

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE NICARAGUA
UNAN, MANAGUA.
FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS.**

**HOSPITAL ESCUELA ANTONIO LENIN FONSECA.
DEPARTAMENTO DE OTORRINOLARINGOLOGÍA.**



**TESIS PARA OPTAR AL TÍTULO DE ESPECIALISTA EN
OTORRINOLARINGOLOGÍA.**

TEMA:

SUPRESIÓN GENÉTICA DE LA GLUTATIÓN-S-TRANSFERASA M-1, COMO
EXPRESIÓN DEL CARCINOMA DE CÉLULAS ESCAMOSAS DE LARINGE EN
PACIENTES ATENDIDOS POR EL SERVICIO DE OTORRINOLARINGOLOGÍA,
ENTRE FEBRERO-DICIEMBRE DEL 2016.

AUTOR:

Dr. Juan Francisco Martínez Espinoza.
Médico y Cirujano General.
Médico Residente de otorrinolaringología.

TUTORES:

Dra. Daysi Mariana Enríquez Pérez.
Médico y Cirujano General.
Especialista en Otorrinolaringología.

TUTOR METODOLÓGICO:

Lic. Miurel Johana Hernández Díaz.
Licenciada en Enfermería con mención Paciente Crítico.
Master en Enfermería con mención Docencia.

Managua, Nicaragua Enero 2017

DEDICATORIA.

A Dios por darme vida, salud, voluntad y por mostrarme día a día que con humildad, paciencia y sabiduría todo es posible.

A mi madre Ileana Espinoza, porque creyó en mí, me sacó adelante, dándome ejemplos dignos de superación y entrega.

A mi esposa Tania Zamora, y mis hijos por la comprensión y paciencia de todos esos días que no compartí con ellos fechas importantes, por la fortaleza que han desarrollado en mí.

A mis amigos, y compañeros residentes gracias por haber fomentado en mí el deseo de superación, el anhelo del triunfo en la vida, y por lo que han hecho de mí.

A todos mis docentes del servicio de otorrinolaringología, por haber enseñado de la mejor manera todos sus valiosos conocimientos.

A todos, espero no defraudarlos y contar siempre con su valioso apoyo, sincero e incondicional.

AGRADECIMIENTO.

Me gustaría que estas líneas sirvieran para expresar mis más profundas y sinceras palabras.

Agradezco a Dios Todo poderoso por su infinito amor, misericordia y bondad, y darme la vida, la inteligencia y la perseverancia para alcanzar una meta más.

Agradezco a todas aquellas personas que con su ayuda han colaborado en la realización del presente trabajo, en especial a la Dra. Daysi Mariana Enríquez Pérez, y al Dr. Francisco Bonilla por la orientación, el seguimiento y la supervisión continúa de la misma, pero sobre todo por la motivación y el apoyo recibido.

Al Dr. Allan Pernudi M.Sc. PhD. responsable del laboratorio de Biología Molecular de la UNAN-Managua por habernos apoyado con la culminación de este estudio quien nos brindó las herramientas claves para su realización.

A nuestros queridos maestros del servicio de otorrinolaringología quienes son testigo de nuestro esfuerzo de superación. A nuestros amigos/as y compañeros/as residentes que siempre nos brindaron su apoyo.

Un agradecimiento muy especial merece la comprensión, paciencia y el ánimo recibido de mi familia y amigos.

A todos ellos, muchas gracias!

“Una persona con una nueva idea es una broma, hasta que la idea tiene éxito...”

Francisco Martínez.



RESUMEN.

El presente informe de tesis, trata sobre supresión genética de la glutatión-s-transferasa M-1, como factor de riesgo del carcinoma de células escamosas de laringe en pacientes atendidos por el servicio de otorrinolaringología, entre febrero -diciembre del 2016.

El estudio es analítico, prospectivo y de corte transversal, tomando como universo total a 16 pacientes que fueron atendidos en el servicio de otorrinolaringología, de los cuales 8 son casos de pacientes con carcinoma de células escamosas, y 8 con tumoraciones benignas que son los controles. Se utilizó un instrumento: un cuestionario para la recolección de información. Los resultados fueron procesados haciendo uso de la estadística descriptiva, complementando el análisis con lo planteado en la revisión bibliográfica.

