



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ

FACULTAD DE MEDICINA

HOSPITAL CENTRAL “DR. IGNACIO MORONES PRIETO”

TRABAJO DE TESIS PARA OBTENER EL DIPLOMA EN LA ESPECIALIDAD DE
GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA.

**MEDICIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE ÁCIDO SIÁLICO
EN PACIENTES CON DIAGNÓSTICO DE MASAS
ANEXIALES: RELACIÓN ENTRE ENFERMEDAD BENIGNA
Y CÁNCER DE OVARIO**

DRA. ANA LAURA RAMÍREZ DE ÁVILA

ASESOR.

DR. JOSÉ DE JESUS ZERMEÑO NAVA

GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA, ONCOGINEGOLÓGÍA

CO – ASESORES.

DR. MARCO ULISES MARTINEZ MARTINEZ

MEDICINA INTERNA, REUMATOLOGÍA

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ
FACULTAD DE MEDICINA
ESPECIALIDAD EN GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA.

TÍTULO DE TESIS

**MEDICIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE ÁCIDO SIÁLICO EN
PACIENTES CON DIAGNÓSTICO DE MASAS ANEXIALES:
RELACIÓN ENTRE ENFERMEDAD BENIGNA Y CÁNCER DE
OVARIO**

PRESENTA

DRA. ANA LAURA RAMÍREZ DE ÁVILA

DIRECTOR CLÍNICO DR. JOSÉ DE JESUS ZERMEÑO NAVA GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA ONCOGINECOLOGIA	
DIRECTOR METODOLÓGICO DR. MARCO ULISES MARTÍNEZ MARTÍNEZ MEDICINA INTERNA REUMATOLOGÍA	
DIRECTOR METODOLÓGICO DR. HUGO RICARDO NAVARRO CONTRERAS LICENCIATURA EN FISICA	

<p>Presidente DR. WILLY TONATIUH ESCALANTE SILVA ONCOGINECOLOGÍA</p>	
<p>Sinodal DR. HECTOR ELIAS CERVANTES ROSAS GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA</p>	
<p>Sinodal DR. JESÚS MARIO CANSECO LIMA ONCOGINECOLOGÍA</p>	

<p>M. EN C. MA. DEL PILAR FONSECA LEAL JEFE DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO CLÍNICO DE LA FACULTAD DE MEDICINA.</p>	
<p>DR. SALVADOR DE LA MAZA LABASTIDA JEFE DE LA DIVISIÓN DE GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA.</p>	
<p>DR. JOSÉ DE JESÚS ZERMEÑO NAVA COORDINADOR DE POSTGRADO DE LA ESPECIALIDAD DE GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA.</p>	

RESUMEN

Antecedentes

El cáncer de ovario representa la tercera neoplasia ginecológica más frecuente a nivel mundial. Se utiliza el Ca125 como marcador sérico para la detección del cáncer ovárico, sin embargo se ha investigado otros biomarcadores para la detección temprana del cáncer de ovario, pudiendo ser complementarios al CA 125. Sabemos que en las células tumorales hay un aumento de los niveles de ácido siálico y que este se ha encontrado en concentraciones elevadas en sangre de pacientes con esta patología. Así, utilizando espectroscopia Raman se busca determinar las concentraciones de ácido siálico salival en pacientes con cáncer de ovario y mujeres con lesiones benignas para determinar si existe realmente un incremento en la concentración de ácido siálico, que nos permita determinar malignidad en las personas con diagnóstico de masa anexial y sintomatología inespecífica. Existen pruebas previas donde ya se ha determinado la concentración de ácido siálico en saliva de pacientes con diagnóstico de cáncer, en las cuales se ha encontrado cierta correlación, por lo que se pretende hacer una comparativa con mujeres diagnosticadas con lesiones benignas y las mujeres con cáncer de ovario para determinar si hay un incremento de este biomarcador en pacientes con diagnóstico de cáncer ovárico.

Objetivo

Determinar si existe una diferencia en la concentración de ácido siálico en saliva en pacientes con masas anexiales, que son positivas para cáncer de ovario a comparación de las pacientes con resultados benignos.

Material y Métodos

Se llevó a cabo un estudio transversal, observacional y analítico, que incluyó pacientes mayores de 18 años, con diagnóstico de masa anexial, el cual se realizó

por medio de ultrasonido transvaginal, y que fueron intervenidas quirúrgicamente durante el periodo de estudio. Se determinó la concentración salival de ácido siálico mediante espectroscopia, nivel sérico de Ca 125, y el cálculo de índice de riesgo de malignidad. Se recolectaron datos adicionales como edad, peso, talla, IMC, antecedentes familiares de cáncer, antecedentes ginecológicos, los cuales se utilizaron para el análisis descriptivo de la población. Se compraron las concentraciones de ácido siálico en ambos grupos con la prueba U de Mann Whitney. En cuanto a objetivos secundarios, se determinó el mejor punto de corte, así como sensibilidad, especificidad y valores predictivos.

Resultados

Se incluyeron 57 pacientes con diagnóstico de masa anexial que fueron intervenidas quirúrgicamente durante el periodo de estudio. De las 52 pacientes incluidas en el análisis, resultaron con masa anexial benigna 37 pacientes (71.2%) y 15 (28.8%) con cáncer de ovario. En las pacientes con masas anexiales benignas, la mediana de la concentración de ácido siálico fue de 3.2 mg/dl, mientras que aquellas con cáncer ovárico fue de 27.4 mg/dl ($p=0.0000$); con un punto de corte de 15.45mg/dl se tiene sensibilidad del 80% y especificidad de 100%, con área bajo la curva de 94.05%

Conclusiones

Se encontró una concentración significativamente mayor de ácido siálico en pacientes con diagnóstico de cáncer ovárico a comparación de la paciente con masa anexial benigna.

DEDICATORIAS

A ti, que me sensibilizaste como madre y médico, con todo mi amor y cariño; la vida está llena de momentos difíciles, aprende todo lo que puedas y sé el hombre que puedes llegar a ser.

*A mi hijo
Leonardo*

AGRADECIMIENTOS

A mis padres, por brindarme siempre su apoyo incondicional, en todos los ámbitos de mi vida, para que pudiera llegar a esta etapa de mi vida, por motivarme siempre y darme la mano cuando pasaba por momentos difíciles, siempre mi corazón y agradecimiento.

A mi esposo por apoyarme siempre en los días difíciles de esta etapa, que aunque no fue fácil, siempre me ayudaste hasta donde tus alcances lo permitían, con tu gran paciencia para que pudiera dar este paso tan importante para nosotros, te lo agradezco muchísimo.

A cada uno de mis maestros que influyeron con sus lecciones y experiencias en formarme como ginecóloga, así como hacer de la especialidad una aventura con grato aprendizaje.

