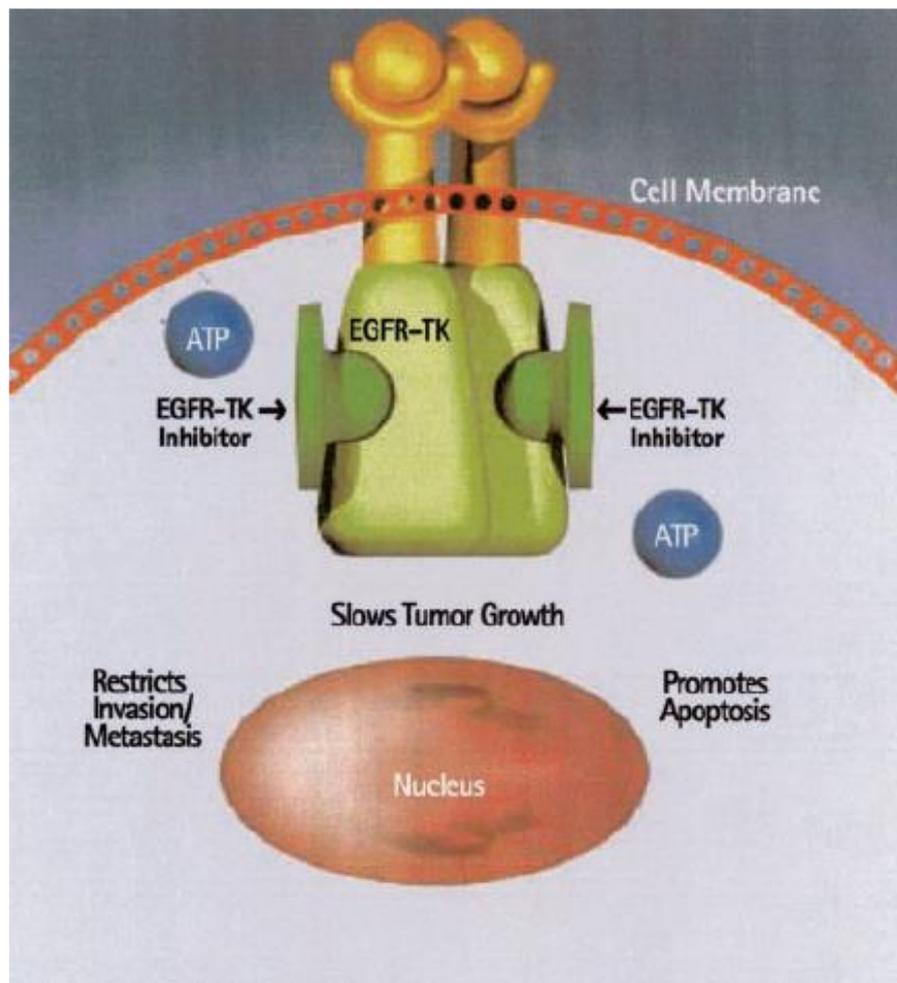


Figura 6: Mecanismo de acción de los Inhibidores de EGFR-TK bloqueando la transducción de señales de estímulo de proliferación tumoral. Extraído de Herbst et al, Clinical Cancer Research, 2003. (125)

Por otra parte, si se logra demostrar que la sobreexpresión del EGFR es un factor de Pronóstico adverso, podría integrarse en un futuro junto a otros Factores para la toma de decisiones terapéuticas como lo son los Factores de Sedlis (126) y Peters (75) para indicación de adyuvancia postoperatoria en Cánceres de cuello con pronósticos adversos adicionales.

OBJETIVOS

El objetivo de la Investigación consiste en conocer cual es el porcentaje de Sobreexpresión del Her 1 en la cohorte de estudio, evaluar y comparar la correlación existente entre la Sobreexpresión del mismo con una posible afectación de la Sobrevida Libre de enfermedad, su relación como Factor Predictor y Tiempo a la Recidiva, tanto Local como a Distancia como así también si existe alguna relación entre su sobreexpresión y la posibilidad de afectación de la Sobrevida Global.

Todas las variables de estudio, comparadas con el grado de sobreexpresión del oncogén manifestado a través de todas las posibles Intensidades de Tinción de 0+ a 3+.

También correlacionar la sobreexpresión del Her 1 con Factores histopronosticos considerados adversos y que influyen directamente sobre el periodo libre de enfermedad tanto como la Sobrevida Global.

Objetivo primario

Evaluar el porcentaje de Sobreexpresión del Her1 en la cohorte de estudio, el impacto de la sobreexpresión del Oncogén Her1 (EGFR epidermal growth factor receptor) y su correlación con la agresividad tumoral manifestada en la Sobrevida Libre de Enfermedad y Sobrevida Global.

Objetivos secundarios

- Evaluar la correlación de la Sobreexpresión de Her 1 con otros factores de Riesgo Histológicos como:
 - Tamaño Tumoral al diagnóstico,
 - Estadio Tumoral FIGO al momento diagnóstico,
 - Recuento Mitótico (Alto, Moderado o Bajo),
 - Grado de Diferenciación Tumoral (bien, moderadamente diferenciado o indiferenciado),
 - Presencia de Invasión Vasculolinfática,
 - Compromiso Parametrial
 - Compromiso Manguito Vaginal
 - Compromiso metastasico ganglionar
 - Metástasis a Distancia

MATERIAL Y METODOS

Diseño de Estudio: Se realizo un Estudio Retrospectivo de Cohorte.

Se extrajeron muestras de los tacos tumorales y los datos en forma retrospectiva de las Historia Clínicas de 30 pacientes atendidas en el Hospital Nacional de Clínicas y 9 del Sanatorio Allende del Centro con Cáncer Invasor de Cuello y que fueron sometidas a tratamiento quirúrgico con Histerectomía Radical de Wertheim Meiggs o Traquelectomia Radical Abdominal..

El material de estudio se obtuvo del Archivo de Tacos Tumorales del Servicio de Anatomía Patológica del HNC y Sanatorio Allende.

El procesamiento de los tacos tumorales de la sobreexpresión de Her1, se llevaron a cabo en el Laboratorio de Anatomía Patológica del Hospital Privado.

Muestras: Se utilizaron muestras de tejidos fijados en formol al 10% y embebidos en parafina y se realizaron cortes de las mismas de 4 – 5 micras. Para la recuperación antigénica de los cortes para Her1 se utilizo buffer citrato ph 6 marca dako.

Los cortes fueron incubados con anticuerpo primario a temperatura ambiente, durante 4 hs en Cámara Húmeda para Her1 , Clon H11 Marca Dako luego con anticuerpo secundario Isab (dako) durante 15 min y con reactivo terciario hrp por 15 min, entre cada uno de los pasos se realizaron lavados con buffer TBS. Por último se revelo la técnica con DAB (dako) durante 10 min. Luego se contra colorearon con hematoxilina y se montaron para la visualización en microscopio óptico.

EGFR interpretación de los resultados.

NEGATIVO: Se considera negativo a la ausencia total de la tinción en la membrana
SCORE 0

POSITIVO: Se define como positivo a cualquier tinción membranosa ya sea débil o incompleta

INTENSIDAD DE LA TINCIÓN:

SCORE 1+ 2+ 3+

Comentarios sobre el KIT EGFR pharm Dx

El ensayo EGFR pharm Dx™ es un kit inmunohistoquímico (IHQ) para identificar la expresión del receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) en tejidos normales y neoplásicos fijados de la forma habitual para su evaluación histológica. EGFR pharm Dx detecta específicamente la proteína EGFR (HER1) en células que expresan el EGFR.

Especificidad

Mouse monoclonal anti-human EGFR, clon 2-18C9 se proporciona como sobrenadante de cultivo de tejido hibridoma obtenido de un ratón inmunizado con EGFR inmunoprecipitado de la línea de células A431 (carcinoma de epidermoide humana). Los estudios de mapeo de epítomos indican que el anticuerpo reconoce un epítomo en la zona extracelular rica en cisteína del subdominio S2 de la molécula, y proximal al dominio transmembrana. Un mapeo más detallado de los aminoácidos críticos indica que el epítomo es conformacional y depende del puente de disulfido en la molécula nativa (165) . Se ha demostrado que este clon de anticuerpo monoclonal no tiene una reacción cruzada con HER2, HER3 ni HER4, ni con el vector tag, myc. La tinción citoplásmica es común. Sin embargo, la prueba debe repetirse si una tinción citoplásmica significativa dificulta la lectura de la tinción diagnóstica de la membrana y la interpretación de los resultados.

Principio del procedimiento

El kit EGFR pharm Dx IHC contiene reactivos necesarios para completar un procedimiento de tinción IHQ de muestras incluidas en parafina, fijadas de la forma habitual. Tras la incubación con el anticuerpo monoclonal primario anti-proteína EGFR humana, clon 2-18C9, este kit utiliza un reactivo de visualización listo para usar basado en la tecnología del dextrano. Este reactivo está compuesto por moléculas de anticuerpo secundario de cabra anti-ratón y moléculas de peroxidasa de rábano unidas a un esqueleto del polímero de dextrano común, eliminando así la necesidad de la aplicación secuencial de conjugado de peroxidasa y anticuerpo de enlace. La conversión enzimática del cromógeno añadido posteriormente produce la formación de un producto de la reacción visible en la zona del antígeno. La muestra puede contrateñirse y ponerse en un cubreobjetos. Los resultados se interpretan con un microscopio óptico. Se suministran portaobjetos de control que contienen dos líneas de

células humanas incluidas en parafina, fijadas en formol, con una valoración de la intensidad de tinción de 2+ y 0 para control de calidad de la eficacia del reactivo del kit. Las muestras de biopsia deben manipularse de forma que se conserve el tejido para su tinción IHQ. Deben utilizarse los métodos habituales de procesamiento del tejido para todas las muestras.

Cortes incluidos en parafina

Está indicado el uso de tejidos incluidos en parafina y procesados de la forma habitual. Las muestras de la biopsia deben colocarse en bloques de un espesor de 3 o 4 mm y fijarse durante el período correspondiente al fijado. A continuación, los tejidos son deshidratados y secados en una serie de alcoholes y xileno, seguido por infiltración mediante parafina fundida. La temperatura de la parafina no debe superar los 60 °C. Los bloques de tejido incluidos y fijados adecuadamente que expresen la proteína EGFR, se podrán mantener indefinidamente antes de cortarse y montarse en portaobjetos si se conservan en un lugar frío (15–25 °C).

Las muestras de tejido deben cortarse en secciones de 3–5 µm. Después de cortarlo, los tejidos deben montarse en portaobjetos y colocarse en rejillas de secado. Se recomiendan los siguientes portaobjetos: Portaobjetos SuperFrost Plus de Fisher, Silanized Slides de Dako (nº de catálogo S3003), cargados o recubiertos de poli-L-lisina. Las rejillas de portaobjetos deben sacudirse suavemente en una toalla absorbente para eliminar el agua atrapada debajo de la parafina y el cristal, después deben secarse a temperatura ambiente durante una hora, secándolos durante una hora más en un incubador a 50–60 °C. Cualquier resto de agua en los portaobjetos después de su eliminación con el incubador, debe eliminarse sacudiendo los portaobjetos en una toalla y secándolos durante una hora más en el incubador. Después de sacar los portaobjetos del incubador, deben mantenerse a temperatura ambiente hasta que se enfríen y la parafina se haya endurecido. Para conservar la antigenicidad, los cortes de tejido, montados en portaobjetos (SuperFrost Plus de Fisher, portaobjetos con poli-L-lisina, cargados o Silanized Slides de Dako (nº de catálogo S3003), deben teñirse dentro de un período de 2 meses tras ser cortados si se mantienen a temperatura ambiente (20–25°C) (166).

Los portaobjetos necesarios para la evaluación EGFR y verificación de presencia de tumores, deben prepararse al mismo tiempo.

Interpretación del procedimiento de tinción

La evaluación de los portaobjetos debe ser realizada por un patólogo, con un microscopio óptico. Todas las evaluaciones tienen que realizarse en la región del tumor de la muestra. Un objetivo de 10X o 20X aumentos es apropiado para evaluar la intensidad y la tinción inmunohistoquímica. Solo se utilizarán células intactas para interpretar los resultados de la tinción.

Cada kit de EGFR pharm Dx incluye líneas de células positivas y negativas, para validar los procesos de tinción cada vez que se realiza el ensayo. Una tinción adecuada de las líneas de células de control proporciona evidencia de que el ensayo EGFR pharm Dx funciona correctamente. Ninguna tinción de la membrana de la línea de células de control CAMA-1 (0), ni una tinción de color marrón moderada o incompleta de la membrana en la línea de células de control HT-29 (2+), indican que la tinción es válida. Si la intensidad de la tinción de la línea de células de control positivo es demasiado débil o demasiado fuerte, podría producir un resultado negativo falso o positivo falso y la prueba deberá repetirse. La Guía de interpretación de EGFR pharm Dx contiene imágenes de referencia.

EGFR pharm Dx tiñe principalmente las membranas celulares, demostrando una tinción circunferencial completa e incompleta.

Frecuentemente, el patrón de inmunotinción es heterogéneo, mostrando varias intensidades de tinción en una única neoplasia. También se ha observado tinción en el citoplasma y en los espacios extracelulares. La tinción citoplásmica es común. Sin embargo, la prueba debe repetirse si una tinción citoplásmica significativa dificulta la lectura de la tinción de la membrana y la interpretación de los resultados.

Los tumores deben comunicarse como positivos o negativos para el EGFR utilizando la tinción de la membrana como la estructura evaluable. Una célula tumoral es positiva para el EGFR si se produce la tinción de la membrana por encima del fondo, tanto si es completamente circunferencial como si no lo es. Un tumor que no presenta tinción de la membrana por encima del fondo en cualquier célula tumoral se comunica como un tumor negativo para el EGFR.

Según el período de la incubación y la potencia de la hematoxilina utilizada, la contratinción puede producir una coloración de los núcleos de las células que va de azul claro a azul oscuro. Una contratinción excesiva o incompleta puede comprometer la interpretación de los resultados.

Tabla 4: Resultados de la tinción con EGFR pharm Dx extraídas de Goldstein NS, Armin M. Epidermal growth factor receptor immunohistochemical reactivity in patients with Cancer Stage IV colon adenocarcinoma: implications for a standardized scoring system (165).

Informe al médico tratante	Definición	
Tumor negativo para EGFR	Ausencia de tinción de la membrana por encima del fondo en todas las células tumorales.	
Tumor positivo para EGFR	La tinción positiva para el EGFR se define como cualquier tinción IHQ de las membranas de las células tumorales, por encima del nivel del fondo, tanto si se trata de una tinción circunferencial completa como incompleta.	
	Intensidad de la tinción	Porcentaje de tinción de las células tumorales
	1+, 2+ o 3+	> 0%

Muestras de la visión Microscópica según la intensidad de Tinción de Membrana en las pacientes Estudiadas.

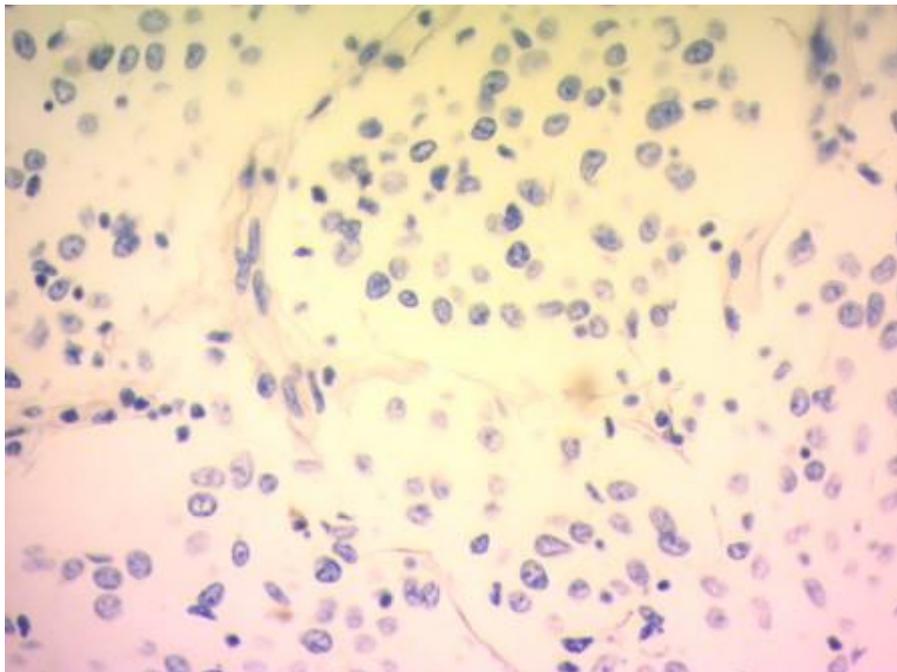


Figura 7: Inmunomarcación negativa (0+) obtenido de Paciente numero de Protocolo 14631 de Taco obtenido de Archivo de Tacos Tumorales del Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Nacional de Clínicas.

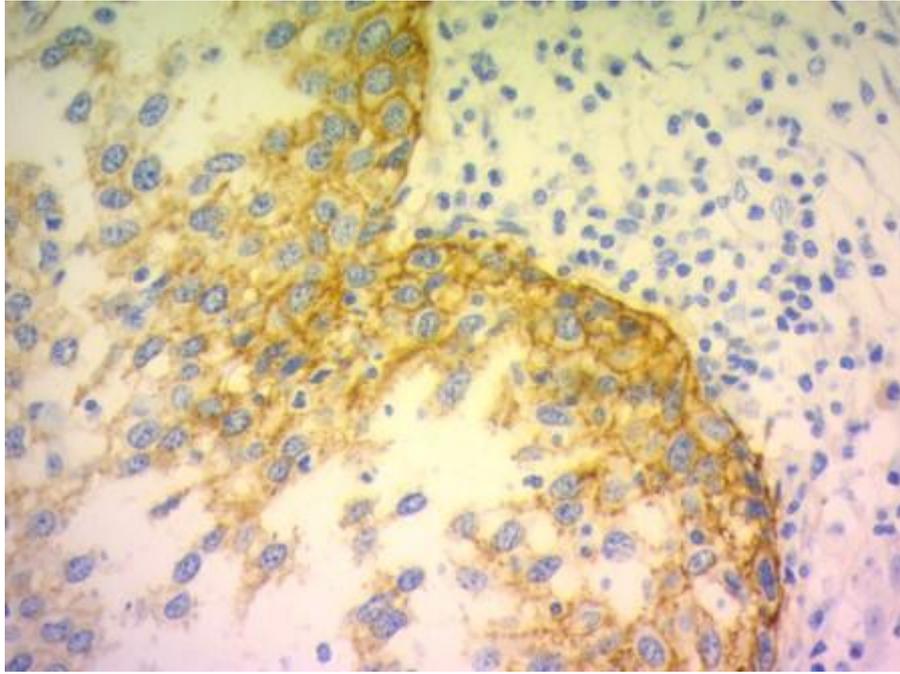


Figura 8: Inmunomarcación de membrana citoplasmática (1+) obtenido de Paciente numero de Protocolo 15987 de Taco obtenido de Archivo de Tacos Tumorales del Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Nacional de Clínicas.

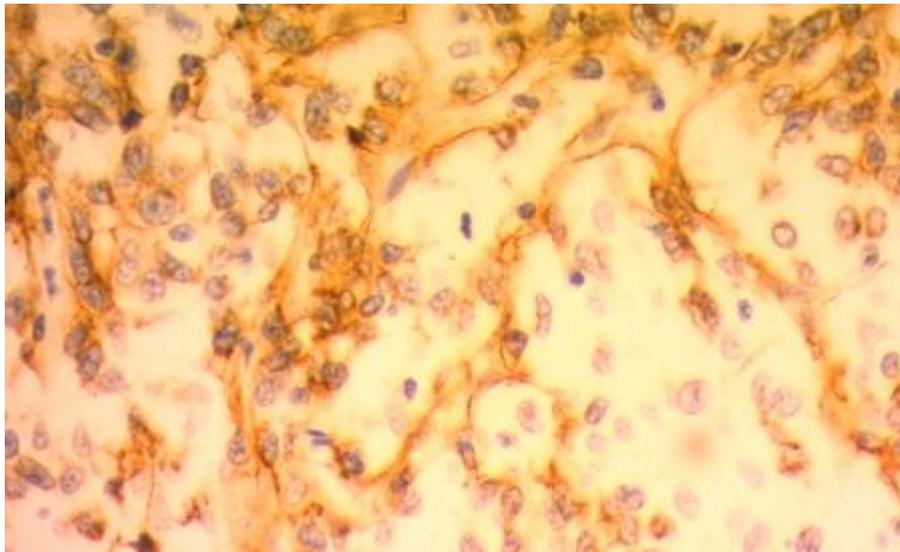


Figura 11: Inmunomarcación de membrana citoplasmática (2+) obtenido de Paciente numero de Protocolo 15521 de Taco obtenido de Archivo de Tacos Tumorales del Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Nacional de Clínicas.

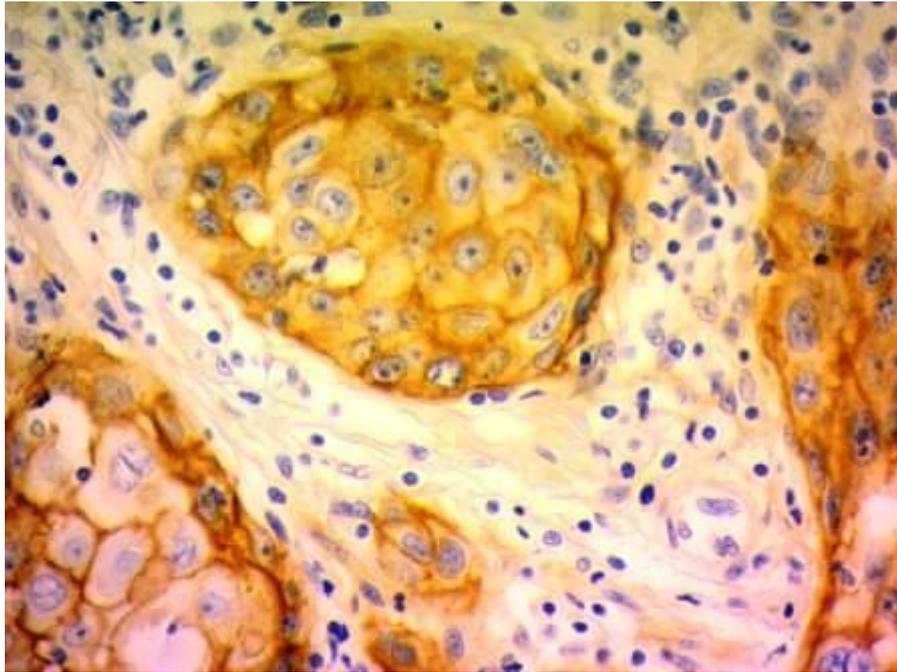


Figura 10: Inmunomarcación de membrana citoplasmática (3+) obtenido de Paciente numero de Protocolo 16101 de Taco obtenido de Archivo de Tacos Tumoraes del Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Nacional de Clínicas.

Criterios de Inclusión: Pacientes con Cáncer de Cuello Uterino a las que se les realizó Histerectomía Radical de Wertheim Meigss o Traquelectomía Abdominal Radical, atendidas en la 1^{era} Cátedra de Ginecología del HNC con Diagnóstico de Cáncer Invasor de Cuello y Servicio de Ginecología del Sanatorio Allende de la Ciudad de Córdoba.

Criterios de Exclusión: Pacientes que resultaron inoperables al momento diagnóstico. Pérdida de la paciente en el seguimiento.