Los principales resultados de este estudio reflejan que en muestra de tejido el gen GSTT1 está ausente en 5 de 8 (62.5%) en pacientes con cáncer de laringe y en 4 de 8 (50%) en pacientes sanos. El gen GSTM1 está ausente en 7 de 8 (87.5%) en pacientes con cáncer de laringe y en 5 de 8 (62.5%) en pacientes sanos y en muestras de sangre el gen GSTT1 está ausente en 3 de 8 (37.5%) en pacientes con cáncer de laringe y en 1 de 8 (12.5%) en pacientes sanos. El gen GSTM1 está ausente en 8 de 8 (100%) en pacientes con cáncer de laringe y en 3 de 8 (37.5%) en pacientes sanos.

Es necesario desarrollar estrategias en donde se involucre no solo al estado sino también a las diferentes ONG que tengan la proyección social de apoyar este tipo de estudio, para que en un futuro cercano se les pueda realizar esta prueba, como tamizaje a los grupos vulnerables y de esta manera contribuir a la detección temprana y oportuna de todos aquellos pacientes que están en riesgo de desarrollar cáncer laríngeo.



ÍNDICE.

| | |
|--|-----------|
| Contenido | |
| I. INTRODUCCIÓN..... | 1 |
| II. ANTECEDENTES..... | 3 |
| III. JUSTIFICACIÓN..... | 5 |
| IV. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA. | 6 |
| V. OBJETIVOS..... | 7 |
| VI. MARCO TEÓRICO..... | 8 |
| VII. DISEÑO METODOLÓGICO | 21 |
| 1.1 Tipo de Estudio: | 21 |
| 1.2 Área de Estudio: | 21 |
| 1.3 Universo: | 21 |
| 1.4 Unidad de Análisis: | 22 |
| 1.5 Criterios de Inclusión fueron los siguientes: | 22 |
| 1.6 Criterios de Exclusión: | 22 |
| 1.7 Variables | 22 |
| 1.8 La fuente de Información | 23 |
| 1.10 Recolección de la Información: | 24 |
| 1.11 Recolección de la muestra:..... | 24 |
| 1.12 Procesamiento de los Datos: | 25 |
| 1.13 Validación de Instrumento (prueba piloto): | 25 |
| 1.14 Plan de análisis:..... | 25 |
| 1.15 Presentación de Datos: | 25 |
| 1.16 Aspecto Ético: | 25 |
| VIII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN..... | 30 |
| IX. CONCLUSIONES | 51 |
| X. RECOMENDACIONES | 53 |
| XI. BIBLIOGRAFÍA | 54 |
| XII. ANEXOS..... | 56 |



ÍNDICE DE TABLAS.

| Núm. de tabla | Contenido | Núm. de pagina |
|---------------|--|----------------|
| Tabla 1 | Edad de los pacientes con tumoraciones laríngeas | 60 |
| Tabla 2 | Genero de los pacientes con tumoraciones laríngeas | 60 |
| Tabla 3 | Nivel de escolaridad de los pacientes | 61 |
| Tabla 4 | Procedencia de los pacientes | 61 |
| Tabla 5 | Ocupacion de los pacientes | 61 |
| Tabla 6 | Pacientes que presentan patologías concomitantes | 62 |
| Tabla 7 | Cantidad de cigarros consumidos por los pacientes | 62 |
| Tabla 8 | Frecuencia en la ingesta de alcohol | 62 |
| Tabla 9 | Procedimiento realizado a los pacientes | 63 |
| Tabla 10 | Síntomas que presentaron los pacientes al momento de su primera consulta | 63 |
| Tabla 11 | Clasificación de tumoraciones laríngeas de los pacientes | 63 |
| Tabla 12 | Tipo de tumoración laríngea benigna | 64 |



ÍNDICE DE GRÁFICOS.