A mis asesores de tesis por su gran paciencia y enseñanza; a mis compañeros residentes que me ayudaron durante la tesis, a mis compañeras de trabajo en el CIACYT que siempre me apoyaron, a todos ellos que crearon un ambiente con visión, motivación y optimismo.

Gracias por el tiempo y apoyo que me brindaron incondicionalmente; a todos y cada uno de ellos les dedico cada página de esta tesis.

RECONOCIMIENTOS

Los autores reconocen el apoyo financiero de Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) México, a través del Proyecto Problemas Nacionales (No. 2015-01-986), de FAI-UASLP, acceso a Laboratorio Nacional de Análisis Físicos, Químicos y Biológicos UASLP.

ÍNDICE

RESUMEN	I
DEDICATORIAS	II
AGRADECIMIENTOS	III
RECONOCIMIENTOS	IV
ANTECEDENTES.	1
JUSTIFICACIÓN.	5
HIPÓTESIS.	6
OBJETIVOS.	7
MATERIALES Y MÉTODOS.	8
ANÁLISIS ESTADÍSTICO.	12
ÉTICA.	13
RESULTADOS.	16
DISCUSIÓN.	21
LIMITACIONES Y/O NUEVAS PERSPECTIVAS DE INVESTIGACIÓN.	23
CONCLUSIONES.	24
BIBLIOGRAFÍA.	25
ANEXOS.	28

ÍNDICE DE CUADROS

Tabla 1. Características demográficas.....	17
Tabla 2. Comparación entre ambos grupos.....	18
Tabla 3. Sensibilidades y Especificidades.....	20

ÍNDICE DE GRÁFICAS

Gráfica 1. Concentraciones de ácido siálico en ambos grupos.....	18
Gráfica 2. Curva ROC para ácido siálico y Ca 125.....	19

LISTA DE ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS

AO: Anticonceptivos orales

AS: Ácido siálico

DIU: Dispositivo intrauterino

EPI: Enfermedad pélvica inflamatoria

IMC: Índice de masa corporal

IRM: Índice de riesgo de malignidad

OT: Oclusión tubaria

Rpm: Revoluciones por minuto

TC: Tomografía computarizada

SOP: Síndrome de ovario poliquístico

ANTECEDENTES.

El cáncer de ovario representa la tercera neoplasia ginecológica más frecuente a nivel mundial con 225 500 nuevos casos y 140 200 muertes en el 2008. En México, en 2003, se registraron más de 4,000 casos nuevos y representó la cuarta causa de muerte por cáncer en la población femenina¹. El 90% de los tumores malignos de ovario son de tipo epitelial (seroso, endometriode, mucinoso, células claras), el resto se origina de células germinales y otras estirpes ováricas. La incidencia aumenta con la edad, siendo un promedio de diagnóstico entre los 50 y 70 años de edad.²

Aunque no existe una etiología específica, existen factores de riesgo para cáncer de ovario como: mutaciones de BRCA1 y BRCA2, Síndrome de Lynch, antecedente familiar de cáncer de ovario, infertilidad, Síndrome de Ovario Poliquístico (SOP), endometriosis, tabaquismo, Dispositivo intrauterino (DIU); entre los factores asociados a disminución del riesgo para cáncer ovárico son: uso de anticonceptivos orales (AO), oclusión tubaria(OT), lactancia y embarazo.³⁻⁵

El cáncer epitelial avanzado de ovario típicamente se presenta con distensión abdominal, náuseas, anorexia o saciedad temprana debido a la presencia de ascitis y metástasis intestinales o intestinales; disnea se presenta ocasionalmente debido a un derrame pleural. Sin embargo la sintomatología es totalmente inespecífica, lo que retrasa el diagnóstico y por lo tanto, detectándose la mayoría de los casos en etapas clínicas avanzadas (etapas clínicas III y IV), lo cual representa un pronóstico desfavorable ya que la supervivencia en estos casos es tan solo de 5-20% a cinco años, siendo recurrente en más del 70% de los casos.⁶⁻¹⁰

No existe un método de tamizaje para la población general, lo que dificulta el diagnóstico temprano, sin embargo los beneficios que pudiera encontrarse en el tamizaje, sería identificar el cáncer de ovario en una etapa temprana, como una

enfermedad localizada, lo que llevaría a una reducción de la mortalidad ya que la sobrevivida a cinco años en estas etapas alcanza hasta 90-95%.¹¹

Entre las pruebas evaluadas para el cáncer de ovario incluyen la medición de ciertos marcadores tumorales como es el CA- 125, la ultrasonografía o una combinación de ambas modalidades; por otra parte se sabe que el tamizaje por tomografía computada(TC), no es eficaz en el diagnóstico de etapas tempranas de la enfermedad en mujeres asintomáticas.¹² Los marcadores tumorales han captado especial interés, ya que es una prueba no invasiva, se repiten con facilidad en el tiempo y son relativamente baratos en comparación con los estudios de imagen; de los más utilizados se encuentra como se menciona previamente, el CA 125, el cual se eleva solamente en el 50% en etapas tempranas y hasta el 80% de etapas avanzadas¹³, sin embargo su especificidad es muy limitada ya que se eleva hasta en 1% de mujeres asintomáticas, pudiendo elevarse también en condiciones como son: endometriosis, leiomiomas ,cirrosis, enfermedad pélvica inflamatoria (EPI), cáncer de endometrio, pulmón, mama y páncreas, y derrame pleural, sin embargo se ha visto que este puede dar falsos positivos en mujeres pre menopáusicas con lesiones benignas.¹⁴

Se ha investigado otros biomarcadores para la detección temprana del cáncer de ovario, pudiendo ser complementarios al CA 125, con lo que pueden ofrecer una mayor sensibilidad y especificidad que el CA 125 solo, aun así en la actualidad no existe ningún método aislado o en combinación que pudieran servir para tamizaje en la población en general.

En nuestro hospital, en el año del 2016 se encontraron un total de 92 pacientes con diagnóstico de masa anexial, de las cuales se 22 pacientes se reportaron positivas para cáncer, lo que representa un 25% del total.