SELECCIÓN DE LAS VARIABLES DE ESTUDIO:

Variables a estudiar de Pacientes Operadas:

Macroscopía

1. Tipo de Pieza Operatoria: se refiere a si es de Histerectomía Radical o Traquelectomía Abdominal Radical.
2. Tamaño Tumoral medido en centímetros.
3. Forma Macroscópica: Vegetante Ulcerado Infiltrante
4. Profundidad de Invasión medida en milímetros.
5. Parametrios: Libres Comprometidos
6. Manguitos Vaginales: Libres Comprometidos
7. Compromiso Mioendometrial
8. Ovarios libres de tumor o comprometidos
9. Ganglios: Número: Compromiso Metastásico:
10. TNM / pTNM

Microscopia

1. Tipo de Cáncer Epidermoide o Adenocarcinoma
2. Variante: Clásico o variedades especiales
3. Recuento Mitótico – Grado Nuclear (Bien , moderado o mal diferenciado)
4. Invasión Vasculolinfática
5. HPV: presencia o ausencia.
6. Sobreexpresión Her1

Variables de Seguimiento:

1. Tratamiento Adyuvante
2. Tiempo de Seguimiento
3. Tiempo Libre de Enfermedad
4. Recidiva: Variedad – Localización – Tratamiento –
5. Sobrevida Global

Estadísticas

Los datos fueron recolectados y llevados a una planilla de Excel, los mismos fueron protegidos para evitar errores de tipeo. Las variables numéricas fueron presentadas en medias \pm error estándar y las variables nominales en números y porcentajes. El análisis de las variables numéricas se realizó con el test de Student o Wilcoxon según correspondió y las variables nominales por medio del test de chi-cuadrado o Fisher según correspondió.

El Software utilizado para el procesamiento de los datos fue el SPSS de IBM.

Se realizaron regresiones simples y múltiples como así también regresiones logísticas.

El numero muestral en base al delta observador y con un error tipo I de 0.05 y Tipo II del 80% es de 39 pacientes con sus respectivos tacos muestrales.

Valores de p menores a 0.05 serán considerados estadísticamente significativos.

Ética

El presente trabajo adhiere a los principios éticos de Helsinsky y por las características del mismo no se toma consentimiento informado. Los datos obtenidos serán guardados en archivos con seguridad con el objetivo de salvaguardar la confidencialidad de las pacientes.

Resultados

Tabla 5. Estadísticas Descriptivas

Variables	Estadísticas
Edad	47 ± 13,1
Edad de Inicio de Relaciones Sexuales	17,6 ± 2,5
Embarazos	4,2 ± 2,4
Partos Normales	2,8 ± 2
Cesáreas	0,6 ± 0,8
Motivo de Consulta	
Genitorragia	78%
Control	22%

**Los valores numéricos son expresados en medias ± desvíos estándares
Los valores nominales en porcentajes**

Como se observa en la tabla 1, la edad promedio de la población de estudio esta en la perimenopausia con un promedio de 47 años con rangos que oscilan entre los 34 y los 60 años de edad.

El Inicio de Relaciones sexuales fue entre los 15.1 y los 20.1 años con un promedio de 17.6 años.

La mayoría de la población de estudio fue multigesta al momento diagnostico con un promedio de 4.2 embarazos con un rango entre 1.8 y 6.6 embarazos.

La mayoría tuvo Partos Normales con un promedio de 2.8 partos entre 0.8 y 4.8 como rango.

Mucho menor fue la población que concibió por Cesárea que fue de 0.6+/-0.8.

La gran mayoría de las pacientes consultaron por genitorragia, entre metrorragia (sangrado no relacionado al ciclo menstrual) y sinusorragias (sangrado postcoital).

Solo el 22% de la población de estudio fue diagnosticada en examen de rutina en Screening de oportunidad sin síntomas.

Tabla 6. Estadísticas Descriptivas

Variables	Estadísticas
Papanicolau	
II	18%
III	12%
IV	18%
V	52%
Colposcopia	
I	7%
II	13%
III	27%
IV	13%
V	40%
Estadio	
IB1	28.9%
IB2	42%
IB3	21%
IIA1	2.6%
IIB	5.2%

Hubo una discordancia entre la Citología por Papanicolau del 30% ya que estas presentaban una cáncer invasor y la citología resulto en Clase II en el 18% de los casos y clase III en el 12%.

Si hubo correlación entre la citología y el diagnostico histopatológico en el 70% de los casos , en los que la Citología fue informada clase IV en el 18% y Clase V en el 52% restante.

Como puede observarse el 73.5% del total de la muestra de pacientes eran operables inicialmente, un 21% resultaron tumores Bulkys, es decir mayores a 4cms, todos recibieron Quimioterapia Neoadyuvante y todos redujeron volumen por lo que pudieron ser operados y el 5.2% de las pacientes presentaban compromiso inicial dudoso de los parametrios y fueron confirmados en el Postoperatorio.

En cuanto a las cirugías que recibieron las pacientes , 10.2% fueron Traquelectomias Radicales abdominales como indicación de Conservación de la fertilidad y y el 89.8% recibieron Histerectomía Radical de Wertheim Meiggs.

El 28% de las pacientes tuvieron Ganglios Metastasicos, el 31% tuvieron Parametrios comprometidos en la Anatomía Patológica Postquirúrgica, el 21% tuvieron compromiso del Manguito Vaginal, y 50% tuvieron compromiso de la Mitad Externa del Miocervix, por lo que 52% de las pacientes recibió algún tipo de adyuvancia, Radioterapia externa mas braquiterapia o Quimio radioterapia concurrente mas Braquiterapia según correspondiese.

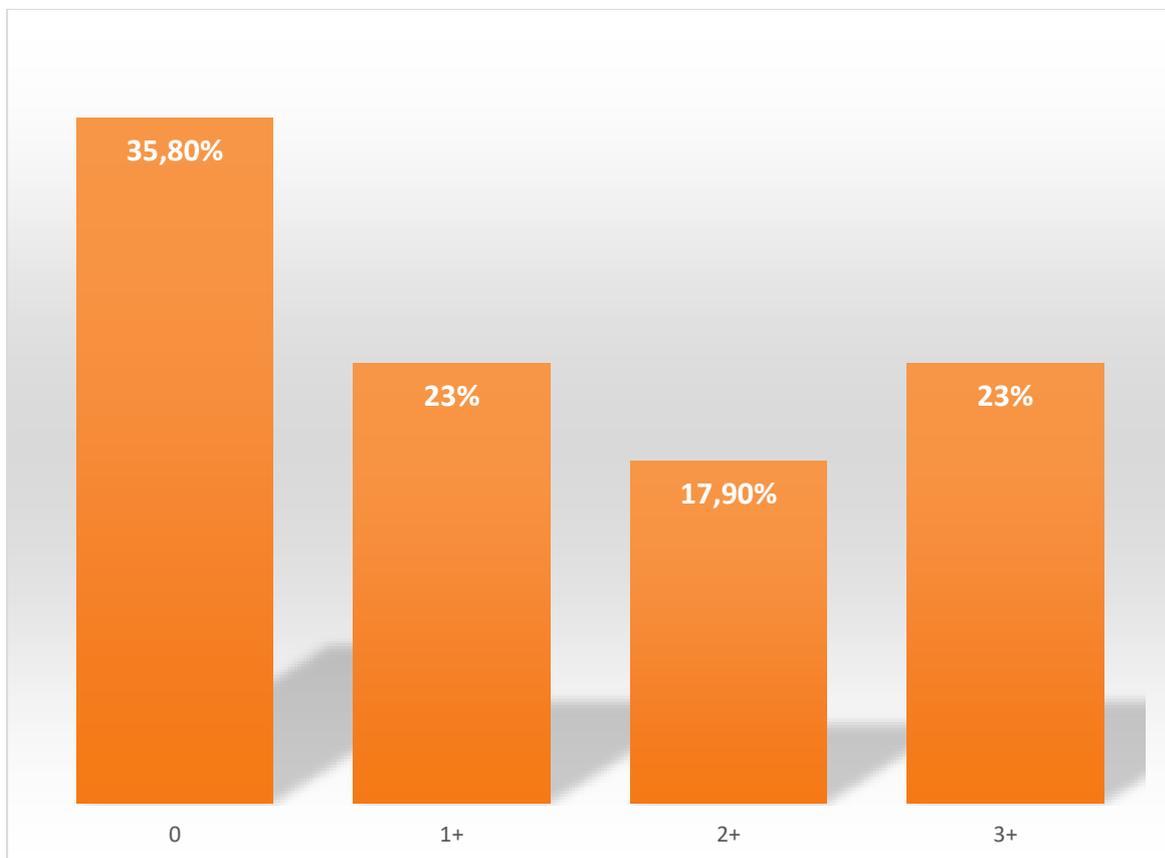


Figura 12 . Porcentaje de Expresión del Her 1

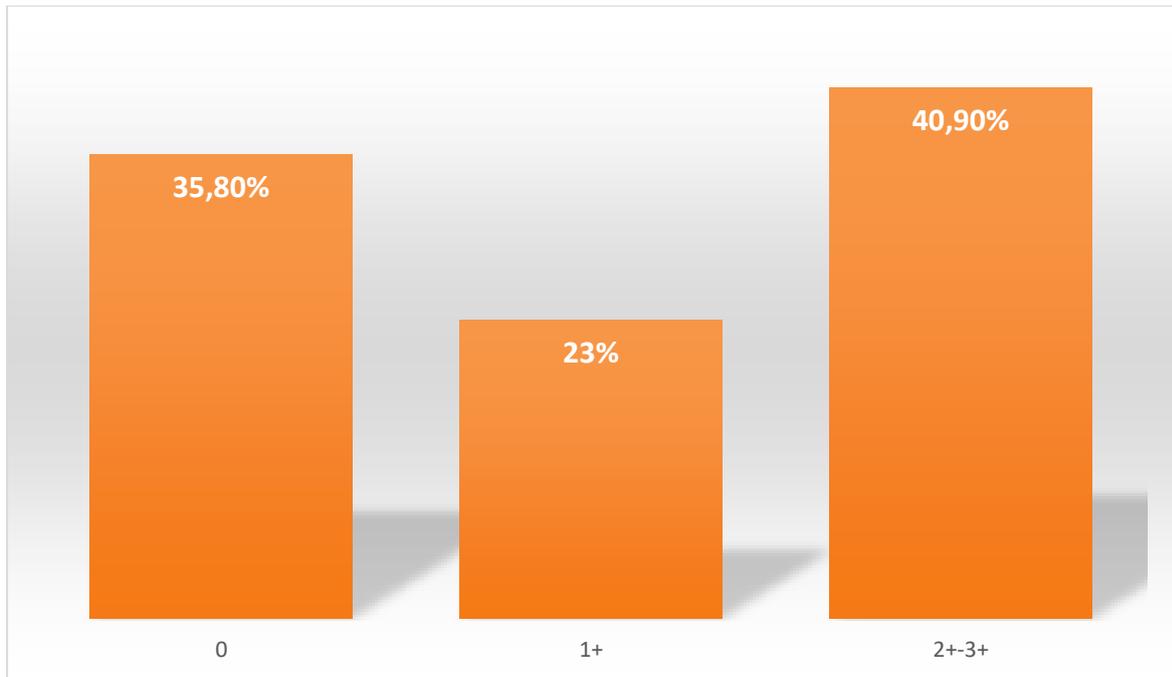


Figura 13 . Porcentaje de Expresión del Her 1 ++ y +++.

La gran mayoría de las pacientes estudiadas presentaron Carcinomas de tipo epidermoides constituyendo el 92.3 de la muestras, hubieron un 5.12% de pacientes con Adenocarcinomas y una paciente 2.56% presento un tumor mixto.

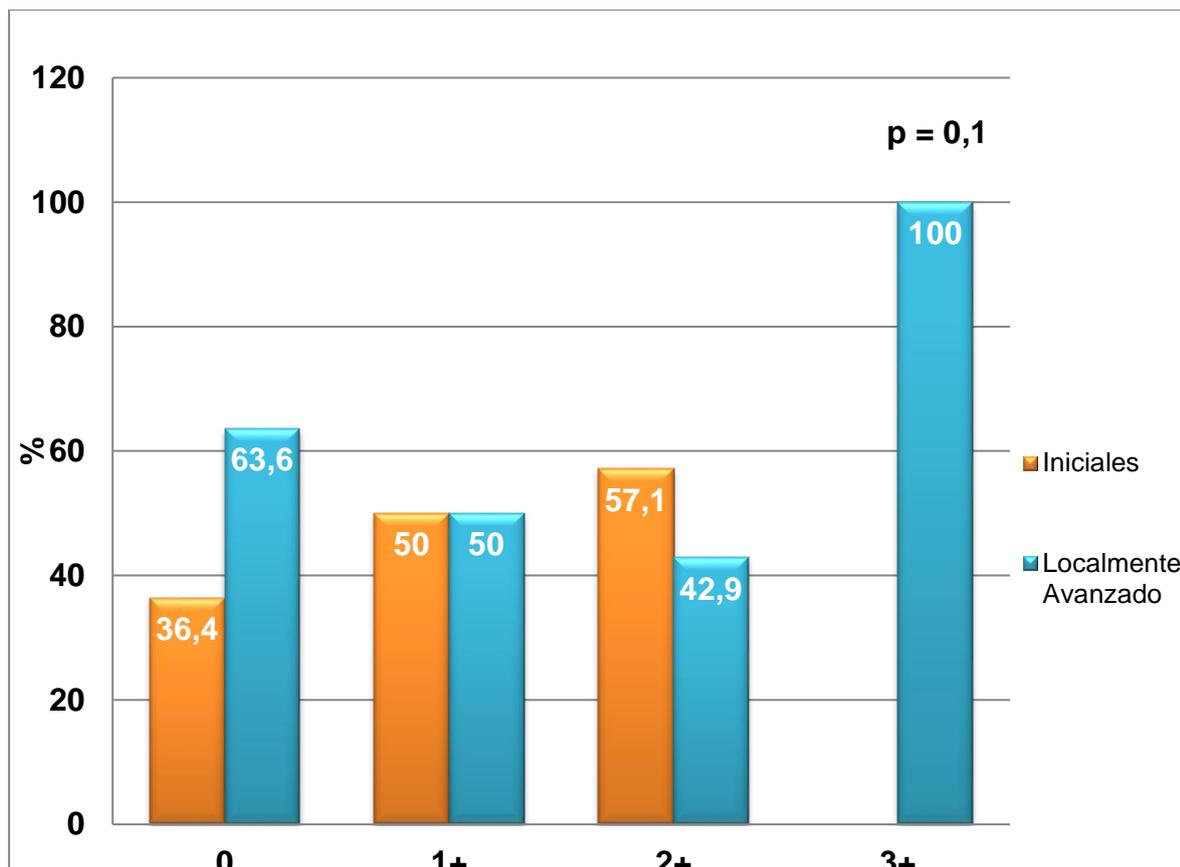


Figura 14. Expresión de Her1 según Estadío Tumoral al Diagnostico

Nota: Se consideran Estadíos Iniciales Tumores en Estadío Ia1 y a2 y Tumores Estadío Ib1 y Ib2, es decir hasta 4cms sin compromiso parametrial y localmente avanzados de Ib3 en adelante.

Como se observa en la Tabla , el primer análisis Univariable estudiado presento una correlación total y directa (100%) entre la Sobreexpresión del Her 1 Neu y las pacientes que se presentaban al momento diagnostico con tumores localmente avanzados según el Status de Estadío Postquirúrgico (pTNM). La sobreexpresión del oncogén con (3+) de intensidad de tinción mostro una fuerte asociación con la presentación de los tumores en Estadíos mas avanzados, mientras que no se observo tal relación en la presentación por Estadíos cuando la tinción fue 0 en la que resulto 36.4% en Tumores iniciales y 63.6% localmente avanzados, con tinción 1+ que se observo 50% por igual para ambas poblaciones y con tinción 2+ el 57.1% se presento como estadíos iniciales y por el contrario el 42.9% localmente avanzados.

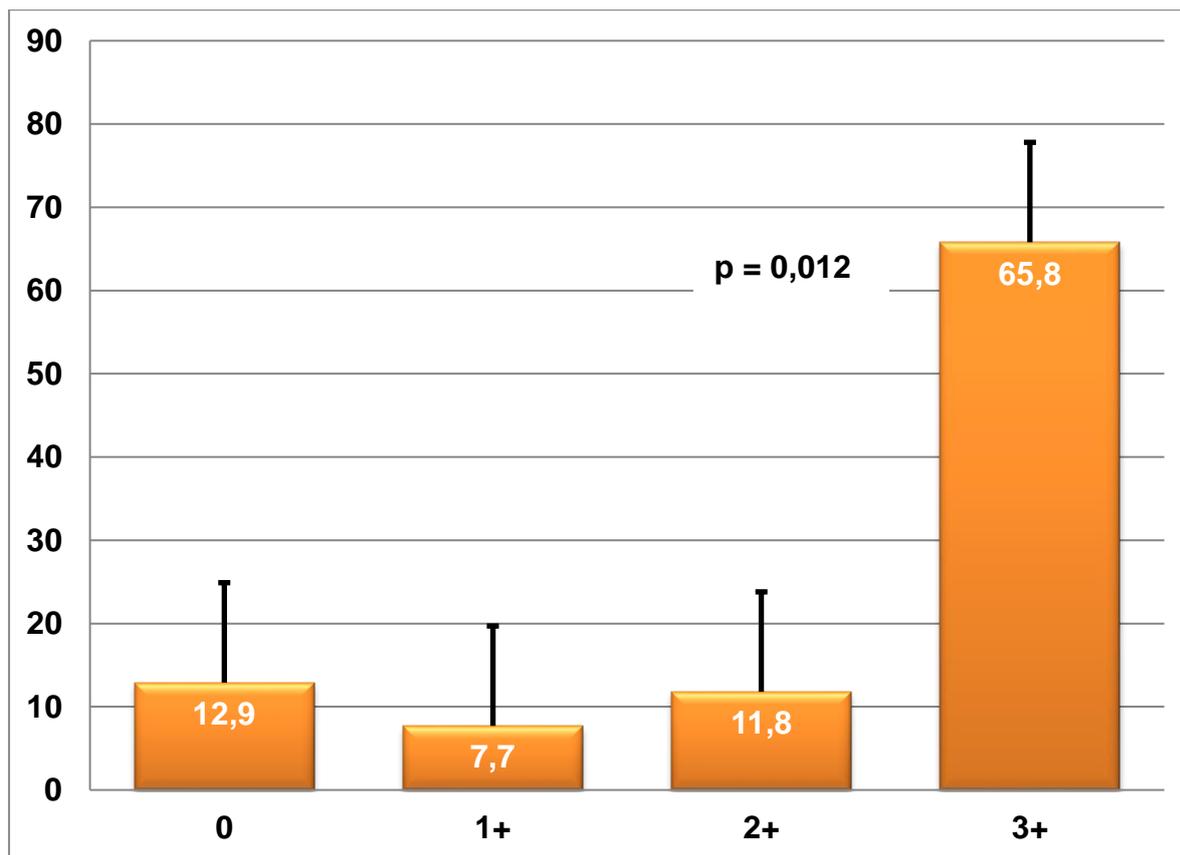


Figura 15. Expresión del Her 1 según Tamaño Tumoral

Hubo una correlación directa entre el tamaño tumoral al momento del diagnóstico con la sobreexpresión del Her1 y su intensidad de marcación. La mayor asociación entre tamaño tumoral y la Sobreexpresión fue con la intensidad de marcación con 3+ , a mayor tamaño tumoral mayor expresión como se observa en la columna de la derecha de la tabla que muestra que el 65.8% de los Tumores con 3+ mostraron un promedio de tamaño tumoral de 65mm, en cambio la Intensidad de marcación 2+ tuvo un 11.8% de la proporción con un promedio de 12mm de tamaño tumoral, 1+ el 7.7% con un promedio 8mm y con una marcación de 0+ un 12.9% con un promedio de 13mm de tamaño tumoral, siendo fuertemente significativa ($p=0.012$) la asociación entre mayor intensidad de marcación mayor tamaño tumoral a la presentación al momento del diagnóstico.

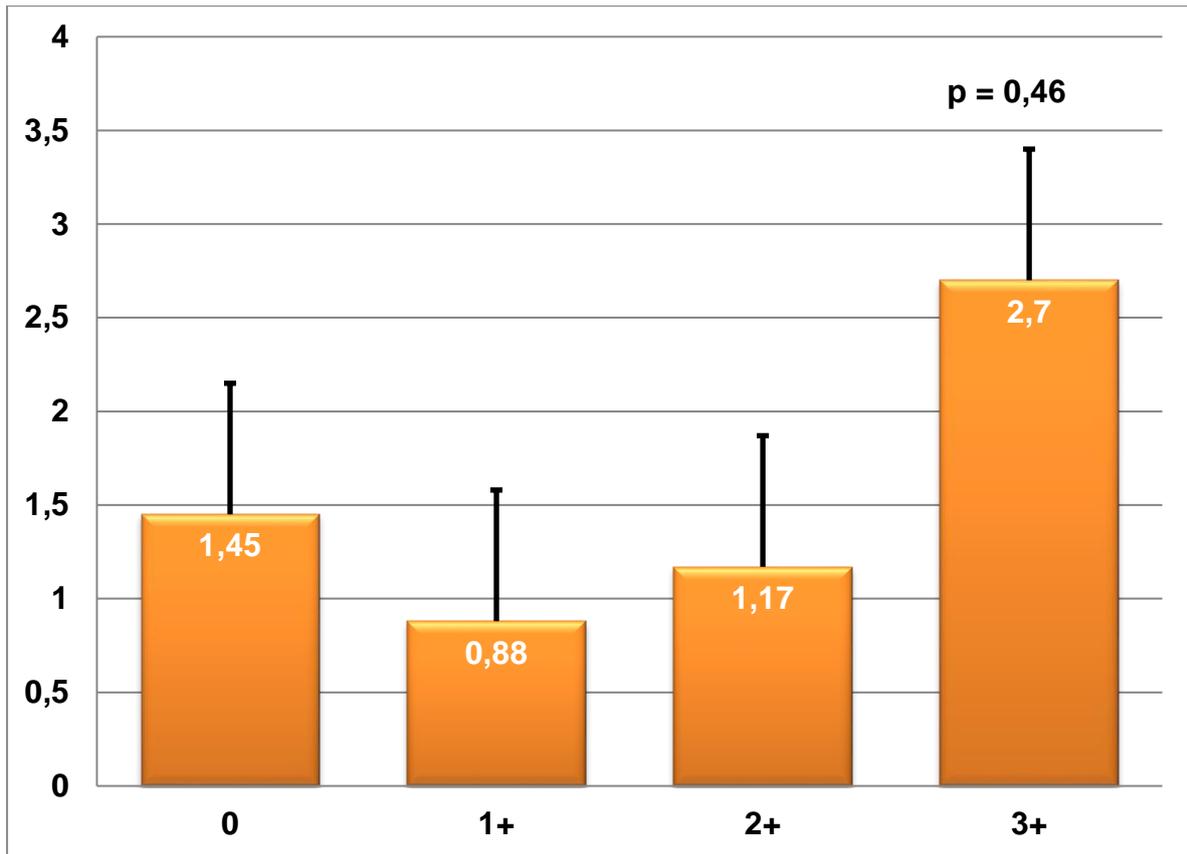


Figura 16 . Expresión del Her 1 según Profundidad de Invasión Tumoral en Miocervix

Si bien no hubo una diferencia estadísticamente significativa puede observarse la correlación directa que existe entre la Sobreexpresión con 3+ de intensidad del Her1 y la profundidad de invasión miocervical presentando este grupo 2.7cm en promedio muy alto en comparación con el grupo de tinción de 2+ que mostro un promedio de 1.17 , el de 1+ 0.88 y 1.45cm para la ausencia de expresión del Oncogén.