| Núm. de grafico | Contenido | Núm. de pagina |
|-----------------|--|----------------|
| Grafico 1 | Edad de los pacientes con tumoraciones laríngeas | 30 |
| Grafico 2 | Genero de los pacientes con tumoraciones laríngeas | 32 |
| Grafico 3 | Nivel de escolaridad de los pacientes | 33 |
| Grafico 4 | Procedencia de los pacientes | 35 |
| Grafico 5 | Ocupacion de los pacientes | 36 |
| Grafico 6 | Pacientes que presentan patologías concomitantes | 38 |
| Grafico 7 | Cantidad de cigarros consumidos por los pacientes | 40 |
| Grafico 8 | Frecuencia en la ingesta de alcohol | 41 |
| Grafico 9 | Procedimiento realizado a los pacientes | 43 |
| Grafico 10 | Supresión de los genes GSTT1/GSTM1 en muestras de tejido laríngeo | 44 |
| Grafico 11 | Supresión de los genes GSTT1/GSTM1 en muestras de sangre | 45 |
| Figura 1 | Resultado de análisis de PCR multiplex | 46 |
| Grafico 12 | Síntomas que presentaron los pacientes al momento de su primera consulta | 47 |
| Grafico 13 | Clasificación de las tumoraciones laríngeas | 48 |
| Grafico 14 | Tipo de tumoraciones laríngeas | 49 |



ACRÓNIMOS Y ABREVIATURAS.

| | |
|-------|---|
| ORL: | Otorrinolaringología |
| GST: | Glutation S-transferasa |
| TGF: | Factor de crecimiento |
| CYP: | Citocromo P450 |
| PCR: | Reacción en cadena de polimerasa |
| HNC: | Cáncer de cabeza y cuello |
| RT: | Radioterapia |
| ARN: | Ácido ribonucleico |
| ADN: | Ácido desoxirribonucleico |
| EDTA: | Etilendiaminotetraacético |
| PBS.: | Phosphate Buffered Saline |
| SPSS: | Statistics statistical procederes companion |
| LSCC | carcinoma de células escamosas de laringe |



I. INTRODUCCIÓN.

La Glutación S-transferasa (GSTs) es una familia de enzimas citosólicas involucrada en la detoxificación de diversos exógenos, así como endógenos, reactiva la función GSTs de especies GSTs. como dímeros de catalizar la conjugación de sustratos electrófilos mutagénicos para glutatión. En los seres humanos, 4 principales subfamilias de GST pueden ser distinguido y se designan como GSTA, GST μ , GSTu, y GSTp. Cada una de estas subfamilias está compuesta de varios miembros, algunas de las cuales muestran polimorfismo genético. Dentro de GST μ subfamilia, el gen que codifica GSTM1 exhibe una delección de polimorfismo, que en el caso de homocigosis (GSTM1 null) conduce a la ausencia de la enzima con actividad fenotípica. Un mecanismo similar es descrito para GSTT1 dentro de la subfamilia GSTu, mientras que el gen que codifica para GSTP1, un miembro de la subfamilia SGPC, muestra polimorfismos dentro de su región de codificación en el codón 105 (Ile105Val) y codón 114 (Ala114Val). La región de codificación de polimorfismos dentro de GSTP1 se han sugerido para conferir diferentes actividades catalítica de carcinógenos ambientales importantes (por ejemplo, el benzo pireno y otros hidrocarburos aromáticos policíclicos) son desintoxicados a través de la GST. ⁽⁴⁾

En este contexto, las diferencias interindividuales en GST la actividad enzimática mediada por los genes polimórficos se han sugerido para conferir susceptibilidad a la variable ambiental cáncer. Varios grupos han investigado la asociación de GSTM1, GSTT1 y GSTP1 genotipo, estado con diversos tumores malignos tal como cáncer relacionado con fumado, de pulmón y de vejiga, mama, o cáncer gastrointestinal. Algunos de estos estudios observaron un aumento del riesgo para los individuos con genotipos GST con una menor actividad de enzima GST, también pueden conferir resistencia a agentes quimioterapéuticos citotóxicos utilizados para tratar cáncer. ^(4,5).