Ac siálico

Una de las características de las células tumorales malignas es la producción de compuestos glicosilados con alto contenido de ácido N-acetilneuramínico conocido como ácido siálico(AS). El ácido siálico es un componente estructural de la membrana celular, derivado del ácido neuramínico. Una de las características del fenotipo tumoral es alteración en los patrones de glicosilación e incremento en la sialilación global debido a un aumento en la actividad de la sialiltransferasa. De esta manera el ácido siálico se ha visto aumentado en presencia de procesos tumorales, por lo que se ha propuesto utilizarlo como marcador tumoral.¹⁵

El nivel de ácido siálico sanguíneo en pacientes sanas se ha visto que es alrededor de 80 U/ml, mientras que en pacientes con diagnóstico de cáncer de ovario se eleva hasta una media de 119 U/ml. Se ha reportado una mayor concentración de este compuesto en pacientes con diagnóstico de cáncer de ovario en etapas clínicas tempranas a comparación de la elevación que se produce del Ca 125 en estos estadios, pudiendo jugar un papel importante como marcador en el diagnóstico temprano; encontrando también una sensibilidad de ácido siálico sérico para cáncer de ovario de 87% y especificidad de 82.4%.¹⁶ Puede elevarse en otros tipos de procesos neoplásicos como cáncer de mama, pulmón, cabeza ,cuello, melanoma y leucemia.¹⁷⁻²⁰

Por otra parte, la técnica Raman consiste en medir la dispersión inelástica de luz por moléculas acopladas a superficies metálicas, en las cuales su sección eficaz de dispersión de luz se ve fuertemente realzada, por el acoplamiento con el campo eléctrico que producen los plasmones superficiales excitados en el metal. Esta técnica puede alcanzar una sensibilidad suficiente para determinar concentraciones hasta el nivel de una sola molécula adherida a una nano partícula de plata.²¹⁻²³

Esta técnica no se ha utilizado para medición de ácido siálico salival en pacientes con cáncer de ovario, pero en nuestro hospital se cuenta con el antecedente de



haber realizado un estudio dónde se utiliza la técnica previamente descrita para la comparación de niveles de ácido siálico en saliva de pacientes sanas y pacientes con cáncer de mama, donde se observó que la media de la concentración salival de este compuesto en pacientes sanas es de 3.7mg/dl con desviación estándar (DS) de 1.17 y la mediana para el grupo de cáncer de 18.4 mg/dl con una desviación estándar de 9,4. ²⁴

Dadas estas ventajas, hemos emprendido una línea de investigación, para utilizar esta técnica en aplicaciones para detectar moléculas que sean características en algunos procesos o afecciones biológicas.



JUSTIFICACIÓN.

El cáncer de ovario representa la neoplasia ginecológica más agresiva, con alta morbilidad y mortalidad, al no existir tamizaje, la evaluación de las masas anexiales en la práctica ginecológica representan un dilema para su manejo y diagnóstico. El ginecólogo debe de ser capaz de diferenciar entre masa anexial benigna y maligna; aquellas con alta probabilidad de malignidad tienen que identificarse para un manejo especializado. Las herramientas con las que se cuenta en la actualidad son limitadas y no identifican estadios tempranos.

A pesar de que se ha encontrado elevaciones de ácido siálico en suero en pacientes con cáncer de ovario, no se ha confirmado esta correlación en saliva. Con esta técnica intentamos establecer una manera fácil, segura y no invasiva que nos permita tener identificado aquellas pacientes con sospecha de cáncer.

La capacidad de encontrar a la enfermedad en una etapa temprana, proporciona una justificación atractiva para el desarrollo de estrategias de tamizaje que pudieran ser igualmente eficaces. La validación de este tipo de pruebas puede dar al clínico un elemento rápido, no invasivo que sirva de utilidad tanto para el diagnóstico en pacientes con sospecha de cáncer como en el seguimiento de las mismas para de esta manera monitorizar la respuesta a los múltiples tratamientos.



HIPÓTESIS.

Existen diferencias en los niveles de ácido siálico salival, se eleva en pacientes con diagnóstico de cáncer de ovario, mientras en pacientes con masas anexiales benignas es menor.



OBJETIVOS.

Objetivo general

Determinar si existe una diferencia en la concentración de ácido siálico en saliva en pacientes con masas anexiales, que son positivas para cáncer de ovario a comparación de las pacientes con resultados benignos.

Objetivos específicos

Determinar la concentración de ácido siálico en mujeres con diagnóstico de masa anexial mediante la técnica Raman.

Comparar las concentraciones entre pacientes con cáncer y patología benigna.

Objetivos secundarios

Comparar la concentración de ácido siálico vs Ca 125 solo

Comparar la concentración ácido siálico vs Índice de riesgo de malignidad

Evaluar la concentración de ácido siálico que tiene mejor sensibilidad y especificidad para la distinción entre masas anexiales benignas y malignas.

MATERIALES Y MÉTODOS.

1.1 DISEÑO DEL ESTUDIO

Estudio transversal, observacional y analítico

1.2 LUGAR DE REALIZACIÓN:

Hospital central “Dr. Ignacio Morones Prieto” por la División de Ginecología y Obstetricia, Servicio de Ginecología.

CIACyT-UASLP (Coordinación para la Investigación y la Aplicación de la Ciencia y la Tecnología), en el Área CARIEM (Centro de Aplicación de la Radiación Infrarroja, Energías Alternativas y Materiales) en el laboratorio de espectroscopia Raman

1.3 UNIVERSO, UNIDADES DE OBSERVACION, METODOS DE MUESTREO, Y TAMAÑO DE LA MUESTRA.

Pacientes del servicio de Ginecología y Obstetricia del Hospital Central Dr. “Ignacio Morones Prieto”, que se encuentran en estudio por diagnóstico de tumoración anexial que sean candidatas a tratamiento quirúrgico de 1 de Julio del 2017 al 31 de Diciembre del 2017.

Muestreo no probabilístico por conveniencia.

1.4 CRITERIOS DE SELECCIÓN:

Inclusión:

- a) Diagnóstico ultrasonográfico de masa anexial
- b) Sin tratamiento previo
- c) Pacientes con diagnóstico ultrasonográfico de masa anexial a quien se le resecó la masa quirúrgicamente

Exclusión:

- a) Diagnóstico de cáncer previo
- b) Segundo primario
- c) Embarazadas

Eliminación:

- a) Antecedente de enfermedad periodontal

1.5 VARIABLES EN EL ESTUDIO

CUADRO DE VARIABLES

Variable	Definición operacional	Valores posibles	Unidades	Tipo de variable
Concentración de ácido siálico	Cantidad de ácido siálico en la saliva.	0-100	mg/dl	Continua
Independiente				
Tipo histológico	Tipo histológico determinado por patología en biopsia de tumor.	1. Benigno 2. Maligno	-	(Categorica 2)

*De manera secundaria se realizará la recolección de los siguientes datos: edad, peso, talla, IMC, comorbilidades, antecedentes ginecológicos y obstétricos, nivel de Ca 125, IRM (índice de riesgo de malignidad), los cuales se utilizarán para el análisis descriptivo de la población y para cumplimiento de objetivos secundarios y solamente se tomará en cuenta la variable de tipo histológico y nivel de CA 125 para el objetivo principal del estudio.