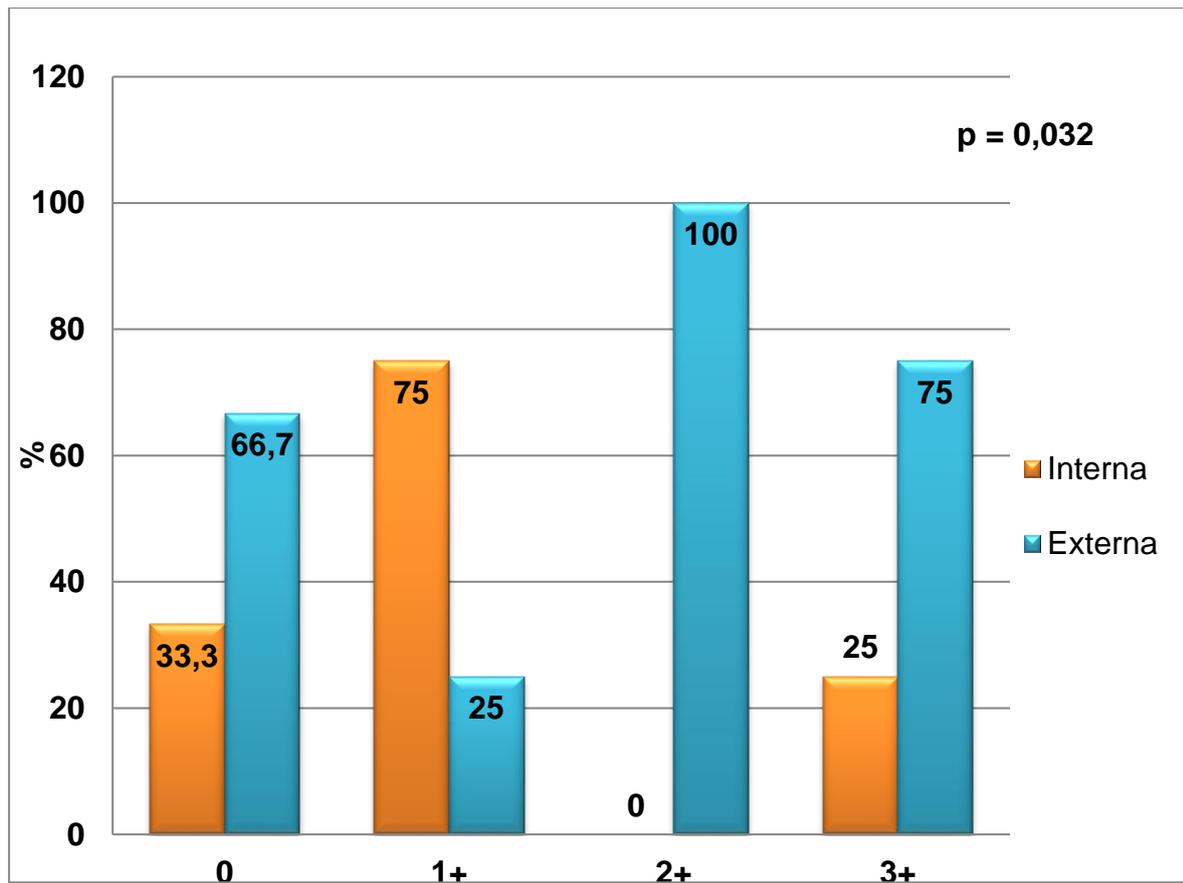


Figura 17 . Expresión del Her 1 según Compromiso Miocervical

De manera similar a la tabla anterior pero distinguiendo entre compromiso tumoral de mitad interna vs mitad externa del miocervix hay una clara diferencia significativa entre la sobreexpresión del oncogén y la capacidad de penetración del tumor en profundidad con una $p=0.032$ significativa a favor de la mayor intensidad de sobreexpresión del Her1. Así se puede observar que en tinción 3+ el 75% de la población estudiada invade mitad externa contra el 25% de mitad interna, con 2+ de tinción el 100% invadió la mitad externa miocervical, con 1+ se observa una relación inversa, 25% invasión externa y un 75% interna y en ausencia de tinción 66.7% externa y un 33.3% interna.

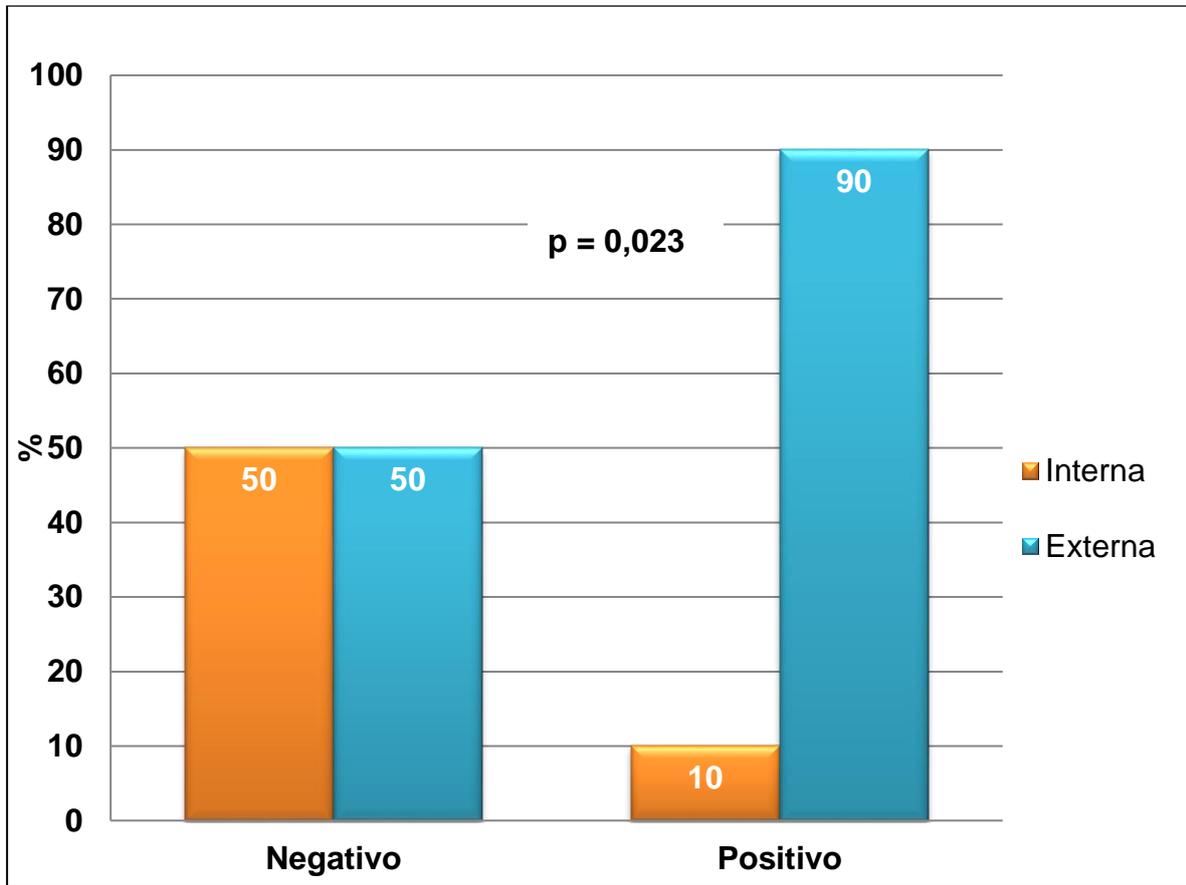


Figura 18 . Expresión del Her 1 según Compromiso Miocervical, expresado de manera Binaria.

Al analizar de manera binaria la relación existente entre cualquier grado de intensidad de tinción del Her1 vs tinción 0+ se observa una gran diferencia entre la invasión tumoral de la mitad externa del miocervix vs la mitad interna. Cuando se sobreexpresa el oncogén el 90% de los tumores invadieron externamente el miocervix y un 10% de estos solo invaden la mitad interna del mismo. ($p = 0.023$). Cuando el oncogén no se sobreexpresa la invasión de la mitad interna es del 50% con igual porcentaje para la externa.

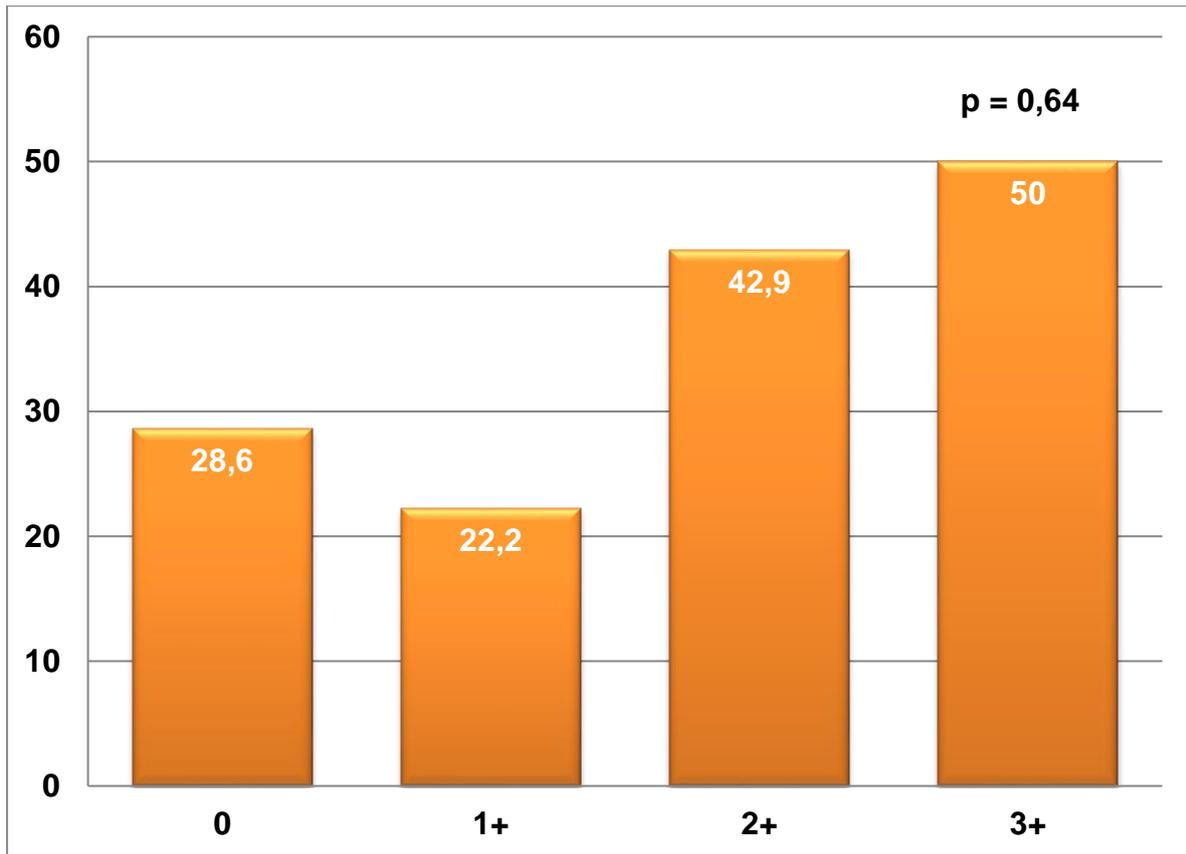


Figura 19 . Expresión del Her 1 según Compromiso de Parametrios

El compromiso parametrial tuvo una asociacion proporcional a mayor intensidad de tincion del oncogen, si bien no fue significativa estadisticamente la diferencia en la figura puede verse como a mayor intensidad de tincion , mayor porcentaje de compromiso parametrial existe, cuando fue 0+ el 28.6% de la poblacion de estudio tuvo parametrios comprometidos, con una 1+ 22.2%, con 2+ el 42.9% y con 3+ el 50%.

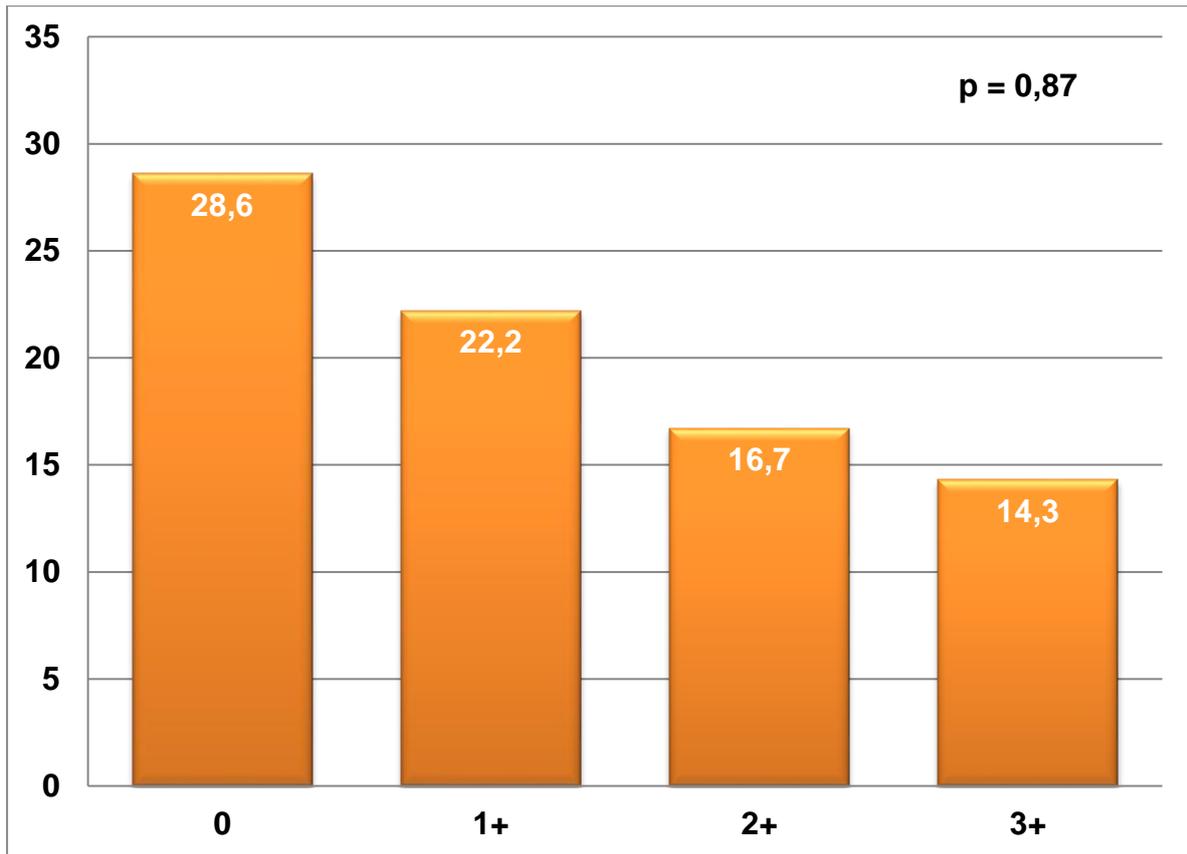


Figura 20. Expresión del Her 1 según Compromiso del Manguito Vaginal

El compromiso del manguito vaginal no se vio asociado con la sobreexpresión del Her1 y no mostro diferencia significativa entre la intensidad de tinción y la invasión vaginal.

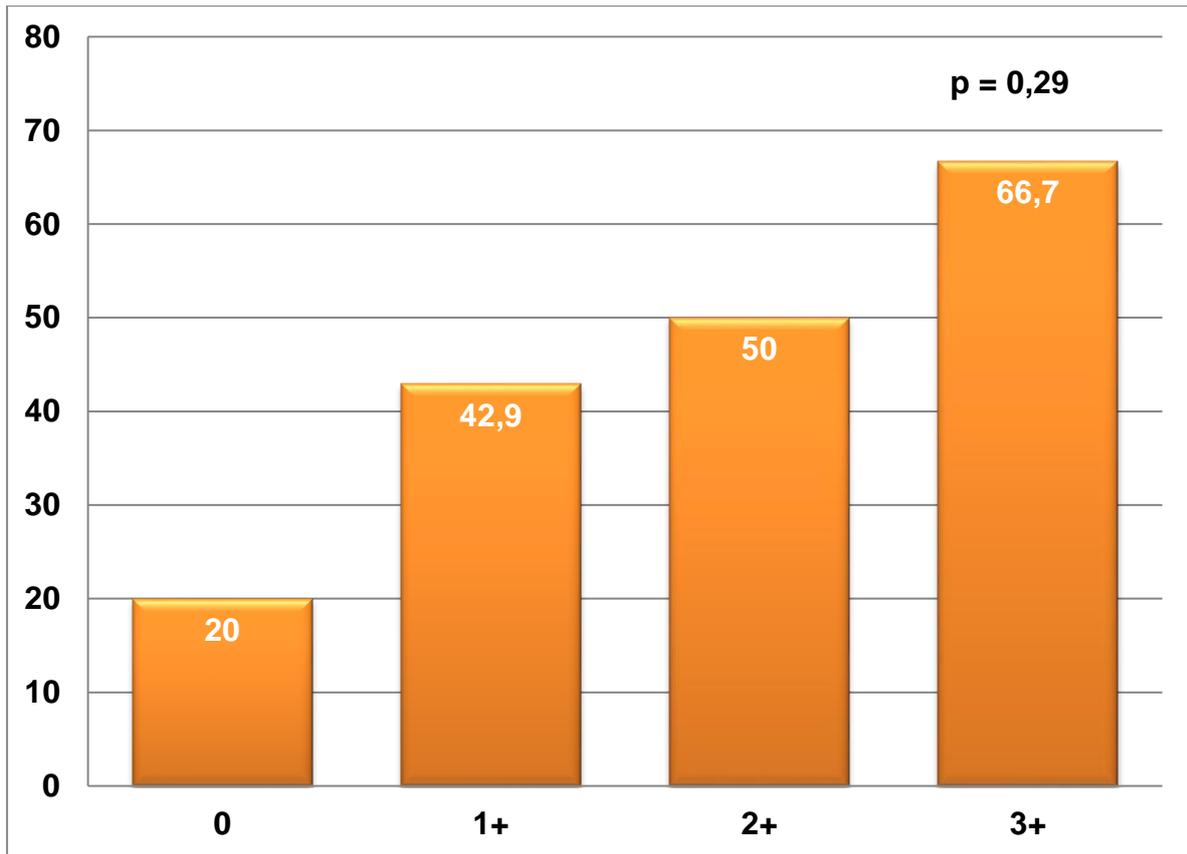


Figura 21. Expresión del Her 1 según Recuento Mitótico Alto

Hay una relación directa en la proporción de Tumores con Alto recuento mitótico y intensidad de marcación Sobreexpresión del Her1.

El 66.7% de la población con Tumores de Alto recuento mitótico presentaron 3+, en cambio un 50% de esta población tuvo 2+, un 42.9% 1+ y solo 20% marcación 0+.

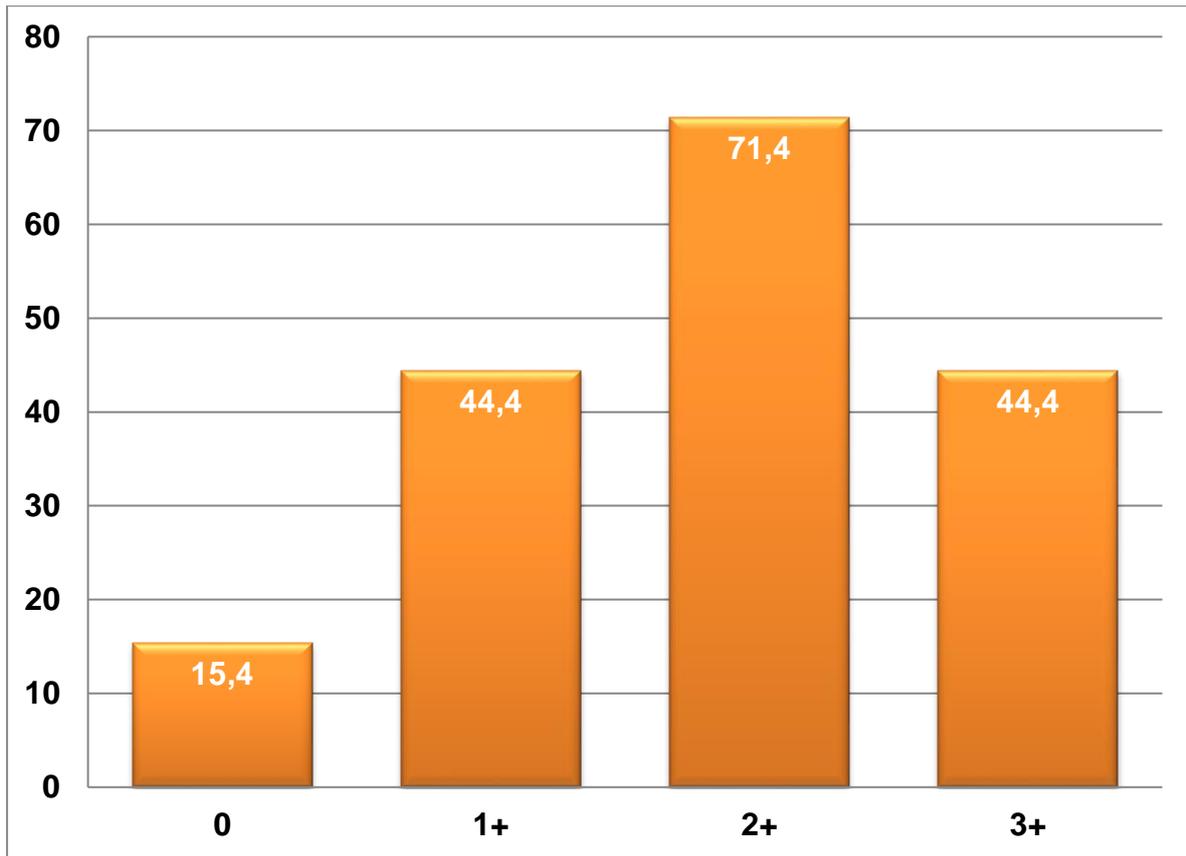


Figura 22 . Expresión del Her 1 según Alto Grado de Indiferenciación (G3)

Como se puede observar en la tabla hay una fuerte asociación entre Tumores Indiferenciados (G3) y la sobreexpresión del Her1, solo el 15.4% de los tumores que fueron negativos para el Oncogén mostraron G3, mientras que el 44.4% de los que presentaron 1+ tuvieron G3, 71.4% de los que tuvieron 2+ y el 44.4% de los que presentaron máxima intensidad de tinción tuvieron tumores indiferenciados.

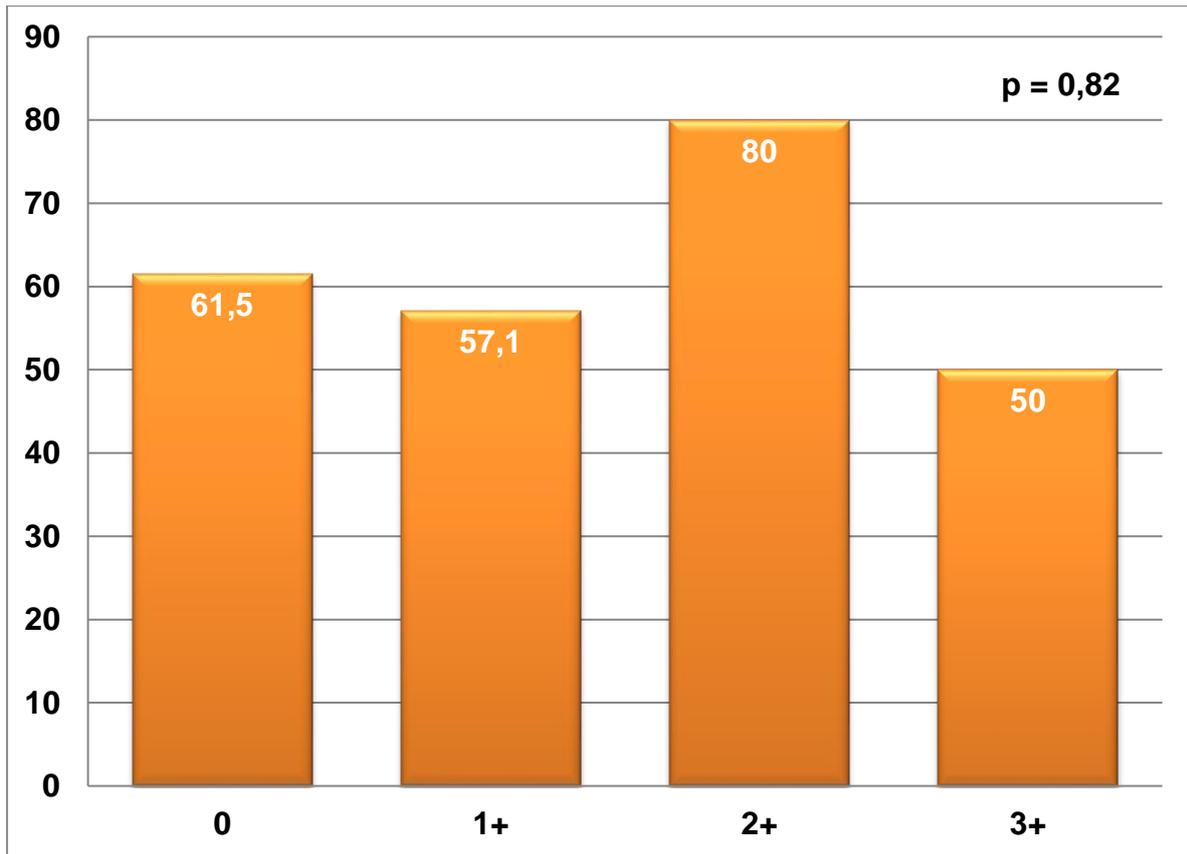


Figura 23 . Expresión del Her 1 Invasión Vasculolinfática (IVL)

Con respecto a la relación de la Sobreexpresión del Her1 y la presencia de Invasión Vasculolinfática hubo una mayor asociación con Tinciones de 2+, el 80% de esta población tuvo asociación con este factor pronostico histológico. No se observó ni diferencia significativa ni clara tendencia de predominio a favor de mayores intensidades de tinción, el resultado fue muy heterogéneo por lo tanto sin relación directa.