El carcinoma de células escamosas de laringe (LSCC) es el cáncer más frecuente de cabeza cuello y constituye aproximadamente un tercio de todos los casos. Los mecanismos moleculares exactos de patogénesis y la progresión de este tumor no se explican hasta ahora. La carcinogénesis es un proceso de múltiples etapas controlado por muchas citoquinas, incluyendo factores de crecimiento. Transformando el factor de crecimiento β



(TGF- β) el cual es un regulador principal, que tiene un doble papel en el desarrollo de tumores: por un lado, inhibe el crecimiento del tumor en las primeras etapas, y por el otro lado, promueve el crecimiento tumoral en etapas posteriores. ⁽¹⁾

El carcinoma in situ es la forma más temprana del cáncer. La mayoría de estos inicios de cáncer se puede curar, pero si el carcinoma in situ no se trata, se puede transformar en cáncer invasivo de células. ^(6,7)



II. ANTECEDENTES.

A nivel nacional, hasta la fecha no se han realizado investigaciones relacionadas al estudio, pero en el ámbito internacional Luego de realizar una investigación bibliográfica y electrónica se encontraron diferentes estudios que evidencian una relación directa e indirecta con el estudio:

Martín Stanulla, Annette Müller Brechlin, Martin Zimmermann, and Karl Welte, en el año 2000 realizaron un estudio sobre polimorfismos dentro de los genes de glutatión S-transferasa (GSTM1, GSTT1, GSTP1) y el riesgo de recaída en precursor de leucemia linfoblástica infantil aguda: un estudio de casos y controles en 472 pacientes, (348 pacientes tratados con éxito; 124 pacientes con recaída) el cual refleja que El genotipo GSTP1 Val105 / Val105 mostró una disminución de 3 veces en el riesgo de recaída en comparación con el combinado. No hay asociaciones particulares con la recaída fueron observados para el GSTP1 polimorfismo en el codón 114. El riesgo de recaída al tener 1 del bajo riesgo genotipos (GSTM1 nulo, GSTT1 nulo, GSTP1 Val105 / Val105) disminuyó de 1,9 veces y el riesgo al tener 2 o 3 de bajo riesgo genotipos de 3,5 veces en comparación con las personas que no tienen el genotipo de bajo riesgo.

Xiuchan Guo, Stephen J. O'Brien, Yi Zeng, George W. Nelson, and Cheryl A. Winkler en el año 2008 realizaron el estudio GSTM1 y GSTT1 Genes de supresión y el riesgo de carcinoma nasofaríngeo en Han china. El cual refleja a GSTM1 y GSTT1 como genes implicados en la desintoxicación de agentes potencialmente carcinogénicos pueden ser un factor de riesgo de carcinoma nasofaríngeo. Para investigar los papeles de variaciones genéticas de GSTM1 y GSTT1 en susceptibilidad de carcinoma nasofaríngeo en la población china, se realizó un estudio de casos y controles de 350 casos de carcinoma nasofaríngeo y 622 controles. GSTM1 y GSTT1 variantes de detección de genotipo mediante ensayos de PCR múltiplex. Análisis de regresión logística se utilizó para estimar la odds ratio y de confianza del 95% intervalos (IC 95%). No se encontró asociación significativa fue observado para cualquiera GSTM1- o genotipo GSTT1 nulo de forma independiente en la contribución a la nasofaringe con riesgo de carcinoma.

M Nosheen, M Ishrat, FA Malik, RM Baig, MA Kayani, en el año 2010 llevaron a cabo un estudio en relación a la Asociación de GSTM1 y GSTT1 Genes de supresión con el



Riesgo de Cáncer de Cabeza y Cuello en Pakistán: un estudio caso control, los cuales reflejan que las supresiones polimórficas de GSTM1 y GSTT1 genes implicados en la desintoxicación de agentes potencialmente cancerígenos pueden ser factores de riesgo para varios tipos de cáncer, incluyendo cáncer de cabeza y cuello (CCC). Se extrajo el ADN a partir de leucocitos de 388 pacientes con cáncer y 150 controles sanos por el procedimiento de fenol-cloroformo. La edad media de los casos y controles fue de 48 (+16.6) años, con una razón hombre-mujer de 1: 1. Cáncer de la cavidad oral (57%) fue más prevalente en la población de la muestra seguido de la faringe y la laringe (30% y 13% respectivamente). Estos resultados sugieren que los genotipos GSTM1 y GSTT1 nulo son factores de riesgo para el desarrollo HNC entre la población paquistaní.