1.6 CÁLCULO DEL TAMAÑO DE LA MUESTRA.

Programa R con la función Power, con diferencias en las medias de 18.4 en el grupo de pacientes con cáncer y de 3.7 en pacientes sanas, con DS de 9.8 con un nivel de significancia de 0.05 y un poder del 90%, obteniendo así el tamaño de la muestra de 10 pacientes por grupo.

1.7 PLAN DE TRABAJO

Se invitó a participar a todas las pacientes de la consulta externa de ginecología con diagnóstico de masa anexial, a quien se le realizó una intervención quirúrgica para tratamiento de la patología anexial. Se les explicó las generalidades del proyecto y que era una investigación de bajo riesgo y en caso de que no quisieran participar o continuar en la investigación podrían abandonar en cualquier momento el estudio.

A las pacientes que aceptaron, firmaron el consentimiento informado, se les explicó el tipo de muestras que se requirió, que información se obtuvo de ellas y la interpretación de resultados que recibirían al finalizar el estudio.



Recolección de la muestra:

Se requirió de un proceso de higiene bucal el cual constó de un cepillado de dientes, seguido de un enjuague bucal, para lo cual se proporcionó un cepillo, pasta y enjuague bucal sin ningún costo para la paciente. Posterior a la limpieza se proporcionó un vial de plástico, estéril, en el cual la paciente depositó la cantidad de 0.5 a 1 ml de saliva. Posterior a la recolección se mantuvo la muestra en refrigeración a 4°C hasta que se procesara (podría almacenarse hasta 1 mes a partir de la recolección).

Para el procesamiento de la muestra se transportó en una hielera, manteniendo la temperatura previamente descrita, al CIACYT donde se centrifugó a 6000 rpm (revoluciones por minuto) y posteriormente se obtuvo el sobrenadante de la muestra. Una vez obtenido se mezcló con nano partículas de plata, para lograr realzar la señal y que fuera detectado mediante técnica Raman; posteriormente se pasó por un baño ultrasónico para asegurar que la solución fuera homogénea y las partículas tuvieran una adecuada dispersión.

Se midió el ácido siálico comercial con nano partículas de plata en diversas concentraciones, medidos en mg/dl para calibrar la medición. Posteriormente se realizó la medición de las muestras obtenidas.

Se obtuvo una señal y se comparó mediante el programa OriginLab. Obteniendo las concentraciones de cada muestra.

Los resultados obtenidos fueron entregados de manera personal en sobre cerrado y respetando la confidencialidad de cada participante.



ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

Se describieron las variables continuas como media y desviación estándar o mediana y rango intercuartílico según la distribución; las variables categóricas se expresarán como porcentajes. Se compararon las concentraciones de ácido siálico en ambos grupos con la prueba de T de student o la U de Mann Whitney según la distribución por grupo. Las variables categóricas se compararon con la prueba de X^2 o la prueba exacta de Fisher.

En cuanto a los objetivos secundarios se incluyó a las pacientes y se determinó el mejor punto de corte. Se determinó sensibilidad, especificidad y valores predictivos. Nos apegamos a las guías STARD de pruebas diagnósticas.

El análisis estadístico se realizó en el programa R y R studio para Mac, versiones más recientes.

ÉTICA.

El presente estudio fue sometido y aprobado por el Comité de Ética del Hospital Central “Dr. Ignacio Morones Prieto”.

El cuestionario y la toma de muestra que se realizaron se consideran de riesgo menor por lo que no transgredieron las normas de la conferencia de Helsinki de 1964 y su revisión de 2013.

Se obtuvo el consentimiento de los pacientes por escrito a través de un documento en donde se especifica el objetivo del estudio, los métodos y las técnicas utilizadas. A cada una de las pacientes se les explicó en qué consistía el estudio y las encuestas utilizadas, la participación de las pacientes fue voluntaria y no influyó en el manejo de su enfermedad. Posteriormente, se les pidió que leyeran el consentimiento informado y quedando sin dudas al respecto se les pidió que firmaran el documento. Se aseguró la confidencialidad de los datos obtenidos.

Debido a que se realizó estudios en humanos, este estudio se apegó a lo que se considera y concierne a la Ley General de Salud de México en cuyo Título Quinto Capítulo único, investigación para la salud Artículo 100, referente a la investigación en seres humanos, en los apartados III y IV, se señala que “podrá efectuarse solo cuando exista una razonable seguridad de que no expone a riesgos ni daños innecesarios al sujeto en experimentación” y que “se deberá contar con el consentimiento por escrito”.

Lo anterior coincide con lo dispuesto en la Ley de Salud del Estado de San Luis Potosí, en el artículo 84, fracciones III “Podrá efectuarse solo cuando exista una razonable seguridad de que no expone a riesgos, ni daños innecesarios al sujeto en experimentación”.

La carta de consentimiento informado fue diseñada conforme a los lineamientos establecidos en la siguiente normatividad:

1. Norma Oficial Mexicana NOM-012-SSA3-2012. Que establece los criterios para la ejecución de proyectos de investigación para la salud en seres humanos.
2. Código Civil Mexicano. Obligaciones en general sobre el consentimiento informado Artículos 1803 y 1812



RECURSOS HUMANOS Y MATERIALES

Participaron en el proyecto el médico Residente de Ginecología y Obstetricia de cuarto año Dra. Ana Laura Ramírez De Ávila quien fue el investigador principal; M.C. Aida Catalina Hernández Arteaga quien realizó la determinación de la concentración de ácido siálico salival mediante la espectroscopia Raman; el Dr. Marco Ulises Martínez Martínez quién realizó el análisis estadístico y como director de tesis al Dr. José de Jesús Zermeño Nava.

Se contó con el equipo necesario para las pruebas SERS así como los laboratorios necesarios y químicos para la producción de partículas de plata en el área del CARIEM, por la M.C. Aída Catalina Hernández Arteaga.

CAPACITACIÓN DE PERSONAL

Capacitación de personal: No se requiere capacitación para la toma de muestras, el procesamiento de las muestras fué por la M.C. Aida Catalina Hernández Arteaga.

FINANCIAMIENTO:

Interno por el Departamento de Ginecología y Obstetricia y el CIACYT.

Externo: Proyecto en Problemas Nacionales para estudio del Ácido Siálico No. 986. “Efecto Raman realizado por superficies de nano partículas metálicas para diagnóstico temprano y no invasivo de cáncer en mujeres”.

Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Monto \$ 2 000 000.00

FACTIBILIDAD

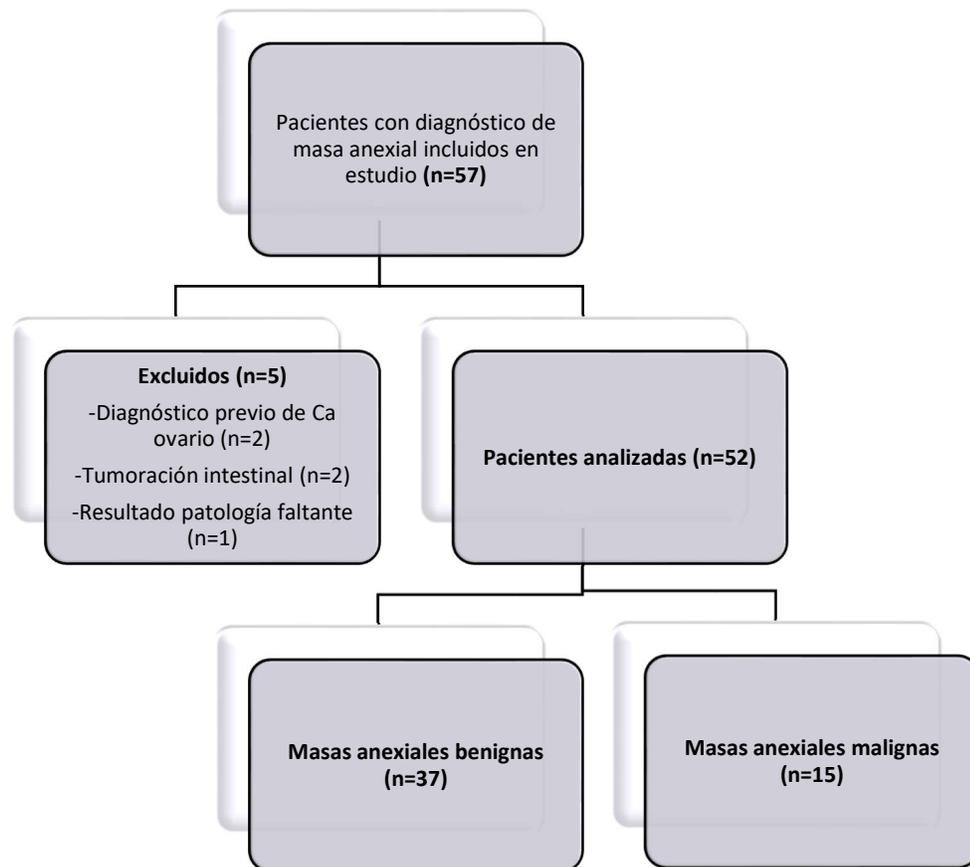
En nuestro hospital, en el año del 2016 se encontraron un total de 92 pacientes con diagnóstico de masa anexial, de las cuales 22 pacientes se reportaron positivas para cáncer, lo que representa un 25% del total, siendo similar en años anteriores, por lo que se considera factible realizar el estudio.

CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

Etapas	Tiempo en meses			
	Oct 2016- Febrero 2017	Mar 2017- Mayo2017	Junio 2017-Octubre 2017	Octubre 2017- Diciembre 2017
Desarrollo del anteproyecto de investigación				
Valoración y Autorización por el comité de ética e Investigación				
Reclutamiento de pacientes				
Análisis y Resultados				

RESULTADOS.

Del 1 de Julio al 31 de Octubre del 2017, se incluyeron 57 pacientes con diagnóstico de masa anexial a quienes se les realizó intervención quirúrgica durante el periodo de estudio, de las cuales 52 pacientes cumplieron con los criterios de inclusión, cinco fueron excluidas, 2 por diagnóstico de masa anexial al momento del ingreso, sin embargo ya contaban con antecedente de cáncer ovárico, 2 con resultado histopatológico de tumoración intestinal no ginecológica, 1 paciente por falta de resultado de patología. **Flujo de participantes.**



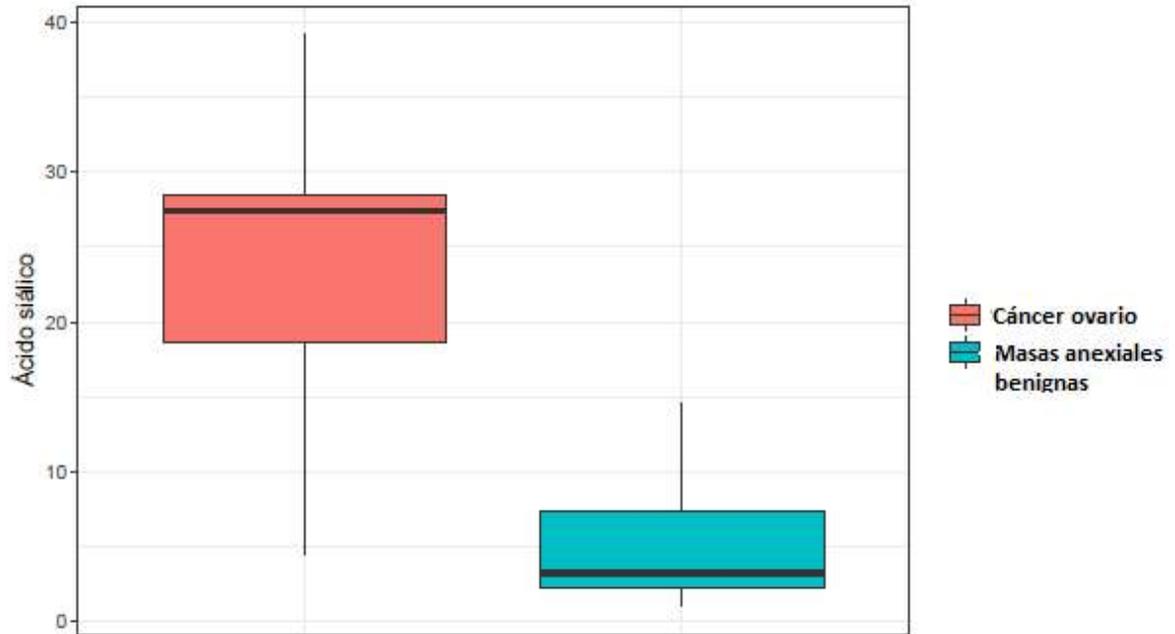
Flujo de participantes 1

Las características demográficas de las pacientes se muestran en la **Tabla 1**. La edad media de las pacientes analizadas fue 41 años (rango de 18-77 años), una media del Índice de Masa Corporal (IMC) de 26.98 Kg/m² (rango de 19-38Kg/m²).