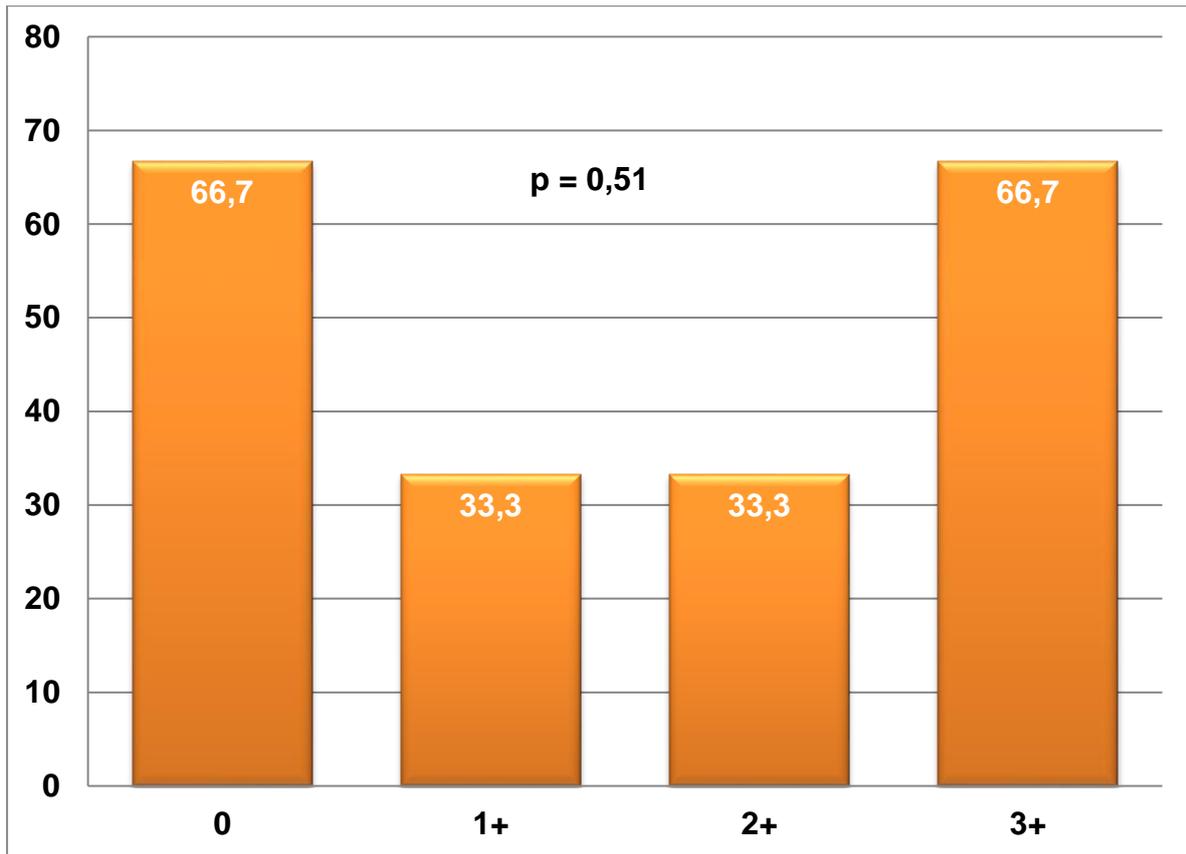


Figura 24 . Expresión del Her 1 según Metástasis Ganglionares

El Grafico no muestra una relación directa entre la Sobreexpresión de Her1 con la posibilidad de Metástasis ganglionares , ya que tanto la expresión con 3+ del oncogén como el grupo de pacientes que no expresaron el mismo se observo cifras idénticas de impacto ganglionar metastasico en el 66.7% de los casos por lo tanto no hubo asociación positiva.

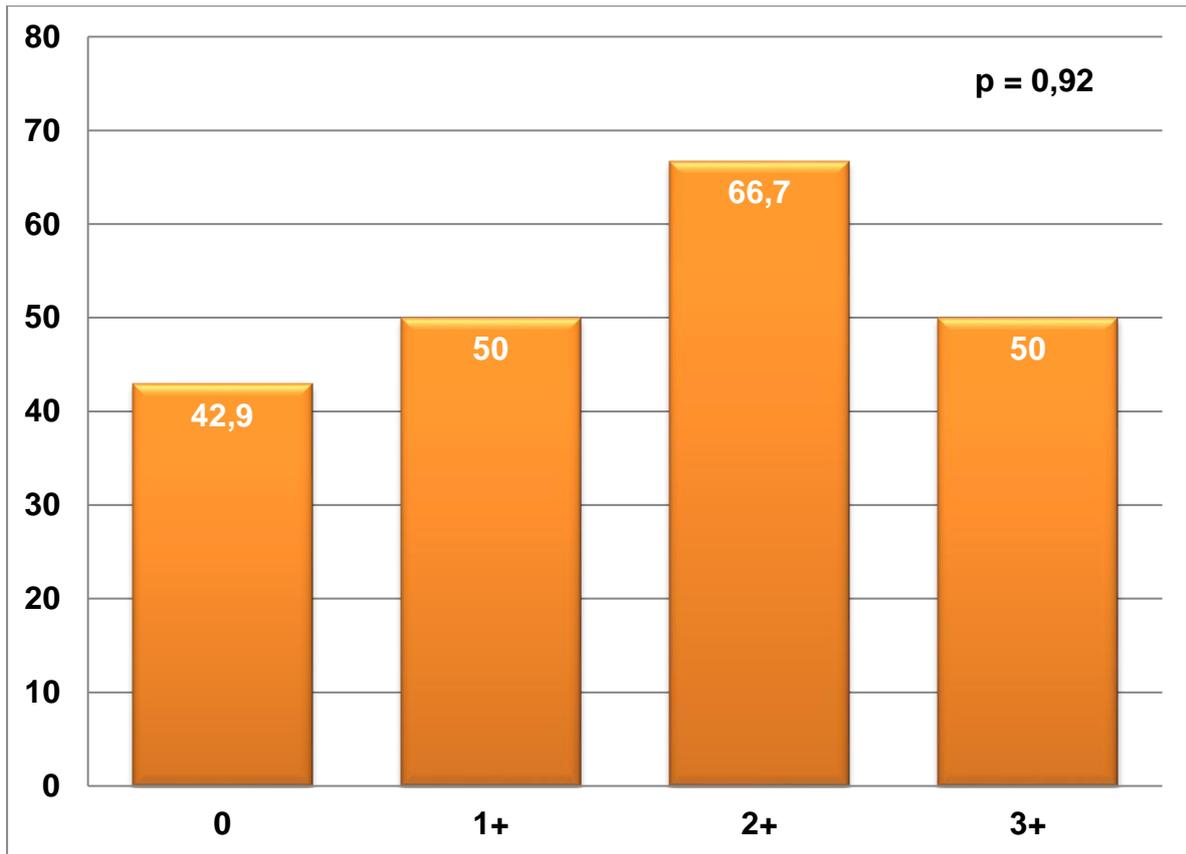


Figura 25 . Expresión del Her 1 en Pacientes que Recidivaron

El 20.5% de las pacientes recidivaron, de los cuales el 25% fueron locales y el 75% a distancia.

Como se puede observar en la siguiente Tabla las pacientes que recidivaron tuvieron una mayor propensión a Sobre expresar el Her1 sin embargo la diferencia observada no fue estadísticamente significativa y con poca diferencia con respecto al grupo no sobre expresado. De todas maneras las cohortes que sobre expresaron el oncogén tuvieron mas posibilidad de recidivar aunque sin una clara tendencia.

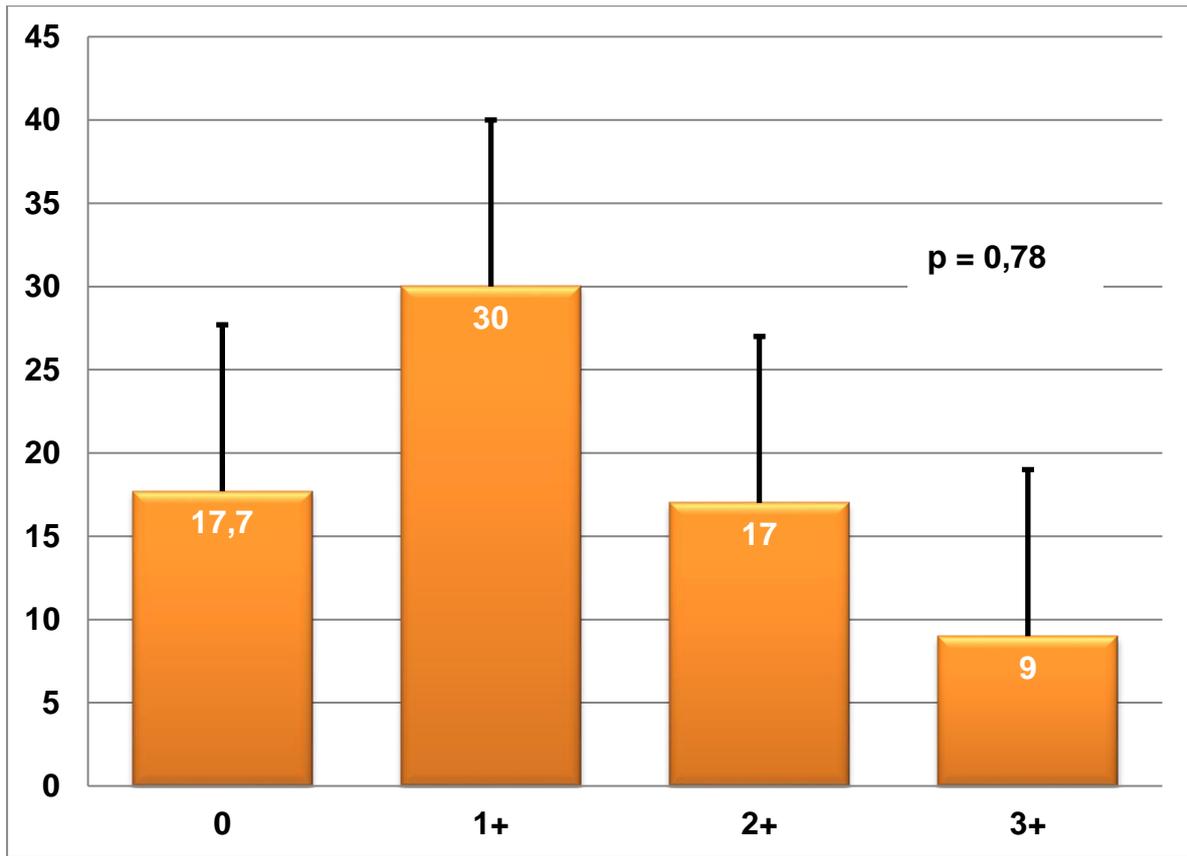


Figura 26. Grafico de Barras , Expresión del Her 1 y su relación en meses a la aparición de la Recidiva desde concluido el Tratamiento

La tabla muestra una relación directa entre la Sobreexpresión de He 1 con intensidad de tinción de 2+ y 3+ y el acortamiento del tiempo a la recidiva. Con 3+ el tiempo promedio fue de 9 meses, con 2+ fue de 17 meses y con ausencia de sobreexpresión de 17.7 meses.

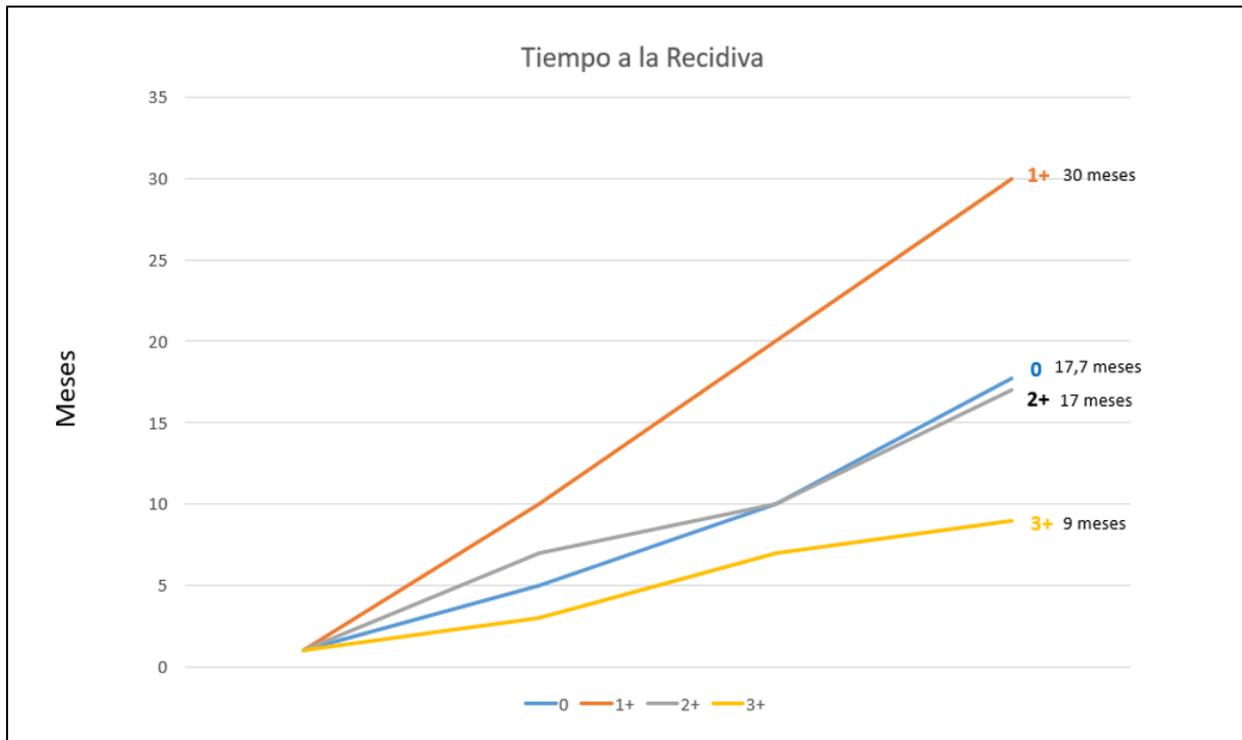


Figura 27. Grafico de Líneas, Expresión del Her 1 y su relación en meses a la aparición de la Recidiva desde concluido el Tratamiento

En esta tabla se observa mas claramente que a mayor tinción, las pacientes que recidivaron, lo hicieron mucho mas rápido en un tiempo mas corto con respecto a la cohorte sin sobreexpresión el Her1.

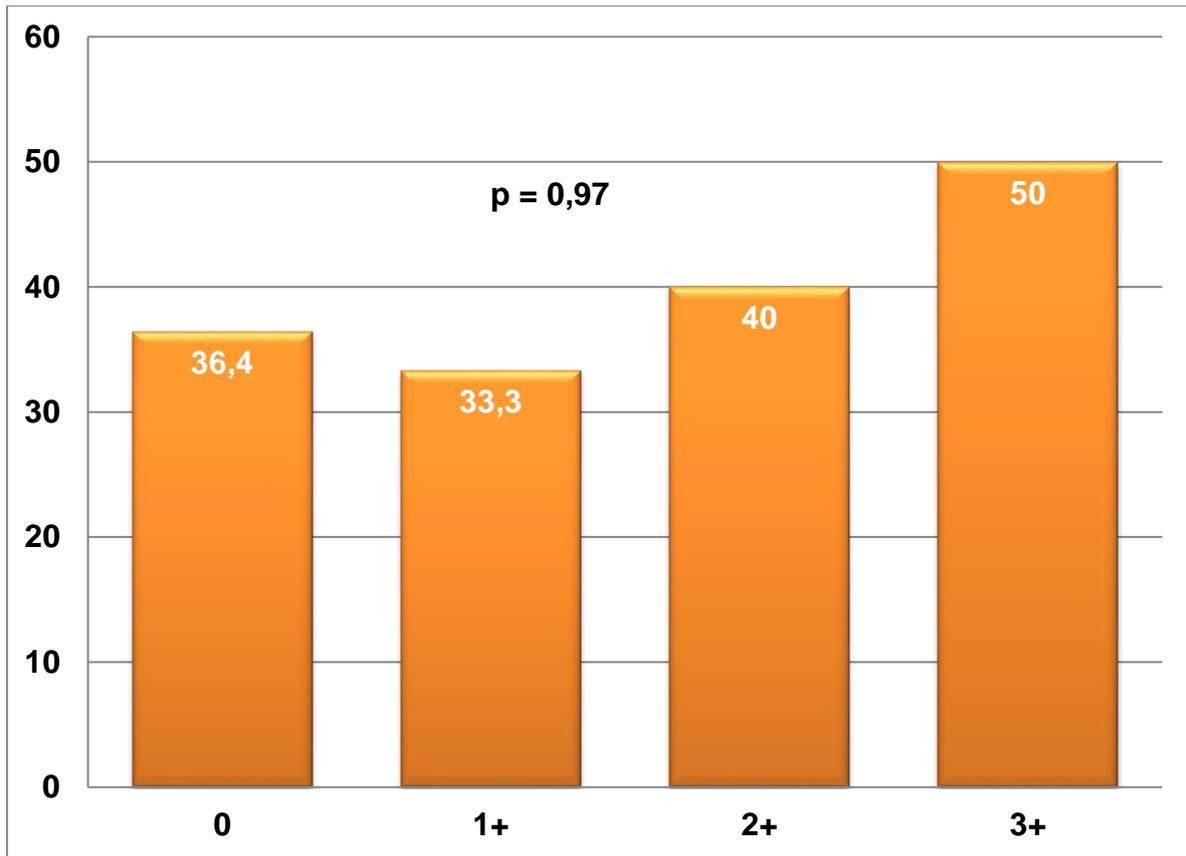


Figura 28. Expresión del Her 1 en Relación a la Mortalidad Específica por la Enfermedad.

Si bien no hubo una diferencia significativa entre las distintas expresiones del Her1 y la posibilidad de morir como factor univariable de estudio, es muy clara la tendencia de Riesgo , a mayor expresión del oncogén mayores posibilidades de morir por la enfermedad, mas evidente la relación cuando se compara un 36.4% de muertes en el grupo no sobre expresado con un 50% de pacientes muertas en el grupo que mostro sobreexpresión máxima del oncogén.

Discusión

La **edad promedio** de la población de estudio fue de 47 años con rangos que oscilan entre los 34 y los 60 años de edad. Este promedio de edad de presentación del Cáncer cervicouterino esta en concordancia con lo publicado en la mayoría de los reportes internacionales sobre epidemiología del cáncer que indican que este se desarrolla con mayor frecuencia en las mujeres a partir de los 40 años, llegando a un pico alrededor de los 50 años. La incidencia de cáncer invasor de cuello uterino es muy baja en las mujeres menores de 25 años. La Alianza para la Prevención del Cáncer Cervicouterino (ACCP) recomienda centrar el tamizaje en aquellas mujeres que tienen mayor riesgo de sufrir lesiones precancerosas pero antes de que la incidencia de cáncer invasor comience a alcanzar un valor máximo (127).

El **Inicio de Relaciones sexuales** de la población de estudio fue entre los 15.1 y los 20.1 años con un promedio de 17.6 años. Estos datos coinciden con la Encuesta Nacional de Salud Sexual y Reproductiva Argentina publicada por el Ministerio de Salud de la Republica Argentina con datos que constan en el INDEC y publicados en el 2013 donde reportan que el Inicio de Relaciones sexuales en nuestro País es de los 17.3 años en mujeres y 16 años en Varones y en el desglose actuarial del grupo etareo de 40 a 49 años que es el promedio de edad de ocurrencia del Cáncer de cuello en este estudio fue de 17.9 años en la Encuesta Nacional sobre salud reproductiva de la Nación (128).

En cuanto al **Numero de Gestas**, la mayoría de la población de estudio fue multigesta al momento diagnostico con un promedio de 4.2 embarazos con un rango entre 1.8 y 6.6 embarazos.

La mayoría tuvo Partos Normales con un promedio de 2.8 partos entre 0.8 y 4.8 como rango y mucho menor fue la población que concibió por Cesárea que fue de 0.6+/-0.8. En un análisis de diez trabajos caso-control del IARC (International Agency for Research on Cancer – Agencia internacional para la investigación del cáncer).se reporto la posibilidad de que los embarazos de término aumenten el riesgo de desarrollar tanto un carcinoma in situ como un carcinoma de células escamosas, de hecho que el reporte muestra el riesgo de cáncer cervical fue dos veces mayor en mujeres que tenían 4 hijos o más comparado con aquellas que tuvieron uno o ninguno.

Estos hallazgos no son nuevos pero sí importantes. Para evitar sesgos, primero se logró controlar el fuerte efecto del HPV restringiendo el análisis a las mujeres que fueron positivas para el ADN del HPV, utilizando un método sensible para su detección. Segundo, el número de casos de Cáncer cervical fue mayor que en cualquier otro trabajo ya publicado; tercero, la multiparidad fue muy frecuente; y cuarto, se dispuso de información de factores confundentes sexuales y no sexuales. Las nulíparas tuvieron un menor riesgo de desarrollar un carcinoma de células escamosas de cérvix. Las pacientes con hijos tuvieron una clara tendencia a un mayor riesgo a medida que aumentaba el número de embarazos de término. De todas maneras, el poder de esta asociación estuvo afectada por el modelo utilizado. El riesgo relativo de la edad para las mujeres con siete o más embarazos de término comparado con ninguno fue de 8.3, mientras que en el modelo ajustado, el riesgo relativo fue de 3.8.

La disminución en el riesgo se atribuye principalmente al ajuste de la edad de inicio de relaciones sexuales, una variable que es también un factor de riesgo para el carcinoma cervical entre las mujeres HPV positivas. Sin embargo, la edad de inicio de las relaciones sexuales se correlacionó con el número de embarazos de término (coeficiente de correlación de Spearman $r = 0.31$, $p < 0.0001$). Todavía no está claro el rol del trauma a nivel del cuello originado por un parto sobre el riesgo de desarrollar un cáncer cervical. Las mujeres con el antecedente de cesáreas tuvieron un menor riesgo comparado con las que tuvieron partos. Sin embargo, hubo pocas mujeres con cesáreas por lo que la aparente protección tiene muy poco significado. Algunos hallazgos interesantes surgieron en relación a los embarazos de término y otros factores de riesgo. Primero, la asociación directa con el número de embarazos de término fue mayor en las mujeres menores de 45 años. Esto establecería la posibilidad de que varios embarazos de término en un breve período de tiempo aumentarían el riesgo. Sin embargo, en este trabajo, la “rapidez” de los embarazos de término (el tiempo entre el primer y último embarazo de término) no se relacionó con el riesgo de carcinoma cervical al ajustarlo con la paridad.

En este trabajo y en otros ya publicados, se encontró una asociación con los embarazos de término pero no con los abortos lo que hace pensar que los eventos relacionados con el segundo y tercer trimestre del embarazo o el parto serían relevantes. Las concentraciones de estrógeno y progesterona en sangre se sabe que aumentan progresivamente en el embarazo y llegan a su pico máximo en las últimas semanas.

Estos cambios son probablemente responsables de las alteraciones en la unión del epitelio escamocolumnar (zona de transformación) que ocurren en el embarazo.