Munindra Ruwali¹, Madhu Singh¹, Mohan C. Pant², and Devendra Parmar en el año 2011 llevaron a cabo un estudio sobre Polimorfismo en glutatión S-transferasa: susceptibilidad y el resultado del tratamiento para el cáncer de cabeza y cuello El estudio de casos y controles incluyó 500 casos en hombres y un número igual de controles sanos de sexo masculino, y se calcularon los intervalos de confianza del 95% (IC 95%) para la asociación entre los genotipos y el riesgo de cáncer. El estudio investiga la asociación del polimorfismo en la glutatión S-transferasa (GST) con la susceptibilidad para carcinoma de cabeza y cuello de células escamosas (HNSCC) y sus sitios, así como la respuesta al tratamiento en los casos de recibir quimioterapia (CT) y la combinación de CT-radioterapia (CT-RT). Un aumento en el riesgo de HNSCC y los cánceres de cavidad oral, laringe o faringe se observó en los casos con nula genotipos de GSTM1 GSTT1 o. La interacción del alcohol o el tabaco con los genotipos variantes de GSTM1 GSTT1 también dio lugar a un aumento significativo en el riesgo para HNSCC.



III. JUSTIFICACIÓN.

En la génesis del cáncer siempre existirán muchas interrogantes para los profesionales de la salud, lo que motiva el espíritu de la investigación para mejorar el conocimiento en relación al mismo. Todos somos formadores potenciales de células anormales pero nuestro código genético contiene genes responsables de controlar la producción de diversas enzimas que a diario eliminan estas células, al igual que se cuenta con enzimas detoxificantes que nos permiten eliminar sustancias tóxicas que son considerados como carcinógenos.

La supresión de estas enzimas detoxificantes, da la libertad a células anormales para que crezcan de forma desproporcionada y sin control, existen diversas sustancias carcinógenas, pero hay unas a las que estamos expuestos con mayor frecuencia en relación con otras, como lo son el humo de tabaco, ya sea como fumador pasivo o activo y la otra es el consumo del alcohol. Poseemos enzimas específicas que nos protegen a los cambios celulares que estimulan estas sustancias y la más específica de ellas es la Glutación S-transferasa.

Con el desarrollo de este trabajo investigativo se aspira a contribuir a la detección de la supresión genética de la glutación-s-transferasa M-1 y a la vez comprender la importancia que tiene para disminuir el riesgo de desarrollar carcinoma de células escamosas de laringe.

Este estudio es de vital importancia ya que además de conocer lo descrito anteriormente, permitirá mejorar la detección de forma temprana y segura a los pacientes que están en riesgo de desarrollar cáncer laríngeo.

Por lo antes mencionado se ha realizado este trabajo investigativo para brindar recomendaciones pertinentes y oportunas que sean útiles para la detección de supresión genética de la glutación-s-transferasa M-1 como factor de riesgo del carcinoma de células escamosas de laringe.



IV. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

La Glutatión S-transferasa posee diferentes actividades catalítica de carcinógenos ambientales importantes, incluyendo tabaco y alcohol, son desintoxicados a través de la GST, si hay supresión de estas enzimas su capacidad de destoxicación se pierde exponiendo a mayor riesgo para desarrollo de cáncer. ⁽⁴⁾

Los potenciales mecanismos de acción incluyen proliferación celular local, acción carcinogénica de metabolitos como acetaldehído, inducción de enzimas pro carcinogénicas, reducción de la protección del ácido retinoico, es por ello que como investigadores consideramos este estudio de suma importancia para conocer; ¿Cuál es la supresión genética de la glutatión-s-transferasa M-1 como expresión del carcinoma de células escamosas de laringe en pacientes atendidos por el servicio de otorrinolaringología entre febrero -diciembre del 2016?