Variable	Mínima	Mediana	Media	Máxima	RIQ
Edad	18	36.5	41.02	77	25.5
IMC	19	27	26.98	38	6
Menarca	10	13	13.38	18	2
Paridad	0	1	2	12	2.2
Ca 125	8	47.55	356.29	3758	154.2
As	1.013	6.195	10.24	39.2	10.9

Tabla 1. Características demográficas. IMC=Índice de masa corporal, As= ácido siálico. RIQ= Rango intercuartílico

De las 52 pacientes incluidas en el análisis, de acuerdo al resultado de patología, resultaron con masa anexial benigna 37 pacientes (71.2%) y 15 (28.8%) con cáncer de ovario. En el grupo de pacientes de masas anexiales benignas, la mediana de la concentración de ácido siálico salival fue de 3.2mg/dl, mientras que en el grupo de cáncer ovárico fue de 27.4mg/dl, lo que resultó en una diferencia significativa entre ambos grupos (p=0.0000). **Gráfica 1**



Gráfica 1. Concentraciones de ácido siálico salival (mg/dl) en pacientes con cáncer ovárico y pacientes con masas anexiales benignas.

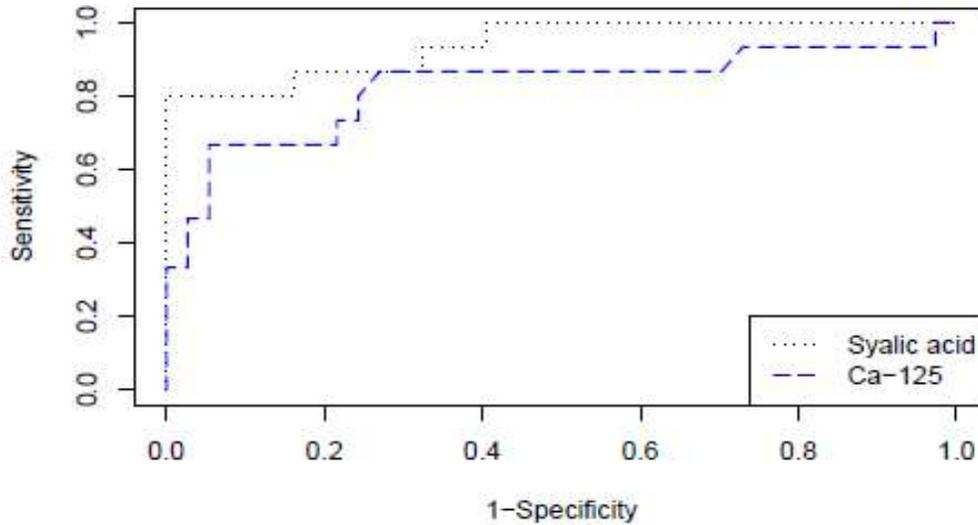
Se midió también el valor de Ca 125 en ambos grupos siendo de 34 en el grupo con resultado benigno, mientras en el grupo con malignidad fue de 320 ($p= 0.0003$); en ambos grupos no hubo una correlación significativa entre ambos grupos para IMC, paridad ni menarca. **Tabla 2**

Variable	Grupo 1 (n=37)	Grupo 2 (n=15)	Valor p
Edad	32±20	53±28.5	0.014**
IMC	28±7	25±4	0.0745**
Menarca	13±2	13±3	0.7491**
Paridad	1±2	2±3	0.6524**
Ca 125 (U/ml)	34±33	320±1585.4	0.0003**
As (mg/dl)	3.2±5	27.4±9.9	0.0001**
Ritmo irregular	6(16.2%)	2(13.3%)	1*

IRM >200	4(10.8%)	12(80%)	0.0001*
EM post	6(16.2%)	8(53.3%)	0.0133*

Tabla 2. Comparación entre ambos grupos. Grupo 1=Masa anexial benigna; Grupo 2= masa anexial maligna; IMC: Índice de masa corporal, As: ácido siálico, IRM: Índice de riesgo de malignidad, EM: estado menopáusico. * χ^2 Chi-cuadrada; ** Prueba U de Mann Whitney

Dentro del análisis secundario, se estableció el mejor punto de corte en la curva ROC para sensibilidad y especificidad que fue 15.45, con una sensibilidad del 80% y una especificidad del 100%, encontrando un área bajo la curva de 0.9405; se determinó también el área bajo la curva con la concentración de CA 125, la cual fue de 0.8252. **Gráfica 2.**



Grafica 2. AUC para ácido siálico 94.05%; AUC para CA 125 82.52%.

Dentro de los objetivos secundarios, se comparó la concentración de ácido siálico con Ca 125 y contra el Índice de riesgo de malignidad (IRM), enfatizando la especificidad elevada que tiene el ácido siálico a comparación de Ca 125. **Tabla 3**

Prueba	Sensibilidad	Especificidad	VPP	VPN
Ca 125	87%	54%	43%	91%
IRM (Índice de riesgo de malignidad)	87%	89%	76%	94%
Ácido siálico	80%	100%	100%	92%

Tabla 3. Sensibilidad y Especificidad para concentración salival de ácido siálico, Ca 125 e IRM.

DISCUSIÓN

De acuerdo a la Sociedad Americana de Cáncer se encuentra en el 2017 un total de 22, 440 nuevos casos de cáncer de ovario ocasionando un total de 14, 080 muertes.²⁵

En este estudio reportamos la concentración de ácido siálico salival en pacientes con diagnóstico de masa anexial, medido mediante espectroscopia. Se encontró una concentración significativamente más elevada (27.4mg/dl) en aquellos pacientes con cáncer ovárico comparado con pacientes cuyo resultado fue benigno (3.2mg/dl), lo que correlaciona con lo descrito en la literatura, donde el ácido siálico se eleva de manera significativa en cáncer ovárico¹⁴⁻¹⁷, sin embargo los estudios existentes en la literatura describen concentraciones séricas de ácido siálico.

La concentración de ácido siálico encontrada en este estudio, en pacientes con patología benigna, es similar a la reportada en un estudio en pacientes sanas.²⁴

La edad fue una variable que resultó estadísticamente significativa ya que es de esperarse que el cáncer epitelial ovárico se presente en mujeres de edad más avanzada, como esta descrito en la literatura.⁵ No hubo una relación significativa en cuanto a paridad ni menarca en ambos grupos.