La prevalencia de ectopía disminuye con la edad (cerca de la mitad de las mujeres menores de 45 años tienen una ectopía versus el 2% en mayores de 64 años) y es mayor en las mujeres con hijos. Además, en las mujeres con hijos la ectopía aumenta con el número de embarazos de término. Por lo tanto, la multiparidad aumentaría el riesgo de carcinoma cervical porque mantiene la zona de transformación en el exocérnix por muchos años, facilitando la exposición directa al HPV y a otros cofactores.

Si bien en nuestra cohorte de estudio solo 2 pacientes (5.1%) presentaron variedades de Adenocarcinoma y uno Mixto Adeno-Epidermoide, los resultados encontrados en los casos de adenocarcinoma o carcinoma adenoescamoso deben interpretarse en forma cautelosa ya que se basan en 13 veces menos casos que de carcinomas de células escamosas. Sin embargo, el adenocarcinoma o el carcinoma adenoescamoso no parecieran estar afectados por un alto número de embarazos de término al igual que los carcinomas de células escamosas. A pesar de que las nulíparas parecieran tener un menor riesgo, no hay una tendencia con respecto al número de embarazos de término ni a la edad al primer embarazo de término.

En conclusión, la declinación de la multiparidad, que ocurrió en la mayoría de los países desarrollados y en desarrollo en las últimas décadas, podría explicar parte de la disminución en la incidencia y mortalidad del cáncer cervical a nivel mundial y más notablemente en Asia y Latinoamérica, donde el efecto de los programas de screening fue escaso o casi nulo. La multiparidad, sin embargo, estaría menos asociada con el riesgo de adenocarcinoma o carcinoma adenoescamoso del cérvix, incidencias que han aumentado en las últimas dos a tres décadas (129).

En cuanto al **Motivo de Consulta**, la gran mayoría de las pacientes (78%) consultaron por genitorragia, entre metrorragia (sangrado no relacionado al ciclo menstrual) y sinusorragias (sangrado postcoital).

Estos hallazgos denotan el diagnóstico tardío de este cáncer que es un flagelo de las poblaciones con economía emergentes y sin planes de cribado efectivos como sucede en nuestro País. El diagnóstico por síntomas muestra una falla total y absoluta del sistema para llegar en la educación de la prevención primaria y secundaria precoz, cuando la paciente tiene síntomas hemorrágicas, ya subyace un tumor de tamaño considerable para provocar ruptura de los vasos de neoformación tumoral que expresa

una pérdida de oportunidades en la instalación de un tratamiento precoz y más eficaz, como en todo Cáncer, cuanto antes mejor.

Solo el 22% de la cohorte estudiada fue diagnosticada por un examen de rutina, lo que refleja nuestra población incluida en un sistema de salud deficitario para llegar temprano al diagnóstico y prevenir al cáncer cervical.

Los países en vías de desarrollo y, dentro de éstos, la desigualdad entre regiones de un mismo país provoca que los más pobres sean los más castigados por esta enfermedad, considerándose al Cáncer de Cuello Uterino un marcador de pobreza estructural. La ausencia de planes de tamizaje poblacional que abarquen a la mayoría de las mujeres de estas regiones en un período de tiempo, motivan que hasta la actualidad se continúe con las técnicas de tamizaje individual, oportunístico, con efectividad relativa en lo referente a la mejoría en los índices de mortalidad. En nuestro país, desde Junio de 2008 se encuentra en marcha el Programa Nacional de Prevención del Cáncer Cervicouterino dependiente del Ministerio de Salud. Ha comenzado en “provincias prioritarias” (Chaco, Jujuy, Misiones, Salta y Formosa) y, a pesar de las dificultades, aspira a abarcar la totalidad del extenso territorio argentino. Dicho Programa centra el tamizaje empleando técnicas moleculares junto con la citología. Mientras tanto, el tamizaje individual continúa siendo el arma prioritaria con la que contamos para la detección de la patología pre invasora (130).

En un estudio epidemiológico del Área Metropolitana de Buenos Aires en 2018 mostro que de los 748 casos analizados retrospectivamente (2007-2011), el 53.6% (n = 401) presentó un diámetro tumoral > 4 cm y el 24.2% (n = 181) > 6 cm. Las tasas más bajas de supervivencia se observaron en tumores > 6 cm y en el subgrupo etario < 35 años. Tanto el tamaño tumoral como la edad conservaron su valor pronóstico tras ser ajustados en el análisis multivariado.

Más de 7 de cada 10 mujeres fueron admitidas en un estadio avanzado y la proporción de los tumores denominados en la actualidad “bulky” (> 4 cm), es ampliamente superior a la de las series que han definido, y aún definen, los estándares de tratamiento, incluso cuando ninguna de ellas refleja experiencias de países en vías de desarrollo (131).

Solo el 22% de la población de estudio fue diagnosticada en examen de rutina en Screening de oportunidad sin síntomas. Lo cual reafirma lo anteriormente esgrimido.

En la población de Estudio si bien dentro de los Criterios de Inclusión era condición que sean pacientes candidatas a cirugía, el 73.5% del total de la muestra de pacientes eran operables inicialmente, un 21% resultaron tumores Bulkys, es decir mayores a 4cms,

las cuales recibieron Quimioterapia Neoadyuvante basado en Platino y todas redujeron volumen por lo que pudieron ser operados y el 5.2% de las pacientes presentaban compromiso inicial dudoso de los parametrios y fueron confirmados en el Postoperatorio.

Muchas pacientes en nuestro Servicio de la 1era Catedra de Ginecología del Hospital Nacional de Clínicas de Córdoba, se presentan con tumores Bulky y debido a que un gran numero de ellas no se encuentran mutualizadas o con un seguro de salud que les permita el acceso en tiempo y forma a la Terapia Radiante, implica que en numero importante de casos utilicemos el recurso de la Quimioterapia Primaria o Neoadyuvante con el objetivo de reducir el tamaño tumoral y poder lograr una cirugía radical y en muchos casos evitar la terapia radiante. En nuestro medio presenta gran demora en el acceso, lo cual trae como consecuencia una disminución de las posibilidades de cura de la enfermedad y un considerable aumento de la Mortalidad.

En un Metanálisis publicado en el 2013 que incluyo 18 estudios con 1785 pacientes incorporadas, todas con Carcinomas Localmente Avanzados con tamaños tumorales mayores a 4 cms, informaron una tasa de respuesta a la Quimioterapia Neoadyuvante del 48 al 93% y las pacientes Respondedoras incrementaron significativamente el Tiempo Libre de Enfermedad 88.9% vs 59.2% en No respondedoras y en la Sobrevida Global también con diferencias muy significativas del 87.7% comparadas con No respondedoras del 57.9%, por lo tanto no solo permitiría hacer una cirugía operable cuando no lo es inicialmente, sino en muchas de ellas evitar la Radioterapia y en el caso de responder al tratamiento mejoras importantes en Sobrevida (132).

En este Estudio el 28% de las pacientes tuvieron Ganglios Metastasicos, el 31% tuvieron Parametrios comprometidos en la Anatomía Patológica Postquirúrgica, el 21% tuvieron compromiso del Manguito Vaginal, y 50% tuvieron compromiso de la Mitad Externa del Miocervix, por lo que 52% de las pacientes recibió algún tipo de adyuvancia, Radioterapia externa mas braquiterapia o Quimio radioterapia concurrente mas Braquiterapia según correspondiese.

Estos hallazgos de la cohorte de estudio coincide con el reporte de otros autores de la literatura Internacional, en pacientes con cáncer de cuello uterino estadios I y IIA, según la clasificación FIGO, el porcentaje de metástasis linfáticas pélvicas varía entre 0-16% y 24-31%, respectivamente (133,134).

En cuanto al **Tamaño Tumoral** de presentación, la cohorte de estudio presento en promedio tumores grandes, mayores a 3 cms excepto aquellos casos seleccionados para conservación de la fertilidad a través de una traquelectomia radical abdominal. Es conocido que el tamaño tumoral es directamente proporcional a la posibilidad de compromiso de los ganglios linfáticos, manguito vaginal, parametrial y posibilidad de invasión tumoral estromal profunda. A la vez que todos estos factores aumentan la posibilidad de recurrencia y la necesidad de tratamientos adyuvantes.

En un trabajo Japonés donde se estudio la posibilidad de Invasión parametrial e impacto ganglionar según la presencia de Invasión vasculolinfatica, profundidad de invasión estromal y tamaño tumoral reportaron tasas similares de compromiso tumoral a la de este estudio en la cohorte de tumores mayores a 2 cms.

Ellos reportaron tasas de compromiso metastasico ganglionar del 32.7% y compromiso parametrial metastasico del 25.4% cuando la profundidad de invasión tumoral era mayor de 10mm con Invasión Vasculolinfatica positiva, a la vez que demostraron tasas de compromiso metastasico ganglionar del 31.6% y compromiso parametrial metastasico del 22.8% cuando los Tumores median mas de 2 cms y con Invasión Vasculolinfatica positiva, en comparación de compromiso metastasico ganglionar del 18.8% y compromiso parametrial metastasico del 12.5% cuando los Tumores median menos de 2 cms y con Invasión Vasculolinfatica positiva, todas cifras comparativas al hallazgo de la presente investigación (135).

El porcentaje de pacientes que sobre expresaron en Her1 encontrados el presente trabajo fue del 63.9% con una variabilidad de intensidad de tinción que se correspondió con el 23% del total de 1+, 17.9% 2+ y un 23% de 3+, cuando se sumaron las poblaciones que sobre expresaron el Oncogén con alta intensidad de marcación ++/+++ llego al 40.9% de la cohorte estudiada.

Si bien la superficie epitelial normal del cérvix puede expresar Her1, esta constituye una situación excepcional y solo confinada a la capa basal del epitelio cervical. La sobreexpresión del Her en el cáncer Cervical es en células tumorales y es muy variable, con rangos de reportes internacionales entre el 6 y el 90% (136).

La expresión del Her1 según Soonthornthum parece tener una asociación directa con la Infección por HPV sin tener una correlación con el tipo de HPV , este podría cambiar la biología de su expresión impidiendo la degradación del Her1 y puede evidenciarse

su incremento de expresión a medida que se incrementa el nivel de Neoplasia intraepitelial (137).

En la displasia cervical la expresión del Her1 es mayor en la capa basal de queratinocitos y va disminuyendo su expresión a medida que va haciéndose mas diferenciada la capa superficial. En cambio el Her1 es expresado a través de todo el epitelio de células escamosas indiferenciadas, en las áreas de metaplasia escamosa, base de condiloma y en el carcinoma in situ (138).

El amplio rango de expresión del Her1 parece estar relacionado a una perdida de la Estandarización del método utilizado para determinar el Status de expresión del Her1. Este puede ser evaluado por mas de diez métodos diferentes para detectar su amplificación, desde la mutación génica, detección de elevados niveles de Transcripción de RNAm o directamente la Proteína. Además, incluso cuando se usa una sola Técnica como la Inmunohistoquímica utilizada por muchos laboratorios para evaluar los niveles de expresión del Her1 que muestran diferencias en el tipo de procesamiento, diferentes reactivos y diferentes puntos de corte para interpretar el grado de sobreexpresión del mismo (139).

Si bien en la población de estudio del presente estudio solo hubieron un 5.12% de pacientes con Adenocarcinomas y una paciente 2.56% presento un tumor mixto coincide con otros reportes como el de Soonthornthum que describe que la Intensidad de tinción del Her1 es mucho mas prevalente en los tipos epidermoides que alcanzan entre el 50 y el 70% de ellos contra los adenocarcinomas que solo se expresan en un 23% y hasta un 38% de adenoescamosos (137).

Una de las variables mas importantes demostradas en el estudio cuando se realizo análisis Univariable es que el 100% de las pacientes que se presentaron con **tumores localmente avanzados** (Mayores a 4 cms y/o compromiso inicial de parametrios) tenia sobreexpresión del Her1 con (3+) de intensidad de tinción lo cual demuestra una fuerte asociación con la presentación de los tumores en Estadios mas avanzados, mientras que no se observo tal relación en la presentación por Estadios cuando la tinción fue 0 en la que resulto 36.4% en Tumores iniciales y 63.6% localmente avanzados, con tinción 1+ que se observo 50% por igual para ambas poblaciones y con tinción 2+ el 57.1% se presento como estadios iniciales y por el contrario el 42.9% localmente avanzados. Si bien la p no resulto significativa por el numero de casos evaluados tal vez, la tendencia es muy clara y hablaría de que a una mayor sobreexpresión podría

haber mayor crecimiento tumoral con presentaciones de tumores mas grandes al momento diagnostico, comportándose así una fuerte tinción del marcador como un factor desfavorable y así poder tenerlo en cuenta dentro de las variables histopronosticas de mal pronostico.

Cuando se despejo estrictamente el **Tamaño tumoral** en Relación con la Sobreexpresión del Her1 y su intensidad de tinción , se observo que hubo una correlación directa entre el tamaño tumoral al momento del diagnostico y la intensidad de marcación de sobreexpresión del Her1 y . La mayor asociación entre tamaño tumoral y la Sobreexpresión fue con la intensidad de 3+ , a mayor tamaño tumoral mayor expresión ya que el 65.8% de los Tumores con 3+ mostraron un promedio de tamaño tumoral de 65mm, en cambio con 2+ un promedio de 12mm de tamaño tumoral, 1+ un promedio 8mm y con una marcación de 0+ un promedio de 13mm, lo cual resulto una diferencia fuertemente significativa ($p=0.012$) la asociación entre mayor intensidad de marcación mayor tamaño tumoral a la presentación al momento del diagnostico. Cabe recordar que el tamaño tumoral es uno de los factores histopronosticos mas adversos cuando se evalúa Tasas de Recurrencia, Curación y Sobrevida Global.

En un Metanálisis que evalúa la Sobreexpresión del Her1 y su impacto pronostico en Pacientes con cáncer de cuello uterino, incorpore 22 estudios incluyendo 2505 pacientes publicando que una Alta Tinción de Membrana del gen determino una presentación de tumores mayores a 4 cms con un OR: 1.64, 95% CI: 1.20– 2.23 con una no significativa heterogeneidad ($I^2 =0.00\%$, $Ph = 0.935$), lo que aumenta la confiabilidad del hallazgo coincidiendo así con las observaciones de este estudio. No solo observaron mayores tamaños tumorales con su sobreexpresión sino también una presentación en Estadios mas avanzados (Estadios III/IV vs Ib/II) con un OR: 1.37, 95% CI: 0.98-1.64 y una $p=0.01$ (124).

En un estudio Taiwanés que propone un paquete de herramientas para obtener una guía que ayude a tomar decisiones terapéuticas y marcar tendencia pronostica determinando distintos puntos de corte según el factor pronostico analizado demostró sobre 797 pacientes analizadas que principal factor pronostico de recidiva y muerte era el numero de ganglios afectados y el factor que mas se asocio a Metástasis ganglionar fue el tamaño tumoral, mostrando una diferencia significativa en los tumores mayores a 3.25 cms mientras que en los menores de este tamaño mostraron un bajo riesgo de diseminación linfática (140).

Un interesante estudio Japonés cuyo objetivo fue identificar variables independientes histopatológicas como factores pronósticos en pacientes con cáncer cervical tratadas con Histerectomía Radical mas linfadenectomia pelviana y Paraortica en 187 pacientes con Estadios Ib a IIb, demostró que usando Análisis Univariado en relación a Sobrevida Global, las pacientes que se presentaban Estadios Figo Clínicos mas tempranos tenían mucho mejor sobrevida (IB vs. IIA/IIb; p 0.014), y el otro factor pronostico importante fue el tamaño tumoral que cuando se presentaban con tumores mayores de 4 cm presentaron una (p 0.007) cuando se los comparo con menores de 4 cms (141).

En un reporte del Korean radiation oncology group study (KROG 12-08) en el que proponen un Nomograma para predecir los Riesgos de Metástasis a Distancia posterior a completar Radioterapia Postoperatoria mostraron que el Riesgo cuando comparaban Tumores Mayores vs Menores o igual a 4 cm tenia un HR:1.9 con IC 1.3-2.9 95% y una p de 0.01 siendo muy significativo también el tamaño tumoral como factor pronostico (142).

En un Estudio Holandés conducido por Petra Biewenga que propone el desarrollo de un Modelo Pronostico de Sobrevida en Pacientes con Cáncer Cervical Temprano y una herramienta que facilita la toma de decisiones de Adyuvancia, cuando estudio el impacto del tamaño tumoral observo que cuando se lo analizaba como Factor Univariable de Riesgo de afectación de Afectación Especifica de Sobrevida , encontraron que cuando había invasión parametrial el HR fue de 1.03 con un IC 1.02-1.05 con una $p < 0.01$ siendo muy significativo como factor pronostico y cuando se estudio como un Factor Multivariable de Riesgo encontraron un HR de 1.02 un Coeficiente de Regresión de 0.02 y IC 1.0-1.04 95% y una p 0.04 (143).

Al estudiar la expresión del Her1 y su correlación con la **Profundidad de Invasión** Tumoral se encontró una correlación directa que existe entre la Sobreexpresión con 3+ de intensidad del Her1 y la profundidad de invasión miocervical presentando este grupo 2.7cm en promedio muy alto en comparación con el grupo de tinción de 2+ que mostro un promedio de 1.17 , el de 1+ 0.88 y 1.45cm para la ausencia de expresión del Oncogén.

En la evaluación del compromiso tumoral de mitad interna vs mitad externa del miocervix hay una clara diferencia significativa entre la sobreexpresión del oncogén y la capacidad de penetración del tumor en profundidad con una $p=0.032$ significativa a favor de la mayor intensidad de sobreexpresión del Her1. Así se puede observar que

en tinción 3+ el 75% de la población estudiada invade mitad externa contra el 25% de mitad interna, con 2+ de tinción el 100% invadió la mitad externa miocervical, con 1+ se observa una relación inversa, 25% invasión externa y un 75% interna y en ausencia de tinción 66.7% externa y un 33.3% interna.

Al analizar de manera binaria la relación existente entre cualquier grado de intensidad de tinción del Her1 vs tinción 0+ se observa una gran diferencia entre la invasión tumoral de la mitad externa del miocervix vs la mitad interna. Cuando se sobreexpresa el oncogén el 90% de los tumores invadieron externamente el miocervix y un 10% de estos solo invaden la mitad interna del mismo. ($p = 0.023$). Cuando el oncogén no se sobreexpresa la invasión de la mitad interna es del 50% con igual porcentaje para la externa.

Esta observación no ha sido reportado por ningún autor en la literatura por lo que se presenta como de particular interés, especialmente porque la invasión tumoral profunda en estroma o miocervix es considerada en Factor de mal pronóstico y es una de las variables para tomar decisiones terapéuticas adyuvantes postquirúrgicas con el fin de disminuir la tasa de recidivas locales.

La penetración tumoral en profundidad en estroma y miocervix es un factor asociado a mayor Riesgo de Recidiva, mayor posibilidad de compromiso parametrial y tasas de recidiva como así también aumenta las indicaciones de adyuvancia radioterápica postoperatoria.

El practical Guidelines de la Sociedad Europea de Oncología Clínica (Esmo) del 2012 a través de sus recomendaciones propone la profundidad de Invasión Estromal como uno de los principales factores independientes de mal pronóstico, especialmente cuando supera 1/3 de penetración tumoral (144).

En el Estudio de P Biewenga muestra el impacto de la penetración tumoral de más de 10mm cuando se lo analizó como Factor Univariante de Riesgo de afectación Específica de Supervivencia, encontraron que el HR fue de 1.6 con un IC 1.3-2.0 y una $p < 0.01$ siendo muy significativo como factor pronóstico y cuando se estudió como un Factor Multivariante de Riesgo encontraron un HR de 1.3 un Coeficiente de Regresión de 0.24 y IC 1.01-1.6 95% y una $p 0.04$ (143).

El estudio Taiwanés que propone un paquete de herramientas para obtener una guía de decisiones terapéuticas Estratifica el Riesgo según la Profundidad de Invasión estromal en tres Grupos: Bajo, Medio y Alto considerándolas de Alto Riesgo cuando tienen penetración del Tercio externo del cuello asociado a Invasión Vasculolinfática (IVL).

Informando que en pacientes de Alto Riesgo se considera una Alarma de Riesgo para el acceso tumoral a otros órganos (140).

En el reporte del Korean radiation oncology group study (KROG 12-08) cuando analizaron la Profundidad de Invasión como Factor Univariante de Riesgo, encontraron que el Riesgo de metástasis a Distancia cuando compararon Mitad Interna vs Mitad Externa tuvo un HR de 2.5 (IC 1.2-5.59 95%) y una p de 0.02 siendo muy significativo como factor pronóstico y cuando se estudio como un Factor Multivariante de Riesgo encontraron un HR de 2 (IC 1.0-4.3 95%) y una p de 0.09 (142).

En el estudio Japonés de Takeda que evaluó variables independientes histopatológicas como factores pronósticos en pacientes con cáncer cervical encontró utilizando Análisis Univariante que la Invasión Tumoral Profunda se comportaba como un Factor de Riesgo de Recidiva y Uso de Terapia Adyuvante muy significativa: (p 0.0028) (141).

En el protocolo Numero 92 del Gynecologic Oncology Group (GOG) que randomizo pacientes tratadas con Histerectomía Radical y Radioterapia Pelviana vs Ningún tratamiento adicional, mostro que la adyuvancia radioterápica pelviana reducía el numero de recurrencias pelvianas en pacientes con ganglios negativos , Estadio Ib que tenían al menos dos de los siguientes Factores de Riesgo: Invasión de mas de 1/3 del estroma cervical, Invasión Vasculolinfática y Tumores de gran tamaño. Así Surgen los Criterios de Sedlis o Criterios de Riesgo Intermedio en los que hasta la actualidad sirven para tomar conductas de Radioterapia Adyuvante postoperatoria. Tan importante es el grado de penetración estromal tumoral, que el Score utilizado para indicar Radioterapia Postoperatoria Una invasión del 1/3 profundo mas IVL sin importar el tamaño tumoral es indicación per se de adyuvancia radioterápica para disminuir la tasa de recidiva, por lo tanto no solo se comporta como un factor de Riesgo sino también de indicación de adyuvancia (126).

El **Compromiso Parametrial** tuvo una asociacion proporcional a mayor intensidad de tincion del oncogen, si bien no fue significativa estadísticamente hay un claro mayor porcentaje de compromiso parametrial, cuando fue 0+ el 28.6% de la poblacion de estudio tuvo parametrios comprometidos, con una 1+ 22.2%, con 2+ el 42.9% y con 3+ el 50%.

La Invasión Parametrial es otro de los factores pronósticos que marcan un Riesgo importante de Recidiva y muerte y también condiciona la indicación de quimio

radioterapia concurrente como adyuvancia debido a su impacto sobre el pronóstico de la paciente.

En el reporte del Korean radiation oncology group study (KROG 12-08) cuando analizaron el Compromiso Parametrial como Factor Univariable de Riesgo, encontraron que el Riesgo de metástasis a Distancia comparando Compromiso vs no compromiso tuvo un HR de 1.8 IC 1.2-2.7 95% y una $p < 0.01$ siendo muy significativo como factor pronóstico y cuando se estudio como un Factor Multivariable de Riesgo encontraron un HR de 1.5 IC 1-2.3 95% y una p de 0.07 (142).

En el estudio Japonés de Takeda cuando evaluó el compromiso parametrial como variable independiente utilizando Análisis Univariable demostró que se comportaba como un Factor de Riesgo de Recidiva y Uso de Terapia Adyuvante muy significativa con un Risk Ratio de 4.9 (95% de IC) (2.4-9.8) y una ($p < 0.0001$) (141).

En el Estudio Holandés conducido por Petra Biewenga cuando estudio el impacto del compromiso tumoral parametrial observo que analizado como Factor Univariable de Riesgo de Afectación Especifica de Sobrevida , encontraron que cuando había invasión parametrial el HR fue de 5.6 con un (IC 13.2-29.6) con una $p < 0.01$ siendo muy significativo como factor pronóstico y cuando se estudio como un Factor Multivariable de Riesgo encontraron un HR de 3 un Coeficiente de Regresión de 1.08 y IC 1.6-5.4 95% y una $p < 0.01$ altamente significativo (143).

Por otra parte se observo una relación directa en la proporción de Tumores con **Alto recuento mitótico** e intensidad de marcación Sobreexpresión del Her1.