De la pregunta del estudio se derivan las siguientes interrogantes:

1. ¿Cuáles son las características sociodemográficas de los pacientes atendidos por el servicio de Otorrinolaringología?
2. ¿Cuál es la relación genotípica de GST-M1 de pacientes con carcinoma y tumoraciones benignas de laringe atendidos por el servicio de Otorrinolaringología?
3. ¿Cuáles son las tumoraciones laríngeas según diagnóstico histopatológico en pacientes atendidos por el servicio de Otorrinolaringología?



V. OBJETIVOS.

5.1. Objetivo General:

Identificar la supresión genética de la Glutación-s-Transferasa M-1, como expresión del Carcinoma de Células Escamosas de Laringe en pacientes atendidos por el servicio de Otorrinolaringología, entre Febrero-Diciembre del 2016.

5.2. Objetivos Específicos:

- 1) Identificar las características sociodemográficas de los pacientes atendidos por el servicio de Otorrinolaringología.
- 2) Conocer la relación genotípica de GST-M1 de pacientes con carcinoma y tumoraciones benignas de laringe atendidos por el servicio de Otorrinolaringología.
- 3) Clasificar las tumoraciones laríngeas según diagnóstico histopatológico en pacientes atendidos por el servicio de Otorrinolaringología.



VI. MARCO TEÓRICO.

La Organización Mundial de la Salud define al cáncer como “un proceso de crecimiento y diseminación incontrolado de células que puede aparecer prácticamente en cualquier lugar del cuerpo, lo que mayoritariamente no se sabe es que el cáncer podría también definirse como una enfermedad del DNA, y que como consecuencia del daño en el DNA se afecta la proliferación celular con todas las consecuencias frecuentemente conocidas. Él es la molécula responsable de la transmisión hereditaria. Sin embargo, poco se sabe sobre las alteraciones que puede sufrir el DNA, de sus repercusiones, o de los mecanismos que utiliza el organismo para defenderse o reparar los daños a los que estamos habitualmente expuestos. Entendiendo los tipos de alteraciones y/o daños que puede sufrir el DNA es posible comprender el proceso de carcinogénesis. ⁽⁵⁾

ESTRUCTURA Y FUNCIÓN DE UN GEN

Actualmente se define como gen a un segmento de DNA que codifica para cualquier molécula con actividad biológica, no sólo proteínas. Así, encontramos genes que codifican para ribozimas (fragmentos de RNA que cortan y destruyen a otro RNA), RNA de transferencia (tRNA) necesarios para la síntesis de proteínas, micro-RNA (miRNA) o RNA con actividad reguladora de la expresión génica, entre otras, siendo las proteínas el producto principal. Funcionalmente, los genes están divididos en 2 regiones: (1) la región codificante y (2) la región promotora. Se llama región codificante al segmento de DNA que contiene la información que dará origen a una proteína. Por otro lado, la región promotora (o promotor) es un segmento de DNA localizado inmediatamente adelante o “rio arriba” de la región codificante, y que posee una función reguladora de la expresión génica.

El promotor es el responsable de que no todos los genes se expresen en todas las células del cuerpo. La región codificante a su vez está dividida funcionalmente en 2 tipos de segmentos; los exones y los intrones.. Los exones contienen la información genética cifrada mientras que los intrones no. Los intrones deben ser removidos, dejando únicamente a los exones alineados y ordenados. Este proceso se conoce como corte y empalme o “splicing” y genera una secuencia de RNA específica, más corta que su contraparte de DNA. El código genético y los tipos de alteraciones genéticas el DNA están compuestos



por los nucleótidos A, T, C y G. La combinación de estas cuatro “letras” en triadas llamadas codones, dan origen a una biblioteca genética con aproximadamente 27000 “libros” o genes, todo esto dentro de cada una de nuestras células nucleadas. Las distintas combinaciones de nucleótidos en diferentes codones dan finalmente origen a 23 aminoácidos. ^(4,5)

TIPOS DE ALTERACIONES GENÉTICAS

Nuestro organismo y nuestro DNA está sometido constantemente a la acción de agentes nocivos con capacidad de introducir alteraciones en la secuencia de nucleótidos; radiación UV, tabaco, polución ambiental, etc. Una secuencia de DNA puede sufrir tres tipos de alteraciones principales: 1. Sustituciones nucleotídicas. 2. Inserciones nucleotídicas. 3. Deleciones nucleotídicas.