La búsqueda de un nuevo marcador para cáncer de ovario se motiva por un deseo de identificar la enfermedad en etapa temprana. Se encuentra en la literatura varios estudios de marcadores que han sido estudiados para ayudar a un diagnóstico precoz de esta patología,^{6,7,13} y aunque, estudiados tanto solos como en combinación con otros, en la mayoría de las ocasiones se elevan ya en una etapa avanzada de la enfermedad, sin embargo en la literatura se describe que el ácido siálico llega a elevarse desde etapas tempranas de la enfermedad.¹⁶ Al comparar el ácido siálico en este estudio contra Ca 125, se encuentra que si bien, la sensibilidad es parecida, siendo mayor para Ca 125, la especificidad se eleva de manera significativa a comparación de la especificidad del Ca 125, como se demuestra en la tabla 3, donde también se puede ver un valor predictivo positivo bastante alto para el ácido siálico. Con un punto de corte de 15.45mg/dl para ácido



siálico, con lo que, se determinó el área bajo la curva del siendo mayor al compararla con el Ca 125 (94.05% vs. 82.5%) con una sensibilidad y especificidad de 80 y 100% respectivamente, pudiendo ser considerado como marcador no invasivo para el diagnóstico de cáncer de ovario.

En este estudio, aunque con una muestra pequeña de pacientes, la detección del ácido siálico salival, demostró utilidad en distinguir masas anexiales malignas y benignas, elevándose de manera significativa en pacientes con malignidad, pudiendo decir que la concentración se afecta en menor grado por patologías ginecológicas benignas, que el Ca 125.

Hasta ahora no contamos con un estudio donde se mida ácido siálico salival como marcador para cáncer ovárico, si bien, hay varios estudios donde se ha determinado como marcador sérico donde se demuestra su elevación en patología maligna de ovario, mejor sensibilidad y especificidad que Ca125.



LIMITACIONES Y/O NUEVAS PERSPECTIVAS DE INVESTIGACIÓN.

Nuestros resultados comprobaron que el ácido siálico salival se eleva en pacientes con cáncer ovárico, sin embargo el estudio se limita principalmente por el tamaño de la muestra.

Surge la necesidad de identificar un marcador tumoral que pueda identificar al cáncer ovárico de manera temprana ya que condiciona para el paciente un pronóstico mucho más favorable, pudiendo determinar en un futuro un nuevo índice de riesgo de malignidad, para poder elevar la sensibilidad y especificidad de detección de cáncer ovárico.

Está también como perspectiva determinar la correlación del nivel salival de ácido siálico en el postquirúrgico, así como con el estadio del cáncer ovárico.



CONCLUSIONES

Las concentraciones salivales de ácido siálico se elevan de manera significativa en pacientes con diagnóstico de cáncer ovárico, pudiendo determinar malignidad ovárica en pacientes que llegan con masa anexial.

BIBLIOGRAFÍA.

1. Gallardo-Rincón, Dolores, et al. "Tercer Consenso Nacional de Cáncer de Ovario 2011. Grupo de Investigación de Cáncer de Ovario y Tumores Ginecológicos en México'GICOM'." *Rev Inv Clin* 2011; 63(6) 665-702.
2. Clarke-Pearson, D. L. Screening for ovarian cancer. *New England Journal of Medicine*, 2009; 361(2), 170-177.
3. Schorge, John O., et al. SGO White Paper on ovarian cancer: etiology, screening and surveillance. *Gynecologic oncology*, 2010; 119(1), 7-17.
4. Finch, Amy, et al. Clinical and pathologic findings of prophylactic salpingo-oophorectomies in 159 BRCA1 and BRCA2 carriers. *Gynecologic oncology*, 2006; 100(1), 58-64.
5. Banks, E., Beral, V., & Reeves, G. The epidemiology of epithelial ovarian cancer: a review. *International Journal of Gynecological Cancer*, 1997; 7(6), 425-438.
6. El Bairi, Khalid, et al. Emerging diagnostic, prognostic and therapeutic biomarkers for ovarian cancer. *Cellular Oncology*, 2016, p. 1-14.
7. Goff, B. A., Mandel, L., Muntz, H. G., & Melancon, C. H. Ovarian carcinoma diagnosis. *Cancer*, 2000; 89(10), 2068-2075.
8. Olson, Sara H., et al. Symptoms of ovarian cancer. *Obstetrics & Gynecology* 2001;98(2): 212-217.
9. Goff, Barbara A., et al. Frequency of symptoms of ovarian cancer in women presenting to primary care clinics. *Jama* 2004; 291(22): 2705-2712.
10. Goff, Barbara A., et al. Development of an ovarian cancer symptom index. *Cancer* 2007; 109(2): 221-227.

11. American College of Obstetricians and Gynecologists Committee on Gynecologic Practice. Committee Opinion No. 477: the role of the obstetrician-gynecologist in the early detection of epithelial ovarian cancer. *Obstet Gynecol* 2011; 117(3):742-6
12. Pickhardt PJ, Hanson ME Incidental adnexal masses detected at low-dose unenhanced CT in asymptomatic women age 50 and older: implications for clinical management and ovarian cancer screening. *Radiology*. 2010;257(1):144-50.
13. Eagle, K., & Ledermann, J. A. Tumor markers in ovarian malignancies. *The Oncologist*, 1997; 2(5), 324-329.
14. Dong, X., et al. Advances in tumor markers of ovarian cancer for early diagnosis. *Indian journal of cancer* 2014; 51(7): 72.
15. Narayanan, Sheshadri. Sialic acid as a tumor marker. *Annals of Clinical & Laboratory Science* 1994; 24(4);376-384.
16. Li, Pei-long, et al. Combined detection of sialic acid and hydroxyproline in diagnosis of ovarian cancer and its comparison with human epididymis protein 4 and carbohydrate antigen 125. *Clinica Chimica Acta* 439 2015: 148-153.
17. Kökoğlu, E., et al. Sialic acid levels in various types of cancer. *Cancer biochemistry biophysics* 1992; 13(1): 57-64.
18. Sönmez, H., et al. Tissue and serum sialidase levels in breast cancer. *Cancer letters* 1999;136(1): 75-78.
19. Marth, Egon, et al. Sialic acid as a marker for differentiation between benign and malignant intracranial tumors. *Clinica chimica acta* 1998; 176(3) : 251-257.
20. Schauer, Roland. Sialic acids and their role as biological masks. *Trends in Biochemical Sciences* 1985;10(9): 357-360.
21. Nie, Shuming, and Steven R. Emory. Probing single molecules and single nanoparticles by surface-enhanced Raman scattering. *Science* 1997; 275(5303): 1102-1106.



22. Han, Xiao X., Bing Zhao, and Yukihiro Ozaki. Surface-enhanced Raman scattering for protein detection. *Analytical and bioanalytical chemistry* 2009; 394(7): 1719-1727.
23. Munro, C. H., et al. Characterization of the surface of a citrate-reduced colloid optimized for use as a substrate for surface-enhanced resonance Raman scattering. *Langmuir* 1995;11(10): 3712-3720.
24. Hernández-Arteaga, Aida, et al. "Diagnosis of breast cancer by analysis of sialic acid concentrations in human saliva by surface-enhanced Raman spectroscopy of silver nanoparticles." *Nano Research* 2017;10.11 3662-3670.
25. Rebecca L. Siegel, Kimberly D. Miller and Ahmedin Jemal. Cancer Statistics 2017. *CA Cancer Journal for Clinicians* 2017;00:00–00.