El 66.7% de la población con Tumores de Alto recuento mitótico presentaron 3+, en cambio un 50% de esta población tuvo 2+, un 42.9% 1+ y solo 20% marcación 0+. Mostrando así una mayor inmunomarcacion del Her1 a medida que mayor recuento mitótico mostraran los tumores, lo que induce a pensar que en este factor de proliferación celular también se encuentra el oncogén como un factor predictivo de mayor agresividad tumoral.

Es sabido que el crecimiento y agresividad tumoral esta representado histológicamente por una proliferación celular anormal con maduración anormal y atipia nuclear. La distribución intraepitelial, densidad y naturaleza típica o atípica de las figuras mitóticas son rutinariamente utilizadas como criterio diagnostico para clasificar el grado de displasia que presenta una lesión intraepitelial o el grado de agresividad y proliferación celular que presenta un cáncer invasor (145).

Los Sil de Alto Grado (Cin 2 y 3) se caracterizan por la integración del HPV en el genoma de la célula huésped con la expresión temprana de genes en células proliferantes y como resultante se correlaciona con factores clinicopatológicos como la proliferación de células basales epiteliales y un claro incremento de las figuras mitóticas lo que se traduce en un alto recuento del mismo, lo cual implica alta progresión tumoral dentro del epitelio en el caso de lesiones intraepiteliales y fuera del mismo con membrana basal rota en el caso de tumores invasores (146).

En una búsqueda exhaustiva en PubMed, Medline, Current Contents y LILACS solo se publicó un trabajo que compara los resultados de Índice de Proliferación que depende en parte del Recuento Mitótico y la expresión del Her1. A diferencia de lo observado en este trabajo en la Investigación de Nagai N, que analizó prospectivamente la Ploidia de ADN, Índice de Proliferación y el Her1 como Factores pronósticos en Cáncer de Cuello Uterino no tratado en 76 casos, con una mediana de seguimiento de 5 años, mostro que el Her1 estaba expresado en el 56.6% de los casos y no encontró una relación directa entre los factores analizados entre si, ni en Sobrevida Libre de enfermedad a 5 años ni Riesgo de muerte (147).

Otro Factor histopronóstico de impacto implicado en la proliferación Celular y agresividad tumoral es el **Grado de Diferenciación Celular**. Cuando se comparo la ocurrencia de tumores G3 (indiferenciados) y la expresión del Her1, se observo una fuerte asociación. Solo el 15.4% de los tumores que fueron negativos para el Oncogén, mostraron G3, mientras que el 44.4% de los que presentaron 1+ tuvieron G3, 71.4% de los que tuvieron 2+ y el 44.4% de los que presentaron máxima intensidad de tinción tuvieron tumores indiferenciados. Esto muestra una clara tendencia entre expresión del Receptor estudiado y tumores potencialmente mas agresivos.

En el Estudio de Petra Biewenga cuando estudio el impacto del Grado de Diferenciación Celular Tumoral observo que cuando se analizaban Los Tumores G3 (indiferenciados) como Factor Univariable de Riesgo de Afectación Especifica de Sobrevida, encontraron que cuando había invasión parametrial el HR fue de 2.0 con un (IC 0.49-8.9) y una $p < 0.01$ siendo muy significativo como factor pronóstico y cuando se lo comparo con tumores bien y moderadamente diferenciados hubo mucho menos afectación de la Sobrevida con un HR informado de 1.6 para G2 (moderadamente diferenciado) con muy escasa ocurrencia de Tumores bien diferenciados por lo que no informaron el HR de afectación de Sobrevida de este grupo (143).

En un Reporte Alemán de reciente publicación se investigaron 233 pacientes en Estadio Ib1 , todos carcinomas epidermoides y se presentaron como G1 (45.1%), G2 (29.2%) y G3 (25.8%). A mayor indiferenciación tumoral , es decir subiendo en graduación del G hubo una correlación significativa con el decrecimiento del Tiempo Libre de Recurrencia y la Sobrevida Global.

Los Tumores G1 y G2 tuvieron comportamientos similares y no tuvieron diferencias significativas en los resultados entre ellos, pero cuando se los asocio y se los denominó Tumores de Bajo Grado (G1-G2) y se los comparó con los denominados Tumores de Alto Grado (G3) de manera Binaria mostraron diferencias significativas en el comportamiento de las variables analizadas.

Así es que cuando se analizó el Tiempo Libre de Recurrencia a 5 años reportaron (Bajo Grado: 90.2% vs. Alto Grado: 71.6%; $p = 0.001$) y cuando se analizó la Tasa de Sobrevida Global (Bajo Grado: 89.9% vs. Alto Grado: 71.1%; $p = 0.001$) mostrando un impacto muy significativo de adversidad en Tumores G3.

Cuando hicieron un Análisis Multivariado ajustado para Metástasis Ganglionares presentaron un hazard ratio de 2.4 (95% CI 1.3–4.7) para reducción de Tiempo libre de Recurrencia y 2.4 (95% CI 1.2–4.6) Para Sobrevida Global (148).

Otro Estudio Alemán investigó el Impacto del Grado de Diferenciación Tumoral en Carcinomas Escamosos Estadio Figo Ib y IIB. Se examinaron 467 pacientes tratadas quirúrgicamente, el 46% Tuvieron Tumores Bien diferenciados (G1, $n = 215$), 30.6% Moderado (G2, $n = 143$) y 23.3% Pobremente Indiferenciados (G3, $n = 109$). El Tiempo Libre de Recurrencia fue reducido significativamente en pacientes con Tumores G3 (G1: 81.4%, G2: 70.6%, G3: 64.2%; $p = 0.008$) y en Sobrevida Global cuando se los dividió en Tumores de Bajo Grado (G1 y G2), vs Alto Grado (G3) (Bajo Grado: 76.0% vs. Alto Grado: 65.1%; $p = 0.031$) lo que mostro diferencia significativa entre los grupos según grado de diferenciación tumoral (149).

Ryu SY y colaboradores encontraron que a las pacientes con Tumores G3 en el informe anatomopatológico postoperatorio deberían indicarse tratamiento adyuvante para mejorar su pronóstico (150).

Por lo tanto hay una necesidad de prestar mas atención en pacientes que tienen tumores pobremente diferenciados cuando hay otro factor de riesgo asociado.

Es así entonces que la relación directa de la Expresión del Her1 con una alta Intensidad de Marcación y tumores Indiferenciados, implica una ocurrencia de mas agresividad

neoplásica sumando también esta variable histológica como expresión de mal pronóstico asociada al oncogen.

Con respecto a la relación de la Sobreexpresión del Her1 y la presencia **de Invasión Vasculolinfática (IVL)** hubo una mayor asociación con Tinciones de 2+, el 80% de esta población tuvo asociación con este factor histopronóstico. De todas maneras no hubo una diferencia significativa de intensidad de tinción del Her1 y la ocurrencia de IVL y en parte porque el 61.5% de las pacientes que habían mostrado ausencia de la expresión del Receptor presentaron IVL. No hay en la Literatura publicado una correlación entre IVL y expresión del Her1 por lo que en este aspecto la correlación es inédita y no puede discutirse este hallazgo con otros autores.

De todas maneras permanece controversial si la IVL es un factor pronóstico independiente en pacientes con cáncer cervical temprano. Algunos estudios han sugerido que su presencia es un factor de alto Riesgo para Metástasis en Ganglios Linfáticos y asociados a mayor riesgo de Recidiva local y Metástasis a distancia después del tratamiento quirúrgico del Cáncer de cuello en estadios temprano (151-154).

Por el contrario, otros estudios han mostrado que IVL no se comporta como un factor de Riesgo aislado no asociado a otros factores de riesgo (155, 156).

Sin embargo se considera que la diseminación tumoral se realiza a través de vasos linfáticos y sanguíneos y esta es la base del proceso metastásico. Los vasos sanguíneos y linfáticos del estroma son alcanzados por el desarrollo tumoral, la infiltración profunda del estroma esta asociada con mayor IVL y esta es la base de la deportación de células tumorales loco regionalmente y a distancia. Mientras mas indiferenciado es un tumor mayor asociación a IVL existe lo cual se asociaría a peor pronóstico (157).

De todas maneras en la presente investigación solo se vio una mayor asociación de Expresión Her1 (++) sin mostrar una diferencia significativa entre las distintas intensidades de tinciones y ni siquiera se observó una marcada tendencia creciente entre mayor tinción con mayor IVL porque en el grupo de pacientes que expresaron alta intensidad de marcación (+++) solo el 50% mostraron IVL.

Las **metastasis ganglionares** son uno de los factores pronósticos mas significativos en cáncer de cuello uterino y se encuentra considerada dentro de la

Clasificación de la International Federation of Gynecology and Obstetrics (FIGO) staging system. Cuando se investigo que relación había entre la expresión del Her1 y la Posibilidad de impacto Metastásico Ganglionar no se encontró proporcionalidad entre intensidad de Tinción y el porcentual de ganglios comprometidos. Tanto la expresión con 3+ del oncogén como el grupo 0+ mostraron cifras idénticas de impacto ganglionar metastásico en el 66.7% de los casos, si bien cuando se comparo la Intensidad de (+++) contra (++) y (+) que tuvieron un 33% en ambos casos hubo una superior la asociación a impacto ganglionar aunque no significativa.

En un destacado trabajo de Li Shen y colaboradores del Departamento de Radio oncología de Zhejiang University School of Medicine, Hangzhou, China estudiaron la expresión del Her1 y el Her2 en Tumores y sus respectivas metástasis ganglionares de 53 pacientes. Encontraron cifras de expresión de (+++) del Her 1 en el 64% de las pacientes estudiadas, prácticamente idénticas a las encontradas en este trabajo. Además demostraron algo muy interesante, cuando estudiaron los ganglios linfáticos con metástasis, se observo que el 60% tenia sobreexpresado el oncogen, sorprendiendo así el hallazgo al encontrar una importante estabilidad de expresión entre el tumor y las metástasis ganglionares. Esta estabilidad le plantea a los autores la posibilidad de usar el Receptor como un target de la imagenología nuclear no reportada hasta ahora, como así también utilizar el receptor como dianas con terapéuticas targets como el Anticuerpo monoclonal anti Her1 Cetuximab o con pequeñas moléculas Inhibidoras de la Tirosine Kinasa como el Iressa y Tarceva que han sido aprobado por FDA.

Por otra parte el Receptor puede ser utilizado como diana de Radionúclidos marcados que se unen selectivamente a las células tumorales descargando así una dosis radioterapéutica para destruir células tumorales metastásicas.

Si bien en este estudio no pudo demostrarse una relación directa entre la expresión del Her1 y la posibilidad de Metástasis ganglionares, en parte podría estar relacionado con la limitación numérica de la muestra, si bien la expresión del Her1 en esta investigación se encontró asociada a un aumento de factores histopatológicos de mal pronostico y que a su vez se relacionan con mayor propensión a presentar metástasis ganglionares no pudo demostrarse tal asociación pero si abre una posibilidad de terapéuticas futuras sobre las metástasis ganglionares que son uno de los factores pronósticos mas adversos en el cáncer de cuello uterino (158).

Cuando se estudio la **Sobrevida Libre de Enfermedad y Recidiva** Asociada a la Expresión del Her1 se observo que el 20.5% de las pacientes recidivaron, de los cuales el 25% fueron locales y el 75% a distancia.

Las pacientes que recidivaron tuvieron una mayor propensión a Sobre expresar el Her1 sin que la diferencia observada sea estadísticamente significativa y con escasa diferencia con respecto al grupo no sobre expresado.

Sin embargo lo mas importante observado fue una relación directa entre la Sobreexpresión de Her 1 con intensidad de tinción de 2+ y 3+ y el acortamiento del tiempo a la recidiva. Con 3+ el tiempo promedio fue de 9 meses, con 2+ fue de 17 meses y con ausencia de sobreexpresión de 17.7 meses. Mostrando así que a mayor Intensidad de expresión del Her1 mucho menor es el tiempo a la Recidiva, de esta manera se comporta como un factor de Riesgo de acortamiento del Tiempo Libre de Enfermedad.

En el Metanálisis de Tian que evalúa la Sobreexpresión del Her1 y su impacto pronostico en Pacientes con cáncer de cuello uterino, revelo que una Alta intensidad de Marcación se asocio con una pobre Sobrevida Libre de Enfermedad (HR: 1.84, 95% CI: 1.51–2.24) sin una Significativa Heterogeneidad ($I^2 = 23.9\%$, $Ph = 0.216$) y cuando se separo la Cohorte de Variedades Escamosas se observo una mayor Significativa asociación a Altos Niveles de Expresión del Her1 y Pobre SLE: (HR: 2.06, 95% CI: 1.43–3.01).

Cuando analizaron la SLE en dos subgrupos de Pacientes Operadas y Pacientes Tratadas con Quimio Radioterapia Concurrente se observo también afectación de la SLE en pacientes con fuertes intensidades de Marcación del Oncogén: Subgrupo Quimio radiación: (HR: 1.69, 95% CI: 1.32–2.15) y Subgrupo Quirúrgico (HR: 2.02, 95% CI: 1.37–2.96) (124).

En concordancia también con un Estudio Gales Conducido por Nicholson R de la Universidad de Cardiff quien analizo una Compilación de Reportes utilizando Pubmed como Motor de Búsqueda sobre mas de 200 Papers. Investigo la Relación entre el Tiempo Libre de Recidiva y Sobrevida Global en Relación al Nivel de Expresión del Her1 en mas de 20.000 pacientes en 10 Tipos de Cáncer. En cáncer de Cuello se asocio fuertemente a una Disminución importante de la Sobrevida Libre de Enfermedad en el 75% de los Papers estudiados (123).

En Un estudio Holandés de la Universidad de Groningen, estudiaron la Expresión del Her1 y la inducción de Resistencia a la Quimio Radioterapia y su Relación con la

Sobrevida. Ellos demostraron también que la Inmunomarcación del oncogén está directamente relacionada de manera independiente con peor respuesta terapéutica y afectación negativa de la Sobrevida Específica en estas pacientes. La Sobrevida a 5 años fue del 53% en Her1 positivos contra el 63% en los Her1 negativos.

En un Análisis Multivariable de Regresión de Cox evaluando la SLE incluyendo una homogeneización de la muestra en Estadío e Histología, la Marcación Positiva del Her1 se asoció con una pobre SLE (HR, 1.54; 95% CI, 1.09-2.17; $p = 0.014$ (159).

Cuando se evaluó **Mortalidad**, si bien no hubo una diferencia significativa entre las distintas expresiones del Her1 y la posibilidad de morir como factor univariable de estudio, se encontró una muy clara la tendencia de Riesgo, a mayor expresión del Her1 mayores posibilidades de morir por la enfermedad, más evidente la relación cuando se compara un 36.4% de muertes en el grupo no sobre expresado con un 50% de pacientes muertas en el grupo que mostró sobreexpresión máxima del oncogén.

En el reciente Metanálisis publicado de de Tian WJ que evalúa la Sobreexpresión del Her1 y su impacto pronóstico en Pacientes con cáncer de cuello uterino para tratar de aclarar la controversia si el Her1 Sobre expresado es un factor de mal pronóstico en cuanto a la posibilidad de curación y Sobrevida Global, demostró una asociación estrecha entre su Sobreexpresión y una reducción de la Sobrevida.

Incorporaron para análisis 22 estudios con 2505 pacientes estudiados el Riesgo en hazard ratios (HRs) con un 95% de Intervalos de Confianza que fueron calculados para cada estudio.

Así demostraron que pacientes con altos niveles de Her1 tuvieron una asociación con pobre Sobrevida Global (HR: 1.40, 95% CI: 1.10–1.78) con una Heterogeneidad entre los estudios de ($I^2 = 51.3%$, $Ph = 0.005$), si bien es alto, los autores lo refieren como probable diferencias genéticas dentro de la población Asiática estudiada y un impacto que marco heterogeneidad entre los distintos tipos histológicos, especialmente adenocarcinomas y adenoescamosos, aun así la diferencia fue significativa en mostrar menor sobrevida en la cohortes estudiadas tal como muestran los resultados de esta investigación. Por lo que los autores concluyen que la sobreexpresión del oncogén podría ser un Biomarcador de Sobrevida reducida y mal pronóstico en pacientes con Cáncer cervical además de afectar las decisiones clínicas y direccionar terapéuticas targets en esta población (124).

En un Review en el que se propone al Her1 como un Biomarcador para cáncer cervical, Soonthornthum reporta que su sobreexpresión esta significativamente asociada con pobres resultados en Cáncer cervical. Cuatro estudios de los analizados mostraron una disminución de la Sobrevida especifica estudiada, cuatro no pudieron demostrarlo , mientras que solo un estudio demostró una asociación entre su Sobreexpresión y una mejoría en la Sobrevida [hazard ratio (HR) 0.3; IC: 95% 0.12–0.86; P = 0.025] (137).

En el estudio Holandés de la Universidad de Groningen, estudiaron la Expresión del Her1 y la inducción de Resistencia a la Quimio Radioterapia y su Relación con la Sobrevida, reportaron que la expresión del Her1 esta relacionado a un pobre pronostico.

Durante el periodo de seguimiento el 52% de las pacientes murieron, 151 de 191 pacientes murieron por la enfermedad, la Sobrevida Global a 5 años fue del 47% en pacientes Her1 positivos mientras fue del 55% en Her1 negativos cuando el análisis fue univariable. Mostrando así resultados similares al grupo de estudio de esta investigación (159).

En concordancia también con un Estudio Gales Conducido por Nicholson R de la Universidad de Cardiff que analizo una Compilación de Reportes utilizando Pubmed como Motor de Búsqueda sobre mas de 200 Papers, evaluó la Relación entre el Tiempo Libre de Recidiva y Sobrevida Global respecto del Nivel de Expresión del Her1 en mas de 20.000 pacientes en 10 Tipos de Cáncer. En cáncer de Cuello se asocio fuertemente a una Disminución importante de la Sobrevida Libre de Enfermedad y Sobrevida Global en el 70% de los Papers estudiados (81).

En un estudio Holandés de la Universidad de Leiden sobre 136 pacientes con Estadios I y II de Cáncer de cuello uterino estudiaron entre otros biomarcadores por Inmunohistiquimica el Her1 para comprobar si había una correlación entre su sobreexpresión y el Pronostico de esas pacientes. El estudio revelo que los Tumores que expresaban una Moderada o Alta expresión del mismo se asocio con una importante reducción de la Sobrevida libre de la enfermedad (P =0.002) y la Sobrevida Global (P = 0.003).

Cuando se estudiaron los factores pronósticos de Sobrevida de manera multivariable también se demostró que el la Sobreexpresión del Her1 es un predictor independiente en Estadios tempranos de cáncer de cuello Uterino lo cual implica una mayor agresividad biológica comparada con los tumores de baja o normal expresión (160).

A diferencia de los Autores anteriores, un estudio Alemán conducido por Fuchs I y colaboradores quien compara las diferentes expresiones de la Familia Her en los Tumores escamosos de cuello uterino reporto que los tumores que Sobre expresaban el Her1 tenían mejor pronostico que los otros Her.

El estudio revelo que la sobreexpresión fue encontrada en 63% para HER1, en 21.8% para HER2, 74.4% para HER3 y en el 79.5% para HER4. Se observo correlación entre HER1 y HER4 ($p=0.019$). El análisis de Sobrevida revelo una significativa asociación de la Sobreexpresión del Her1 a pronostico favorable ($p=0.016$), mientras que la sobreexpresión de HER2 y HER3 se asocio a peor pronostico, ($p=0.006$; $p=0.05$ respectivamente). HER1 permaneció significativo en el Análisis Multivariable (161).

En un estudio Japonés conducido por K Lida en el que investigo la amplificación del Her1 y su relación a resultados clínicos adversos demostró una asociación a malos resultados en relación a un acortamiento significativo de la Sobrevida en Cánceres escamosos de cérvix uterino con una ($p=0.001$) y en el análisis multivariable se mostro como un factor independiente para Sobrevida Global ($P=0.011$) (162).

Si bien son escasas las publicaciones sobre investigaciones a cerca del comportamiento como factor pronostico del Her1 se observa mucha controversia al respecto en algunos estudios una fuerte asociación a mal pronostico y en otros esta relación es menos clara.

Por ejemplo la sobreexpresión esta asociada a pobres resultados y mal pronostico en reportes de muchos autores como (Pfeiffer et al, 1989; Hale et al, 1993; Kristensen et al, 1996; Scambia et al, 1998; Kersemaekers et al, 1999; Ngan et al, 2001; Gaffney et al, 2003) y dicha asociación se encuentra menos clara como en los reportes de (Scambia et al, 1998; Ngan et al, 2001, Lida 2011). Tal vez la perdida de consistencia de la asociación se deba a sesgos en la metodología de investigación.

Primero hay diferencias en la metodología de los protocolos, incluyendo el recurso utilizado y la dilución de los anticuerpos utilizados y los sistemas utilizados para evaluar la positividad de las reacciones Inmunohistiquimica lo cual podría producir una significativa variabilidad entre los resultados.

Segundo el tamaño muestral de los estudios son relativamente pequeños. Se requerirían grandes estudios prospectivos para establecer definitivamente la asociación exacta entre sobreexpresión de Her1 y Pronostico en Cáncer de Cuello Uterino.

Si bien este estudio no investigo el valor de las **Terapias Targets contra el Receptor Her1** además de comportarse como un factor biológico que podría tenerse en cuenta para tomar decisiones terapéuticas y pronósticas también sería potencialmente útil para identificar poblaciones pasibles de tratamientos con Anticuerpos Monoclonales.

La función esencial del receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR o Her1) en diversos tipos de tumores sólidos lo ha convertido en un blanco fundamental para el diseño de nuevas drogas. La contribución de las vías de señalización asociadas al EGFR en procesos tumorales como la proliferación celular, la angiogénesis y la resistencia a apoptosis ha sido bien establecida.

Estos anticuerpos han sido aplicados como tratamientos adyuvantes eficaces en Tumores solidos como en Colon y Pulmón. Sin embargo la información disponible sobre su eficacia en cáncer de cuello uterino permanece inconclusa. La correcta evaluación de la asociación entre la Sobreexpresión de Her1 y Sobrevida en pacientes con cáncer de cuello es esencial para entender los mecanismos de acción subyacentes de las terapias Anti Her1.

Estos Anticuerpos monoclonales actúan específicamente contra mutaciones del Her1 en Cáncer de Pulmón no Células pequeñas especialmente donde han sido estudiadas potenciales predictores de respuestas con Inhibidores de Her1 a través de la Tyrosine Kinasa con respuestas muy buenas. También se ha probado su eficacia en otros canceres cpmp en Colon, Páncreas y Tumores de cabeza y cuello. Es por ello que se entiende razonable asumir que hay una relación entre la Sobreexpresión del Her1 y mutaciones genéticas del mismo que podrían ser útiles para predecir respuesta a inhibidores contra el mismo en Cáncer de Cuello Uterino (124).

Cetuximab inhibe las Líneas celulares EGFR positivas con un porcentaje de inhibición que varia entre el 37 y el 58% ($P < 0.05$). Las líneas celulares obtenidas de Recurrencias o áreas mestastasicas de la enfermedad expresan altos niveles de EGFR cuando se lo compara con los sitios primarios ($P > 0.05$). Esto abre una ventana de posibilidades para investigar el tratamiento en pacientes recaídos Her1 positivos (163).

También se estudian estrategias con terapias targets radioterápicas con radionúclidos marcados contra receptores Her1 sobre expresados de células tumorales diseminadas con la expectativa de generar mínimo daño sobre los tejidos normales (164).

A pesar de los resultados en pacientes tras la aplicación de estos compuestos, existen aún aspectos que necesitan ser esclarecidos, como la búsqueda de marcadores predictores de buenas respuestas al tratamiento o las secuencias y combinaciones

óptimas de estas drogas con las terapias actuales. Es necesario identificar y validar factores predictivos que permitan seleccionar pacientes que responderán a las terapias con inhibidores del EGFR, como mutaciones que confieren resistencia, o aquellas que incrementan la sensibilidad al tratamiento. Una mejor comprensión de sus mecanismos de acción permitirá predecir la interacción de estos agentes con las terapias actuales, así como prevenir efectos antagónicos o redundantes, que no incrementen la actividad antitumoral. Finalmente, las investigaciones actuales deberán esclarecer las ventajas tras la aplicación de estos compuestos como primera línea de tratamiento, y sus dosis y esquemas de administración óptimos.