Las sustituciones son remplazos de un nucleótido por otro. Algunas sustituciones pueden (o no) cambiar el aminoácido. Aquellas sustituciones que no cambian el aminoácido se denominan sustituciones sinónimas. Por otro lado, las inserciones y deleciones, como sus nombres indican, agregan o eliminan letras del código, generando un corrimiento en el marco de lectura genética. En otras palabras, desde el lugar de inserción (o deleción) nucleotídica en adelante se cambia el sentido del código, generándose una cadena peptídica completamente diferente a la originalmente codificada y/o generando una proteína más corta o truncada debido a la aparición aleatoria de un codón de término temprano. ⁽⁴⁾

MUTACIONES VERSUS POLIMORFISMOS

Cuando se piensa en alteraciones en el DNA es casi inevitable asociar el término “mutación”. El término mutación describe aquellas alteraciones nucleotídicas que producen un cambio drástico en la función de la proteína. Este cambio puede incluir pérdida total o parcial de la función de la proteína.

Las mutaciones pueden entonces producir alteraciones tanto por pérdida como por ganancia de función. Una mutación puede ser la responsable de la generación de una proteína truncada sin función, o alterar levemente la estructura tridimensional de la proteína, pudiendo afectar fuertemente la interacción con otras proteínas de un complejo proteico mayor. Algunas alteraciones nucleotídicas están presentes en más del 1% de la población



sin afectar la salud del individuo que la porta. Incluso, es posible que dichas alteraciones confieran una ventaja adaptativa frente al individuo que no la porta. Estas alteraciones se denominan polimorfismos y son responsables de la diversidad genética entre distintos individuos y/o étnicas entre distintas poblaciones.

Los portadores de este polimorfismo no son capaces de metabolizar el acetaldehído producido por la degradación del etanol. Aunque son perfectamente sanos, los portadores acumulan acetaldehído en la circulación con efectos disfóricos como náuseas y enrojecimiento facial, protegiéndolos contra el alcoholismo, problema de salud pública muy importante en Chile y Latinoamérica. Finalmente, se denominan variantes alélicas a aquellas alteraciones nucleotídicas con un efecto incierto o desconocido.

Dentro de los factores predisponentes a cáncer descritos en la literatura internacional, destacan las enzimas de biotransformación, fundamentales en la desintoxicación de xenobióticos, incluyendo agentes carcinogénicos.

Las enzimas de biotransformación constituyen las rutas de metabolización de xenobióticos y se dividen en Fase I y Fase II. La primera corresponde a las reacciones de oxidación, reducción e hidrólisis, aumentando la hidrofiliidad del compuesto con objeto que sea excretado. Si esta fase no es suficiente es posible que el metabolito obtenido de la Fase I ingresa a la Fase II, que corresponde principalmente a conjugaciones con sustancias endógenas como el ácido glucurónico, aminoácidos, ácidos grasos, glutatión, grupos metilo, sulfato o acetato, provocando la inactivación de dichos metabolitos y facilitando de esta manera su excreción.^(2,3)

Dentro de las enzimas de fase I involucradas, destacan la citocromo P450 CYP1A1 y entre las de fase II la glutatión-S-transferasa GSTM1, ambas involucradas en la carcinogénesis asociada a exposición a hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs- Ej. Benzo(a)pireno), nitrosaminas y dioxinas, tóxicos precancerígenos presentes en el humo del tabaco. Muchas de estas enzimas son polimórficas, lo que determina diferencias en la metabolización, y por ende, diferencias personales en la susceptibilidad a contraer cáncer de laringe ante la exposición a estos carcinogénicos.