ANEXOS.

ANEXO 1

HOJA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

“MEDICIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE ÁCIDO SIÁLICO EN PACIENTES CON DIAGNÓSTICO DE MASAS ANEXIALES: RELACIÓN ENTRE ENFERMEDAD BENIGNA Y CANCER DE OVARIO”

No. Paciente/No. Folio

Edad: _____ Peso: _____ Estatura:

Domicilio:

Teléfono: _____

Ocupación:

¿Padece de alguna(s) enfermedad(es)?: Sí No

¿Cuál(es)?:



¿Toma algún(os) medicamento(s)?: Sí No

¿Cuál(es)?:

¿Padece de problemas bucales (caries, aftas, etc.)? Sí No

¿Cuál(es)?:

¿Fuma Actualmente? Sí No

¿Consume Drogas? Sí No

¿Tiene antecedente familiar de cáncer de ovario? Sí No

M: _____ RITMO: _____ FUM: _____ G: _____ P: _____ C _____ A: _____

IVSA _____ MAC(previo o actual) _____

Observaciones:



ANEXO 2

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO.

Hospital Central “Dr. Ignacio Morones Prieto”

Comité de Ética en Investigación

Título: *“Medición de la concentración de ácido siálico en pacientes con diagnóstico de masa anexial: relación entre enfermedad benigna y cáncer de ovario”*

San Luis Potosí, S.L.P. Fecha: 6 Marzo 2017

El Departamento de Ginecología y Obstetricia del Hospital Central Dr. Ignacio Morones Prieto está realizando la investigación antes mencionada, con el objetivo de determinar la concentración de ácido siálico (una sustancia en la saliva) en mujeres con diagnóstico de masa anexial (el diagnóstico que a usted le ha mencionado su médico), este estudio se realizará en las instalaciones del hospital antes mencionado.

Si usted acepta participar en el estudio le pediremos que nos otorgue una muestra de saliva, para la cual, previamente debe realizarse un lavado de dientes con cepillo y pasta dental, posterior al cepillado se harán gárgaras por 30 segundos con enjuague bucal. Una vez finalizado este proceso se recolectara 1.5mL de saliva en el recipiente proporcionado previamente etiquetado con sus datos. Una vez hecha la recolección de saliva se tapará el recipiente y se entregará a la persona responsable de la toma de muestras. Este procedimiento se realizará en el área de ginecología y Obstetricia del Hospital Central Dr. “Ignacio Morones Prieto”

Beneficios:

Usted no recibirá un beneficio directo, sin embargo, estará colaborando con el centro de investigación de dicha Institución, probablemente en un futuro servirán para escrutinio o tamizaje de otros pacientes.

Potenciales riesgos/compensación:

Los riesgos potenciales que implican su participación en este estudio son mínimos. Si alguna de las preguntas la hicieran sentir incómoda, tiene el derecho de no responderla. El personal que realiza el estudio está altamente capacitado. Usted no recibirá ningún pago por participar en el estudio y tampoco implicará un costo hacia su persona

Participación o retiro:

La participación en este estudio es absolutamente voluntaria Usted está en la libertad de negarse a participarse y en cualquier momento y sin necesidad de dar ninguna explicación, puede revocar el consentimiento que ahora firma. Su decisión



de participar o no, no afectará de ninguna forma los procedimientos necesarios para atender su enfermedad que reciba en la institución.

Privacidad y confidencialidad:

La información obtenida será mantenida bajo estricta confidencialidad de acuerdo a lo establecido por la ley. Se dará la debida confidencialidad con un código numérico en estos documentos, sin la publicación, identificación o divulgación de sus datos personales. La información y el acceso a todos los resultados solo la conocerá el responsable del proyecto y los investigadores colaboradores, y será utilizado sólo para propósitos de investigación. Los datos que se publiquen serán a manera científica y no son de ninguna manera datos personales por lo que se mantendrá la confidencialidad. Los archivos que contengan información acerca de los participantes serán almacenados sin nombre y todos los registros del estudio se mantendrán bajo llave o en archivos de computadora que sólo serán accesibles con el uso de contraseña confidencial. Los archivos serán destruidos o borrados después de que el estudio esté finalizado.

Se le solicita que indique su acuerdo o desacuerdo para que los investigadores responsables de este proyecto puedan revisar su expediente clínico y utilizar los datos clínicos que se encuentran descritos en el mismo, de manera anónima para este protocolo de investigación cuyos objetivos y procedimientos se le han explicado. Marque con una X su respuesta.

Sí, doy mi autorización a los investigadores que participan en este proyecto para el uso de mis datos clínicos en la investigación que me han explicado.

No doy mi autorización a los investigadores que participan en este proyecto para el uso de mis datos clínicos en la investigación que me han explicado.

Cláusula de uso de material biológico

Todo el material biológico obtenido de sus muestras para este estudio se utilizará únicamente para los propósitos explicados en este documento de consentimiento informado y no se utilizarán para obtener ácidos nucleicos o para establecer líneas celulares permanentes, diferenciadas o para mantener las células indefinidamente. Asimismo, en ninguna circunstancia las muestras podrán ser analizadas con motivos de identificación. El material biológico será destruido al finalizar este estudio.

Por medio de la presente entiendo y acepto:

Participar en el proyecto de investigación previamente mencionado.

En caso de dudas o aclaraciones relacionadas con el estudio podrá dirigirse con:



Investigador responsable: Dra. Ana Laura Ramírez de Ávila
Departamento de Ginecología y Obstetricia, Hospital Central “Dr. Ignacio Morones Prieto”
Tel o Cel.4448296724

Dr. Josué Sidonio Rodríguez Cuevas
Presidente del Comité de Ética en Investigación Hospital Central “Dr. Ignacio Morones Prieto”
Av. Venustiano Carranza 2395, Col. Zona Universitaria, San Luis Potosí, S.L.P.,
C.P. 78290, Tel (444) 8 34 27 01, Ext. 1710

Nombre y firma del participante

Nombre y firma de quien obtiene el consentimiento

TESTIGO 1

TESTIGO 2

Nombre y Firma

Nombre y Firma

Parentesco

Parentesco

Dirección

Dirección



Universidad Autónoma de San Luis Potosí
Facultad de Medicina
Tesis para obtener el Diploma de la Especialidad en Ginecología y Obstetricia

ANEXO 3

CARTA DE AUTORIZACIÓN DEL COMITÉ DE ÉTICA