Algunos de estos agentes ya han comenzado a evaluarse en pacientes. Corresponderá ahora a la investigación preclínica, de conjunto con la evaluación derivada de los ensayos clínicos, la búsqueda y selección de marcadores apropiados que permitan predecir de forma temprana qué tipos de tumores resultarán más afectados con un tratamiento determinado, con vistas a incrementar los efectos beneficiosos en los pacientes, y al mismo tiempo evitar exposiciones innecesarias a terapias, muchas veces invasivas. La aplicación combinada de manera racional de estos agentes moleculares, con las llamadas terapias citotóxicas tradicionales, podría conducir a una etapa superior en el tratamiento del cáncer, en que por fin sea común observar remisiones tumorales o estabilizaciones de la enfermedad, así como emplear tratamientos prolongados de baja toxicidad y, a su vez, extender la supervivencia de los pacientes con una calidad de vida apropiada.

CONCLUSIONES

De acuerdo con los objetivos propuestos para este trabajo, surge de las observaciones y comentarios lo siguiente:

El porcentaje de pacientes que sobre expresaron en Her1 fue del 63.9% con una variabilidad de intensidad de tinción que se correspondió con el 23% del total de 1+, 17.9% 2+ y un 23% de 3+, es decir que las poblaciones con alta intensidad de marcación ++/+++ represento el 40.9% de la cohorte estudiada.

La sobreexpresión del Her1 tuvo una connotación negativa en las pacientes estudiadas con asociación a los factores histopatológicos de mal pronostico estudiados.

La Sobreexpresión del Her1 se asocio a una expresión Clínica **en Estadios mas avanzados** al momento del diagnostico. El 100% de las pacientes que se presentaron con **tumores localmente avanzados** tenia Her1 con (3+) de intensidad de tinción mientras que en Tumores sin expresión fue 36.4%. El **tamaño Tumoral** fue mayor al momento del diagnostico en pacientes con mayor intensidad de tinción, Tumores con 3+ mostraron un promedio de tamaño tumoral de 65mm, con 2+ 12mm, 1+ 8mm y sin expresión 13mm lo que resulto altamente significativo ($p=0.012$).

También se observo una asociación entre expresión del Her1 y **Profundidad de Invasión** Tumoral cuando la Sobreexpresión fue de 3+ hubo una profundidad de invasión miocervical de 2.7cm en promedio muy alto en comparación con el grupo de tinción de 2+ que mostro un promedio de 1.17 , el de 1+ 0.88 y 1.45cm para la ausencia de expresión del Oncogén por lo cual estuvo fuertemente asociado a este factor de mal pronostico. En la evaluación del compromiso tumoral de mitad interna vs mitad externa del miocervix hay una clara diferencia significativa entre la sobreexpresión del oncogén y la capacidad de penetración del tumor en profundidad con una $p=0.032$. Así se puede observar que en tinción 3+ el 75% de la población estudiada invade mitad externa contra el 25% de mitad interna, con 1+ se observa una relación inversa, 25% invasión externa y un 75% interna y en ausencia de tinción 66.7% externa y un 33.3% interna.

El **Compromiso Parametrial** tuvo una asociacion proporcional a mayor intensidad de tincion del oncogen, si bien no fue significativa estadisticamente hay un claro mayor porcentaje de compromiso parametrial, cuando fue 0+ el 28.6% de la poblacion de estudio tuvo parametrios comprometidos, con una 1+ 22.2%, con 2+ el 42.9% y con 3+

el 50%. Este es otro factor de mal pronóstico asociado a recidiva y muerte como así también su sola presencia es indicación de quimiorradioterapia concurrente adyuvante.

Por otra parte se observó una relación directa en la proporción de Tumores con **Alto recuento mitótico** y intensidad de marcación Sobreexpresión del Her1.

El 66.7% de la población con Tumores de Alto recuento mitótico presentaron 3+, en cambio un 50% de esta población tuvo 2+, un 42.9% 1+ y solo 20% marcación 0+. Mostrando así una mayor inmunomarcación del Her1 a medida que mayor recuento mitótico mostraran los tumores, lo que induce a pensar que en este factor de proliferación celular también se encuentra el oncogén relacionado como un factor predictivo de mayor agresividad tumoral.

Otro Factor histopronóstico de impacto implicado en la proliferación Celular y agresividad tumoral es el **Grado de Diferenciación Celular**. Cuando se comparó la ocurrencia de tumores G3 (indiferenciados) y la expresión del He 1 nea, se observó una fuerte asociación. Solo el 15.4% de los tumores que fueron negativos para el Oncogén, mostraron G3, mientras que el 44.4% de los que presentaron 1+ tuvieron G3, 71.4% de los que tuvieron 2+ y el 44.4% de los que presentaron máxima intensidad de tinción tuvieron tumores indiferenciados. Esto muestra una clara tendencia entre expresión de Receptor estudiado y tumores potencialmente más agresivos.

En relación a Sobreexpresión del Her1 y la presencia **de Invasión Vasculolinfática (IVL)** hubo una mayor asociación con Tinciones de 2+, el 80% de esta población tuvo asociación con este factor pronóstico histológico. De todas maneras no hubo una diferencia significativa de intensidad de tinción del Her1 y la ocurrencia de IVL y en parte porque el 61.5% de las pacientes que habían mostrado ausencia de la expresión del Receptor presentaron IVL. De todas maneras permanece controversial si la IVL es un factor pronóstico independiente en pacientes con cáncer cervical temprano.

Cuando se investigó qué relación había entre la expresión de Tinción y la Posibilidad de **Impacto Metastásico Ganglionar** no hubo una relación directa, ya que tanto la expresión con 3+ del oncogén como el grupo de pacientes que no expresaron el mismo se observó cifras idénticas de impacto ganglionar metastásico en el 66.7% de los casos, aunque cuando se comparó la Intensidad de (+++) contra (++) y (+) que tuvieron un

33% en ambos casos por lo que fue claramente superior la asociación a impacto ganglionar aunque no significativa.

Cuando se estudio la **Sobrevida Libre de Enfermedad y Recidiva** se encontró que las pacientes que recidivaron tuvieron una mayor propensión a Sobre expresar el Her1 sin que la diferencia observada sea estadísticamente significativa. Sin embargo lo mas importante observado fue una relación directa entre la Sobreexpresión de Her1 con intensidad de tinción de 2+ y 3+ y el acortamiento del tiempo a la recidiva. Con 3+ el tiempo promedio fue de 9 meses, con 2+ fue de 17 meses y con ausencia de sobreexpresión de 17.7 meses.

Cuando se evaluó **Mortalidad** se observo una situación similar a la Sobrevida libre de enfermedad , si bien no hubo una diferencia significativa entre las distintas expresiones del Her1 y la posibilidad de morir como factor univariable de estudio, se encontró una muy clara la tendencia de Riesgo , a mayor expresión del Her1 mayor posibilidades de morir por la enfermedad, mas evidente la relación cuando se compara un 36.4% de muertes en el grupo no sobre expresado con un 50% de pacientes muertas en el grupo que mostro sobreexpresión máxima del oncogén.

El acortamiento de SLE y Sobrevida Global se encuentran en relación directa en este grupo de estudio a una asociación de la sobreexpresión del Her1 y la mayoría de los factores histopronostico adversos estudiados.

Los únicos factores histopronosticos adversos estudiados que no se encontraron asociados a la sobreexpresión del Her1 fue IVL y no se observo mayor porcentaje Metástasis ganglionares ni Compromiso del Manguito Vaginal.

Y si bien muchas de las variables no resultaron estadísticamente significativas, la tendencia es muy clara y hablaría de que a una mayor sobreexpresión del Her1 podría haber mayor crecimiento tumoral con presentaciones de tumores mas grandes al momento diagnostico, como así también mayor asociación a presentación en Estadios localmente avanzados, seguramente explicado por la asociación a factores de mal pronostico como son el Alto Recuento Mitótico y Mayor grado de Indiferenciación celular. Resulto lógico de esperar la asociación a mayor profundidad de invasión en el estroma cervical y mayor porcentaje de parametrios comprometidos. Encontrándose así la Sobreexpresión del Her1 como un factor desfavorable especialmente con mayor

intensidad de Tinción, a su vez podría tenerse en cuenta dentro de las variables histopronosticas e incluirlo como un factor mas de decisión terapéutica, especialmente referido a Adyuvancia dentro de las variables de mal pronostico asociados a Factores que deciden por Radioterapia Postoperatoria o Quimioradioterapia concurrente que utilizan los Criterios de Sedlis y Peters respectivamente como son, Invasión Vasculolinfatica, Tamaño Tumoral, Profundidad de Invasión, Márgenes Comprometidos, Invasión Parametrial y Metástasis Ganglionares.

Y por ultimo la posibilidad de evaluar la Sobreexpresión del Her1 a través de la Inmunohistoquímica abre la puerta a la posibilidad futura de tratamiento con terapias targets para este subgrupo de pacientes que deberá ser evaluado en Estudios prospectivos de investigación.

CERTIFICADO 1

CERTIFICADO 2

CERTIFICADO 3

CERTIFICADO 4

BIBLIOGRAFIA

1. Bhatla N, Denny L. Figo Cancer Report, *Int J Gynecol Obstet*, 143: 1-4.2018
2. Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, et al. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *Int J Cancer*;136:E359-E386. 2015.
3. Parkin DM, Ferlay J, Curado MP, Bray F, Edwards B, Shin HR, et al. Fifty years of cancer incidence: *Int J Cáncer*;127(12):2918-27. 2010.
4. Restrepo HE, Gonzalez J, Roberts E, Litvak J. Epidemiology and control of cancer of the cervix uteri in Latin América and the Caribbean. *Bol Oficina Sanit Panam* ;102(6):578-93. 1987.
5. Cervical cancer control in developing countries: memorandum from a WHO meeting. *Bull World Health Organ*;74(4):345-51. 1996.
6. Parkin DM, Almonte M, Bruni L, Clifford G, Curado MP, Pineros M. Burden and trends of type-specific human papillomavirus infections and related diseases in the latin América and Caribbean region. *Vaccine*;26 Suppl 11:L1-15. 2008.
7. Mathew A, George PS. Trends in incidence and mortality rates of squamous cell carcinoma and adenocarcinoma of cervix--worldwide. *Asian Pac J Cáncer Prev*;10(4):645-50. 2009 Oct.
8. Ostor AG. Natural history of cervical intraepithelial neoplasia: a critical review. *Int J Gynecol Pathol*;12(2):186-92.1993.
9. Soutter WP, de Barros LA, Fletcher A, Monaghan JM, Duncan ID, Paraskevaidis E, et al. Invasive cervical cancer after conservative therapy for cervical intraepithelial neoplasia. *Lancet*;349(9057):978-80.1997.
10. Arends MJ, Buckley CH, Wells M. Aetiology, pathogenesis, and pathology of cervical neoplasia. *J Clin Pathol*;51(2):96-103.1998.
11. Hill AB. THE ENVIRONMENT AND DISEASE: ASSOCIATION OR CAUSATION? *Proc R Soc Med*;58:295-300.1965.
12. Munoz N, Bosch FX, de SS, Herrero R, Castellsague X, Shah KV, et al. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *N Engl J Med* 6;348(6):518-27.2003.
13. Chichareon S, Herrero R, Munoz N, Bosch FX, Jacobs MV, Deacon J, et al. Risk factors for cervical cancer in Thailand: a case-control study. *J Natl Cáncer Inst*;90(1):50-7. 1998.
14. Sellors JW, Mahony JB, Kaczorowski J, Lytwyn A, Bangura H, Chong S, et al. Prevalence and predictors of human papillomavirus infection in women in Ontario, Canada. Survey of HPV in Ontario Women (SHOW) Group. *CMAJ*;163(5):503-8. 2000.
15. Schiffman MH. New epidemiology of human papillomavirus infection and cervical neoplasia. *J Natl Cáncer Inst*;87(18):1345-7.1995.

16. Bosch FX, Lorincz A, Munoz N, Meijer CJ, Shah KV. The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer. *J Clin Pathol* 2002 Apr;55(4):244-65.
17. Woodman CB, Collins S, Winter H, Bailey A, Ellis J, Prior P, et al. Natural history of cervical human papillomavirus infection in young women: a longitudinal cohort study. *Lancet*;357(9271):1831-6. 2001.
18. Cuzick J, Terry G, Ho L, Hollingworth T, Anderson M. Type-specific human papillomavirus DNA in abnormal smears as a predictor of high-grade cervical intraepithelial neoplasia. *Br J Cancer*;69(1):167-71. 1994.
19. Franco EL, Villa LL, Sobrinho JP, Prado JM, Rousseau MC, Desy M, et al. Epidemiology of acquisition and clearance of cervical human papillomavirus infection in women from a high-risk area for cervical cancer. *J Infect Dis*;180(5):1415-23.1999.
20. Linhares AC, Villa LL. Vaccines against rotavirus and human papillomavirus (HPV). *J Pediatr (Rio J)*;82(3 Suppl):S25-S34. 2006.
21. Villa LL. Vaccines against papillomavirus infections and disease. *Rev Chilena Infectol*;23(2):157-63. 2006.
22. Koutsky LA, Ault KA, Wheeler CM, Brown DR, Barr E, Alvarez FB, et al. A controlled trial of a human papillomavirus type 16 vaccine. *N Engl J Med*;347(21):1645-51.2002.
23. Kuper H, Adami HO, Trichopoulos D. Infections as a major preventable cause of human cancer. *J Intern Med*;248(3):171-83. 2000.
24. Mueller N. Overview: viral agents and cancer. *Environ Health Perspect*;103 Suppl 8:259-61.1995.
25. Prokopczyk B, Cox JE, Hoffmann D, Waggoner SE. Identification of tobacco-specific carcinogen in the cervical mucus of smokers and nonsmokers. *J Natl Cancer Inst*;89(12):868-73.1997.
26. Franco EL, Duarte-Franco E, Ferenczy A. Cervical cancer: epidemiology, prevention and the role of human papillomavirus infection. *CMAJ*;164(7):1017-25. 2001.
27. Ursin G, Peters RK, Henderson BE, d'Ablaing G, III, Monroe KR, Pike MC. Oral contraceptive use and adenocarcinoma of cervix. *Lancet*;344(8934):1390-4. 1994.
28. Madeleine MM, Daling JR, Schwartz SM, Shera K, McKnight B, Carter JJ, et al. Human papillomavirus and long-term oral contraceptive use increase the risk of adenocarcinoma in situ of the cervix. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*;10(3):171-7. 2001.
29. Anttila T, Saikku P, Koskela P, Bloigu A, Dillner J, Ikaheimo I, et al. Serotypes of *Chlamydia trachomatis* and risk for development of cervical squamous cell carcinoma. *JAMA*;285(1):47-51. 2001.
30. Smith JS, Munoz N, Herrero R, Eluf-Neto J, Ngelangel C, Franceschi S, et al. Evidence for *Chlamydia trachomatis* as a human papillomavirus cofactor in the etiology of invasive cervical cancer in Brazil and the Philippines. *J Infect Dis*;185(3):324-31.2002.

31. Key TJ, Allen NE, Spencer EA, Travis RC. The effect of diet on risk of cancer. *Lancet*;360(9336):861-8.2002.
32. Ziegler RG, Weinstein SJ, Fears TR. Nutritional and genetic inefficiencies in one-carbon metabolism and cervical cancer risk. *J Nutr*;132(8 Suppl):2345S-9S. 2002.
33. Friedenreich CM, Orenstein MR. Physical activity and cancer prevention: etiologic evidence and biological mechanisms. *J Nutr*;132(11 Suppl):3456S-64S. 2002.
34. Lehtinen M, Koskela P, Jellum E, Bloigu A, Anttila T, Hallmans G, et al. Herpes simplex virus and risk of cervical cancer: a longitudinal, nested case-control study in the nordic countries. *Am J Epidemiol*;156(8):687-92. 2002.
35. Herrero R, Brinton LA, Reeves WC, Brenes MM, Tenorio F, de Britton RC, et al. Sexual behavior, venereal diseases, hygiene practices, and invasive cervical cancer in a high-risk population. *Cancer*;65(2):380-6. 1990.
36. Corral F, Cueva P, Yepez J, Montes E. Limited education as a risk factor in cervical cancer. *Bull Pan Am Health Organ*;30(4):322-9. 1996.
37. Coons SJ, Gwaltney CJ, Hays RD, Lundy JJ, Sloan JA, Revicki DA, et al. Recommendations on evidence needed to support measurement equivalence between electronic and paper-based patient-reported outcome (PRO) measures: ISPOR ePRO Good Research Practices Task Force report. *Value Health*;12(4):419-29. 2009.
38. Solomon D, Schiffman M, Tarone R. Comparison of three management strategies for patients with atypical squamous cells of undetermined significance: baseline results from a randomized trial. *J Natl Cancer Inst*;93(4):293-9. 2001.
39. Im SS, Wilczynski SP, Burger RA, Monk BJ. Early stage cervical cancers containing human papillomavirus type 18 DNA have more nodal metastasis and deeper stromal invasion. *Clin Cancer Res*;9(11):4145-50. 2003.
40. Lyng H, Sundfor K, Trope C, Rofstad EK. Disease control of uterine cervical cancer: relationships to tumor oxygen tension, vascular density, cell density, and frequency of mitosis and apoptosis measured before treatment and during radiotherapy. *Clin Cancer Res*;6(3):1104-12. 2000.
41. Milosevic M, Fyles A, Hedley D, Pintilie M, Levin W, Manchul L, et al. Interstitial fluid pressure predicts survival in patients with cervix cancer independent of clinical prognostic factors and tumor oxygen measurements. *Cancer Res*;61(17):6400-5. 2001.
42. Grisar D, Covens A, Chapman B, Shaw P, Colgan T, Murphy J, et al. Does histology influence prognosis in patients with early-stage cervical carcinoma? *Cancer*;92(12):2999-3004. 2001.
43. Alfsen GC, Kristensen GB, Skovlund E, Pettersen EO, Abeler VM. Histologic subtype has minor importance for overall survival in patients with adenocarcinoma of the uterine cervix:

- a population-based study of prognostic factors in 505 patients with nonsquamous cell carcinomas of the cervix. *Cáncer*;92(9):2471-83. 2001.
44. Wang CJ, Lai CH, Huang HJ, Hong JH, Chou HH, Huang KG, et al. Recurrent cervical carcinoma after primary radical surgery. *Am J Obstet Gynecol*;181(3):518-24. 1999.
 45. Thoms WW, Unger ER, Carisio R, Nisenbaum R, Spann CO, Horowitz IR, et al. Clinical determinants of survival from stage Ib cervical cancer in an inner-city hospital. *J Natl Med Assoc*;90(5):303-8. 1998.
 46. Green JA, Kirwan JM, Tierney JF, Symonds P, Fresco L, Collingwood M, et al. Survival and recurrence after concomitant chemotherapy and radiotherapy for cancer of the uterine cervix: a systematic review and meta-analysis. *Lancet*;358(9284):781-6. 2001.
 47. Pecorelli S. Revised FIGO staging for carcinoma of the vulva, cervix, and endometrium. *Int J Gynaecol Obstet*;105(2):103-4.2009.
 48. Pecorelli S, Zigliani L, Odicino F. Revised FIGO staging for carcinoma of the cervix. *Int J Gynaecol Obstet*;105(2):107-8.2009.
 49. Tierney B, Westin SN, Schlumbrecht MP, Ramirez PT. Early cervical neoplasia: advances in screening and treatment modalities. *Clin Adv Hematol Oncol*;8(8):547-55.2010
 50. Cox JT, Schiffman M, Solomon D. Prospective follow-up suggests similar risk of subsequent cervical intraepithelial neoplasia grade 2 or 3 among women with cervical intraepithelial neoplasia grade 1 or negative colposcopy and directed biopsy. *Am J Obstet Gynecol*;188(6):1406-12.2003.
 51. ACOG Practice Bulletin No. 99: management of abnormal cervical cytology and histology. *Obstet Gynecol*;112(6):1419-44.2008.
 52. McCredie MR, Sharples KJ, Paul C, Baranyai J, Medley G, Jones RW, et al. Natural history of cervical neoplasia and risk of invasive cancer in women with cervical intraepithelial neoplasia 3: a retrospective cohort study. *Lancet Oncol*;9(5):425-34.2008.
 53. Moscicki AB, Cox JT. Practice improvement in cervical screening and management (PICSM): symposium on management of cervical abnormalities in adolescents and young women. *J Low Genit Tract Dis*;14(1):73-80.2010.
 54. Roman LD, Felix JC, Muderspach LI, Agahjanian A, Qian D, Morrow CP. Risk of residual invasive disease in women with microinvasive squamous cancer in a conization specimen. *Obstet Gynecol*;90(5):759-64.1997.
 55. Stegeman M, Louwen M, van d, V, ten Kate FJ, den Bakker MA, Burger CW, et al. The incidence of parametrial tumor involvement in select patients with early cervix cancer is too low to justify parametrectomy. *Gynecol Oncol*;105(2):475-80.2007.
 56. Landoni F, Maneo A, Colombo A, Placa F, Milani R, Perego P, et al. Randomised study of radical surgery versus radiotherapy for stage Ib-IIa cervical cancer. *Lancet*;350(9077):535-40.1997.

57. Berek JS HN. *Practical Gynecologic Oncology*. 4th ed. ed. New York: Lippincott Williams and Wilkins; 2005.
58. Patel FD, Sharma SC, Negi PS, Ghoshal S, Gupta BD. Low dose rate vs. high dose rate brachytherapy in the treatment of carcinoma of the uterine cervix: a clinical trial. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*;28(2):335-41.1994.
59. Hareyama M, Sakata K, Oouchi A, Nagakura H, Shido M, Someya M, et al. High-dose-rate versus low-dose-rate intracavitary therapy for carcinoma of the uterine cervix: a randomized trial. *Cáncer*;94(1):117-24.2002.
60. Lertsanguansinchai P, Lertbutsayanukul C, Shotelersuk K, Khorprasert C, Rojpornpradit P, Chottetanaprasith T, et al. Phase III randomized trial comparing LDR and HDR brachytherapy in treatment of cervical carcinoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*;59(5):1424-31.2004.
61. Nag S, Chao C, Erickson B, Fowler J, Gupta N, Martinez A, et al. The Américan Brachytherapy Society recommendations for low-dose-rate brachytherapy for carcinoma of the cervix. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*;52(1):33-48.2002.
62. Nag S, Erickson B, Thomadsen B, Orton C, Demanes JD, Petereit D. The Américan Brachytherapy Society recommendations for high-dose-rate brachytherapy for carcinoma of the cervix. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*;48(1):201-11.2000.
63. Whitney CW, Sause W, Bundy BN, Malfetano JH, Hannigan EV, Fowler WC, Jr., et al. Randomized comparison of fluorouracil plus cisplatin versus hydroxyurea as an adjunct to radiation therapy in stage IIB-IVA carcinoma of the cervix with negative para-aortic lymph nodes: a Gynecologic Oncology Group and Southwest Oncology Group study. *J Clin Oncol*;17(5):1339-48.1999.
64. Thomás GM. Improved treatment for cervical cáncer--concurrent chemotherapy and radiotherapy. *N Engl J Med*;340(15):1198-200.1999.
65. Cunningham MJ, Dunton CJ, Corn B, Noumoff J, Morgan MA, King SA, et al. Extended-field radiation therapy in early-stage cervical carcinoma: survival and complications. *Gynecol Oncol*;43(1):51-4.1991.
66. Downey GO, Potish RA, Adcock LL, Prem KA, Twiggs LB. Pretreatment surgical staging in cervical carcinoma: therapeutic efficacy of pelvic lymph node resection. *Am J Obstet Gynecol*;160(5 Pt 1):1055-61.1989.
67. Vigliotti AP, Wen BC, Hussey DH, Doornbos JF, Staples JJ, Jani SK, et al. Extended field irradiation for carcinoma of the uterine cervix with positive periaortic nodes. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*;23(3):501-9.1992.
68. Rotman M, Pajak TF, Choi K, Clery M, Marcial V, Grigsby PW, et al. Prophylactic extended-field irradiation of para-aortic lymph nodes in stages IIB and bulky IB and IIA

- cervical carcinomas. Ten-year treatment results of RTOG 79-20. *JAMA*;274(5):387-93.1995.
69. Weiser EB, Bundy BN, Hoskins WJ, Heller PB, Whittington RR, DiSaia PJ, et al. Extraperitoneal versus transperitoneal selective paraaortic lymphadenectomy in the pretreatment surgical staging of advanced cervical carcinoma (a Gynecologic Oncology Group study). *Gynecol Oncol*;33(3):283-9.1989.
70. Fine BA, Hempling RE, Piver MS, Baker TR, McAuley M, Driscoll D. Severe radiation morbidity in carcinoma of the cervix: impact of pretherapy surgical staging and previous surgery. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*;31(4):717-23.1995.
71. Estape RE, Angioli R, Madrigal M, Janicek M, Gomez C, Penalver M, et al. Close vaginal margins as a prognostic factor after radical hysterectomy. *Gynecol Oncol*;68(3):229-32.1998.
72. Reducing uncertainties about the effects of chemoradiotherapy for cervical cancer: a systematic review and meta-analysis of individual patient data from 18 randomized trials. *J Clin Oncol*;26(35):5802-12.2008.
73. Pearcey R, Brundage M, Drouin P, Jeffrey J, Johnston D, Lukka H, et al. Phase III trial comparing radical radiotherapy with and without cisplatin chemotherapy in patients with advanced squamous cell cancer of the cervix. *J Clin Oncol*;20(4):966-72.2002.
74. Rose PG, Bundy BN. Chemoradiation for locally advanced cervical cancer: does it help? *J Clin Oncol*;20(4):891-3.2002.
75. Peters WA, III, Liu PY, Barrett RJ, Stock RJ, Monk BJ, Berek JS, et al. Concurrent chemotherapy and pelvic radiation therapy compared with pelvic radiation therapy alone as adjuvant therapy after radical surgery in high-risk early-stage cancer of the cervix. *J Clin Oncol* (8):1606-13.2000.
76. Chapman WB, Lorincz AT, Willett GD, Wright VC, Kurman RJ. Epidermal growth factor receptor expression and the presence of human papillomavirus in cervical squamous intraepithelial lesions. *Int J Gynecol Pathol*;11(3):221-6.1992.
77. Zhang B, Srirangam A, Potter DA, Roman A. HPV16 E5 protein disrupts the c-Cbl-EGFR interaction and EGFR ubiquitination in human foreskin keratinocytes. *Oncogene*;24(15):2585-8. 2005.
78. Straight SW, Hinkle PM, Jewers RJ, McCance DJ. The E5 oncoprotein of human papillomavirus type 16 transforms fibroblasts and effects the downregulation of the epidermal growth factor receptor in keratinocytes. *J Virol*;67(8):4521-32.1993.
79. Tsai TC, Chen SL. The biochemical and biological functions of human papillomavirus type 16 E5 protein. *Arch Virol* 2003 Aug;148(8):1445-53.

80. Tsao YP, Li LY, Tsai TC, Chen SL. Human papillomavirus type 11 and 16 E5 represses p21(Waf1/Sd1/Cip1) gene expression in fibroblasts and keratinocytes. *J Virol*;70(11):7535-9.1996.
81. Akerman GS, Tolleson WH, Brown KL, Zyzak LL, Mourateva E, Engin TS, et al. Human papillomavirus type 16 E6 and E7 cooperate to increase epidermal growth factor receptor (EGFR) mRNA levels, overcoming mechanisms by which excessive EGFR signaling shortens the life span of normal human keratinocytes. *Cancer Res*;61(9):3837-43.2001.
82. Eckert RL, Agarwal C, Hembree JR, Choo CK, Sizemore N, Andreatta-van LS, et al. Human cervical cancer. Retinoids, interferon and human papillomavirus. *Adv Exp Med Biol*;375:31-44. 1995.
83. Sizemore N, Choo CK, Eckert RL, Rorke EA. Transcriptional regulation of the EGF receptor promoter by HPV16 and retinoic acid in human ectocervical epithelial cells. *Exp Cell Res*;244(1):349-56.1998.
84. Hu G, Liu W, Mendelsohn J, Ellis LM, Radinsky R, Andreeff M, et al. Expression of epidermal growth factor receptor and human papillomavirus E6/E7 proteins in cervical carcinoma cells. *J Natl Cancer Inst*;89(17):1271-6. 1997.
85. Duensing S, Munger K. Mechanisms of genomic instability in human cancer: insights from studies with human papillomavirus oncoproteins. *Int J Cancer*;109(2):157-62.2004.
86. Arias-Pulido H, Joste N, Chavez A, Muller CY, Dai D, Smith HO, et al. Absence of epidermal growth factor receptor mutations in cervical cancer. *Int J Gynecol Cancer*;18(4):749-54.2008.
87. Longatto-Filho A, Pinheiro C, Martinho O, Moreira MA, Ribeiro LF, Queiroz GS, et al. Molecular characterization of EGFR, PDGFRA and VEGFR2 in cervical adenosquamous carcinoma. *BMC Cancer*;9:212.2009.
88. Nicholson RI, Gee JM, Harper ME. EGFR and cancer prognosis. *Eur J Cancer*;37 Suppl 4:S9-15.2001.
89. West CM, Joseph L, Bhana S. Epidermal growth factor receptor-targeted therapy. *Br J Radiol*;81 Spec No 1:S36-S44.2008.
90. Sobrero AF, Maurel J, Fehrenbacher L, Scheithauer W, Abubakr YA, Lutz MP, et al. EPIC: phase III trial of cetuximab plus irinotecan after fluoropyrimidine and oxaliplatin failure in patients with metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol*;26(14):2311-9.2008.
91. Rivera F, Garcia-Castano A, Vega N, Vega-Villegas ME, Gutierrez-Sanz L. Cetuximab in metastatic or recurrent head and neck cancer: the EXTREME trial. *Expert Rev Anticancer Ther*;9(10):1421-8.2009.
92. Senderowicz AM, Johnson JR, Sridhara R, Zimmerman P, Justice R, Pazdur R. Erlotinib/gemcitabine for first-line treatment of locally advanced or metastatic adenocarcinoma of the pancreas. *Oncology (Williston Park)*;21(14):1696-706.2007.

93. Johnson JR, Cohen M, Sridhara R, Chen YF, Williams GM, Duan J, et al. Approval summary for erlotinib for treatment of patients with locally advanced or metastatic non-small cell lung cancer after failure of at least one prior chemotherapy regimen. *Clin Cancer Res*;11(18):6414-21.2005.
94. Van CE, Kohne CH, Hitre E, Zaluski J, Chang Chien CR, Makhson A, et al. Cetuximab and chemotherapy as initial treatment for metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med*;360(14):1408-17.2009.
95. Karapetis CS, Khambata-Ford S, Jonker DJ, O'Callaghan CJ, Tu D, Tebbutt NC, et al. K-ras mutations and benefit from cetuximab in advanced colorectal cancer. *N Engl J Med*;359(17):1757-65.2008.
96. Amado RG, Wolf M, Peeters M, Van CE, Siena S, Freeman DJ, et al. Wild-type KRAS is required for panitumumab efficacy in patients with metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol*;26(10):1626-34.2008.
97. Eberhard DA, Johnson BE, Amler LC, Goddard AD, Heldens SL, Herbst RS, et al. Mutations in the epidermal growth factor receptor and in KRAS are predictive and prognostic indicators in patients with non-small-cell lung cancer treated with chemotherapy alone and in combination with erlotinib. *J Clin Oncol*;23(25):5900-9.2005.
98. Lewis, Merle J. , Análisis de la situación del cáncer cervicouterino en América Latina y el Caribe, Washington, D.C., Organización Panamericana de la Salud (OPS). 2004.
99. Nomenclatura de las lesiones cervicales (de Papanicolaou a Bethesda 2001) César Lacruz Pelea *REV ESP PATOL*; Vol 36, n.º 1: 5-10. 2003
100. Scully et al, WHO; *Histological Typing of Female Genital Tract Tumors*, 2nd ed, Berlin, Editors: Scully, R.E., Bonfiglio, T.A., Kurman, R.J., Silverberg, S.G., Wilkinson, E.J. (Eds.), 1-11, 1994.
101. Bosch FX, Lorincz A, Muñoz N, et al. The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer. *J Clin Pathol*;55:244–265, 2002.
102. IARC. Human Papillomaviruses. [En línea], IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum 2007; 90: 1– 670 [Consulta Mayo 12, 2017] disponible en la URL: <http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol90/index.php>.
103. Bruni L, Diaz M, Castellsague X, et al. Cervical human papillomavirus prevalence in 5 continents: Meta-analysis of 1 million women with normal cytological findings. *J Infect Dis*;202:1789–1799, 2010.
104. World Health Organization. Human papillomavirus vaccines: WHO position paper,. *Wkly Epidemiol Rec*. 2017;92:241–268.2017.
105. Salomon D, Schiffman M, Tarone R. Comparison of three management strategies for patients with atypical squamous cells of undetermined significance: baseline results from randomized trial (ALTS Group). *J Nat Can Inst*; 93(4): 293-299. 2001.

106. Bosch FX, Rohen T, Schneider A, Frazer I, Pfister H, Castellsagué X, De Sanjosé S, Moreno V, Puig-Tintoré LM, Smith PG, Muñoz N, Zur Hausen H. Papillomavirus research update: highlights of the Barcelona HPV 2000 international papillomavirus conference. *J Clin Pathol* ;54:163-178. 2001.
107. Cox, Salomon, et al. ALTS followup. *Am J Obstet Gynecol*;1406-1410. 2003.
108. Rozendaal L, Walboomers JM, van der Linden JC, Voorhorst FJ, Kenemans P, Helmerhorst TJ, Van Ballegooijen M, Meijer CJLM. PCR-based high-risk HPV test in cervical cancer screening gives objective risk assessment of women with cytomorphologically normal cervical smears. *Int J Cancer*;68:766-69.1996.
109. Schlecht NF, Kulaga S, Robitaille J, Ferreira S, Santos M, Miyamura RA, Duarte-Franco E, Rohan TE, Ferenczy A, Villa LL, Franco EL. Persistent human papillomavirus infection as a predictor of cervical intraepithelial neoplasia. *JAMA*;286(24):3106-3114. 2001.
110. Bhatla N, Berek J, Cuello M, et al. New revised FIGO staging of cervica cancer (2018). Abstract S020.2. Presented at the FIGO XXII World Congress of Gynecology and Obstetrics. Rio de Janeiro, Brazil, *Int J Gynecol Obstet* 2018;143(Suppl.3). 2018.
111. Kurman RJ, Carcangiu ML, Herrington CS, Young RH. WHO Classification of Tumours of Female Reproductive Organs, 4th edn. Lyon: IARC; 2014.
112. Bouchard-Fortier G, Reade CJ, Covens A. Non-radical surgery for small early-stage cervical cancer. Is it time? *Gynecol Oncol*;132:624–627. 2014.
113. Kato T, Takashima A, Kasamatsu T, et al.; Gynecologic Oncology Study Group of the Japan Clinical Oncology Group. Clinical tumor diameter and prognosis of patients with FIGO stage IB1 cervical cancer (JCOG0806-A). *Gynecol Oncol*;137:34–39. 2015.
114. Coutant C, Cordier AG, Guillo E, Ballester M, Rouzier R, Daraï E. Clues pointing to simple hysterectomy to treat early-stage cervical cancer. *Oncol Rep*;22:927–934. 2009.
115. Shepherd JH, Spencer C, Herod J, Ind TE. Radical vaginal trachelectomy as a fertility-sparing procedure in women with early-stage Cervical cancer-cumulative pregnancy rate in a series of 123 women. *BJOG*.;113:719–724. 2006.
116. Quinn MA, Benedet JL, Odicino F, et al. Carcinoma of the cervix uteri. FIGO 26th Annual Report on the Results of Treatment in Gynecological Cancer. *Int J Gynecol Obstet*. 2006;95(Suppl.1):S43–S103.
117. Landoni F, Maneo A, Cormio G, et al. Class II versus class III radical hysterectomy in stage IB-IIA cervical cancer: A prospective randomized study. *Gynecol Oncol*. 2001;80:3–12.
118. Plante M, Renaud MC, Sebastianelli A, Gregoire J. Simple vaginal trachelectomy: A valuable fertility-preserving option in early-stage cervical cancer. *Int J Gynecol Cancer*;27:1021–1027. 2017.

119. Ramirez PT, Pareja R, Rendón GJ, Millan C, Frumovitz M, Schmeler KM. Management of low-risk early-stage cervical cancer: Should conization, simple trachelectomy, or simple hysterectomy replace radical surgery as the new standard of care? *Gynecol Oncol.*;132:254–259. 2014.
120. Rob L, Pluta M, Strnad P, Hrehorcak M, Chmel R, Skapa P, et al. A less radical treatment option to the fertility-sparing radical trachelectomy in patients with stage I cervical cancer. *Gynecol Oncol*;111(2 Suppl):S116–20. 2008.
121. Maity, A., Kao, G. D., Muschel, R. J., and McKenna, W. G. Potential molecular targets for manipulating the radiation response. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 37: 639–653, 1997.
122. Harari, P. M., Huang, S. M. Modulation of molecular targets to enhance radiation. *Clin. Cancer Res.*, 6: 323–325, 2000.
123. Nicholson RI, Gee JM, Harper ME. EGFR and cancer prognosis. *Eur J Cancer*; 37 Suppl 4: S9–15. 2001.
124. Tian WJ, Huang ML, Qin QF, Chen Q, Fang K, Wang PL. Prognostic Impact of Epidermal Growth Factor Receptor Overexpression in Patients with Cervical Cancer: A Meta-Analysis. *PloS One*; 11(7). 2016.
125. Herbst RS, Bunn PAJ. Targeting the epidermal growth factor receptor in nonsmall lung cancer. *Clin Cancer Res*;9:5813–24. 2003.
126. Sedlis, A. et al. A randomized trial of pelvic radiation therapy versus no further therapy in selected patients with stage IB carcinoma of the cervix after radical hysterectomy and pelvic lymphadenectomy: A Gynecologic Oncology Group Study. *Gynecol. Oncol.* 73, 177–183.1999.
127. Alliance for Cervical Cancer Prevention. Planning and Implementing Cervical Cancer Prevention and Control Programs. A Manual for Managers., 7-8. 2004.
128. Ministerio de Salud de la Republica Argentina. *Encuesta Nacional sobre salud sexual y reproductiva*. [En línea], 2005, [Consultado 02 de Febrero 2018], Disponible en la URL: http://www.msal.gov.ar/images/stories/bes/graficos/0000000729cnt-ENCUESTA_NACIONAL_sobre_salud_sexual_y_reproductiva.pdf
129. Muñoz N, Franceschi S, Bosetti C, Moreno V, Herrero R, Smith JS, et al. Role of parity and human papillomavirus in cervical cancer: the IARC multicentric case-control study. *Lancet* ;359:1093–102. 2002.
130. Programa Nacional de Consensos Inter-Sociedades / Programa Argentino de Consensos de Enfermedades Oncológicas. *CONSENSO NACIONAL INTER-SOCIEDADES SOBRE CÁNCER DE CUELLO UTERINO*. 2015. [Consultado 04 de Marzo de 2018], Disponible en la URL: http://www.socargcancer.org.ar/consensos/2015_inter_soc_cancer_cervix.pdf

131. Aragona A, Soderini A, Moschen H, Bonavia E, Garrido R, Cuneo N. Elevada mortalidad por cáncer cérvico-uterino en mujeres jóvenes del área metropolitana de Buenos Aires. *MEDICINA (Buenos Aires)*; 78: 234-242. 2018.
132. Ye Q, Yuan HX, Chen HL. Responsiveness of neoadjuvant chemotherapy before surgery predicts favorable prognosis for cervical cancer patients: a meta-analysis. *J Cancer Res Clin Oncol*;139(11):1887-98. 2013.
133. Benedetti P, Basile S, Angioli R. Pelvic and aortic lymphadenectomy in cervical cancer: The standardization of surgical procedure and its clinical impact. *Gynecol Oncol*;113(2):284–90. 2009.
134. Sakuragi N. Up-to-date management of lymph node metastasis and the role of tailored lymphadenectomy in cervical cancer. *Int J Clin Oncol*;12:165–75. 2007.
135. Kodama J1, Kusumoto T, Nakamura K, Seki N, Hongo A, Hiramatsu Y. Factors associated with parametrial involvement in stage IB1 cervical cancer and identification of patients suitable for less radical surgery. *Gynecol Oncol*;122(3):491-4. 2011.
136. Reyes H, Thiel K, Carlson M, Meng X, Yang S, Stephan J, et al. Comprehensive Profiling of EGFR/HER Receptors for Personalized Treatment of Gynecologic Cancers. *Mol Diagn Ther*;18(2):137-51. 2014.
137. Soonthornthum T, Arias-Pulido H, Joste N, Lomo L, Muller C, Rutledge T, Verschraegen C. Epidermal growth factor receptor as a biomarker for cervical cancer. *Ann Oncol*; 22(10):2166–78.2011.
138. Berchuck A, Rodriguez G, Kamel A, Soper JT, Clarke-Pearson DL, Bast RC Jr. Expression of epidermal growth factor receptor and HER-2/neu in normal and neoplastic cervix, vulva, and vagina. *Obstet Gynecol*; 76:381–7. 1990.
139. Nicholson, R. I., Gee, J. M. & Harper, M. E. EGFR and cancer prognosis. *Eur. J. Cancer* 37: (Suppl. 4), 9–15.2001.
140. Chang, M. Hsieh, W. Chang, A. Chiang, and J. Chen. Determining the optimal number and location of cutoff points with application to data of cervical cancer. *PLoS one*, 12 (4).2017.
141. Takeda N, Sakuragi N, Takeda M, et al. Multivariate analysis of histopathologic prognostic factors for invasive cervical cancer treated with radical hysterectomy and systematic retroperitoneal lymphadenectomy. *Acta Obstet Gynecol Scand*, 81:1144-1151, 2002.
142. Hu J, Han S, Kim YS, Nam JH, et al: A nomogram predicting the risks of distant metastasis following postoperative radiotherapy for uterine cervical carcinoma: A Korean radiation oncology group study (KROG 12-08). *Radiother Oncol*. 111:437–441. 2014.

143. Biewenga P, Van der Velden J, Mol B, Stalpers L, Schilthuis M, Van der Steeg J, Burger M, Buist M. Prognostic model for survival in patients with early stage cervical cancer *Cancer*, 117, 768-776. 2011.
144. Colombo N, Carinelli S, Colombo A, Marini C, Rollo D, Sessa C. Cervical cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 23 Suppl 7: 27-32. 2012.
145. Fadare O, Yi X, Liang SX, Ma Y, Zheng W. Variations of mitotic index in normal and dysplastic squamous epithelium of the uterine cervix as a function of endometrial maturation. *Mod Pathol*;20:1000–8. 2007.
146. Wells M, Ostor AG, Crum CP, et al. Epithelial tumours. Tavassoli FA, Devilee P (eds). World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and Genetics of Tumours of the Breast and Female Genital Organs. IARC Press: Lyon, , 260–279. 2003.
147. Nagai, N., Oshita, T., Fujii, T., Kioka, H., Katsube, Y., Ohama, K. Prospective analysis of DNA ploidy, proliferative index and epidermal growth factor receptor as prognostic factors for pretreated uterine cancer. *Oncology Reports* 7.3: 551-560. 2000.
148. Horn LC, Höhn AK, Hentschel B, Fischer U, Bilek K, Brambs C. Prognostic relevance of low-grade versus high-grade FIGO IB1 squamous cell uterine cervical carcinomas. *J Cancer Res Clin Oncol.*;145(2):457-462. 2019.
149. Brambs CE, Höhn AK, Hentschel B, Fischer U, Bilek K, Horn LC. The Prognostic Impact of Grading in FIGO IB and IIB Squamous Cell Cervical Carcinomas. *Geburtshilfe Frauenheilkd.*;79(2):198-204. 2019.
150. Ryu SY, Kim MH, Nam BH, et al. Intermediate-risk grouping of cervical cancer patients treated with radical hysterectomy: a Korean Gynecologic Oncology Group study. *Br J Cancer*;110:278–85. 2014.
151. Morice P, Piovesan P, Rey A, et al. Prognostic value of lymphovascular space invasion determined with hematoxylin-eosin staining in early stage cervical carcinoma: results of a multivariate analysis. *Ann Oncol*;14:1511–7.2003.
152. Milam MR, Frumovitz M, dos Reis R, et al. Preoperative lymph-vascular space invasion is associated with nodal metastases in women with earlystage cervical cancer. *Gynecol Oncol*;106:12–5. 2007.
153. Yan M, Zhang YN, He JH, et al. Influence of lymph vascular space invasion on prognosis of patients with early-stage cervical squamous cell carcinoma. *Chin J Cancer*;29:425–30. 2010.
154. Ramirez PT, Pareja R, Rendon GJ, et al. Management of low-risk earlystage cervical cancer: should conization, simple trachelectomy, or simple hysterectomy replace radical surgery as the new standard of care? *Gynecol Oncol*;132:254–9. 2014.

155. Park JY, Kim DY, Kim JH, et al. Further stratification of risk groups in patients with lymph node metastasis after radical hysterectomy for early stage cervical cancer. *Gynecol Oncol*;117:53–8. 2010.
156. Sopracordevole F, Chiossi G, Barbero M, et al. Surgical approach and long-term clinical outcome in women with microinvasive cervical cancer. *Anticancer Res*;34:4345–9. 2014.
157. Szala S.: Angiogeneza i immunosupresja: jin i jang progresji nowotworów? *Postępy Hig. Med. Dośw.*; 63: 598–612.2009.
158. Shen L, Shui Y, Wang X, et al. EGFR and HER2 expression in primary cervical cancers and corresponding lymph node metastases: implications for targeted radiotherapy, *BMC Cancer* , vol. 8 pg. 232. 2008
159. Noordhuis MG, Eijsink JJ, Ten Hoor KA et al. Expression of epidermal growth factor receptor (EGFR) and activated EGFR predict poor response to chemoradiation and survival in cervical cancer. *Clin Cancer Res*; 15: 7389–7397. 2009.
160. Kersemaekers AM, Fleuren GJ, Kenter GG, et al. Oncogene alterations in carcinomas of the uterine cervix: overexpression of the epidermal growth factor receptor is associated with poor prognosis. *Clin Cancer Res*;5:577–86. 1999.
161. Fuchs I, Vorsteher N, Buhler H, et al. The prognostic significance of human epidermal growth factor receptor correlations in squamous cell cervical carcinoma. *Anticancer Res*;27:959–63. 2007.
162. Iida K, Nakayama K, Rahman MT, et al. EGFR gene amplification is related to adverse clinical outcomes in cervical squamous cell carcinoma, making the EGFR pathway a novel therapeutic target. *Br J Cancer*;105: 420– 427. 2011.
163. Bellone S, Frera G, Landolfi G et al. Overexpression of epidermal growth factor type-1 receptor (EGF-R1) in cervical cancer: implications for Cetuximab-mediated therapy in recurrent/metastatic disease. *Gynecol Oncol*; 106: 513–520. 2007.
164. Shen L, Shui Y, Wang X, et al. EGFR and HER2 expression in primary cervical cancers and corresponding lymph node metastases: implications for targeted radiotherapy, *BMC Cancer* , , vol. 8. 232. 2008.
165. Pii K, Andersen FG, Jensen S, Spaulding B. Characterization of a new monoclonal antibody, clone 2-18C9, for the measurement of Epidermal Growth Factor Receptor expression in solid tumors. *Am Assoc Canc Res 95th annual meeting, Abst #5029* Orlando, Fl Mar 27 – 31 2004.
166. Atkins D, Reiffen KA, Tegtmeier CL, Winther H, Bonato MS and Störkel S. Immunohistochemical detection of EGFR in paraffinembedded tumor tissues: Variation in staining intensity due to choice of fixative and storage time of tissue sections. *J Histochem Cytochem*; 52:893. 2004.

167. Goldstein NS, Armin M. Epidermal growth factor receptor immunohistochemical reactivity in patients with American Joint Committee on Cancer Stage IV colon adenocarcinoma: implications for a standardized scoring system. *Cancer*; 92:1331.2001.