En el ámbito internacional existen diferentes publicaciones que han tratado de correlacionar diversos polimorfismos con cáncer de vía aéreo-digestiva superior, con diversos resultados. Sin embargo, estos estudios no son extrapolables a la población nacional dada sus características étnicas. Estos ya han sido correlacionados con cáncer en vía aerodigestiva superior, pulmón y próstata en la población. Debido a lo anterior, existe la necesidad de estudiar alguna correlación con el cáncer de laringe en la población, dado el alto nivel de tabaquismo existente entre nuestros jóvenes, potenciales portadores de cáncer de laringe en el largo plazo. Las variantes polimórficas a estudiar corresponden al cambio nucleotídico T3801C en la región 3' de poli-adenilación del gen CYP1A1 que conduce a una variante de mayor expresión de la enzima. Por su parte, la variante de GSTM1 corresponde a una deleción homocigota del gen completo de esta enzima. En los últimos años múltiples estudios, han mostrado la influencia en la susceptibilidad a cáncer escamoso de laringe de los polimorfismos en los genes del citocromo P450, en especial CYP1A1. ^(2, 3,4)

La Glutatión S-transferasa (GSTs) es una familia de enzimas citosólicas involucrada en la detoxificación de diversos exógenos, así como endógenos, reactiva la función GSTs de especies GSTs. como dímeros de catalizar la conjugación de sustratos electrófilos mutagénicos para glutatión. En los seres humanos, 4 principales subfamilias de GST pueden ser distinguido y se designan como GSTA, GST μ , GSTu, y GSTp.³ Cada una de estas subfamilias está compuesta de varios miembros, algunas de las cuales muestran polimorfismo genético. Dentro de GST μ subfamilia, el gen que codifica GSTM1 exhibe una deleción de polimorfismo, que en el caso de homocigosis (GSTM1 null) conduce a la ausencia de la enzima con actividad fenotípica. Un mecanismo similar es descrito para GSTT1 dentro de la subfamilia GSTu, mientras que el gen que codifica para GSTP1, un miembro de la subfamilia SGPC, muestra polimorfismos dentro de su región de codificación en el codón 105 (Ile105Val) y codón 114 (Ala114Val). La región de codificación de polimorfismos dentro de GSTP1 se han sugerido para conferir diferente actividades catalítica de carcinógenos ambientales importantes (por ejemplo, el benzo [a] pireno y otros hidrocarburos aromáticos policíclicos) son desintoxicados a través de la GST. ⁽⁴⁾La mucosa de la laringe está formada por células planas llamadas escamosas, por lo que el tumor derivado de ellas se denominará carcinoma escamoso o epidermoide. Es el



tipo de cáncer más frecuente en esta localización. Pero, por otra parte, los cánceres de laringe se clasifican según la zona del órgano en la que se originen. Por esto, se habla de cáncer supra glótico, glótico o subglótico según donde esté localizado. ⁽¹⁾

Epidemiología

La incidencia de cáncer de cabeza y cuello para el año 2006 en EE.UU fue de aproximadamente 40 490 nuevos casos (siendo el 3 % de todos los tumores malignos del adulto), con una mortalidad de 11 170 pacientes. En Venezuela la mortalidad por cáncer de cabeza y cuello registrada para el año 2005 fue de 634 casos.

El cáncer de cabeza y cuello, independientemente de su localización, se asocia generalmente con un pronóstico ominoso. Se considera a este tipo de cáncer como una enfermedad de etiología multifactorial, describiéndose varios factores de riesgo que pueden aumentar su incidencia. De los factores universalmente conocidos que aumentan el riesgo de cáncer de cabeza y cuello se encuentran el consumo de tabaco y de alcohol. Igualmente existen un gran número de investigaciones que apoyan la evidencia de que los virus contribuyen en el desarrollo del carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello, entre ellos el virus de Epstein Barr, el cual se ha asociado con el carcinoma nasofaríngeo, y el virus del papiloma humano, relacionado con el carcinoma de laringe. ⁽¹⁾

Las células de la mucosa expuesta durante un tiempo prolongado a estos carcinógenos, comienzan a presentar cambios moleculares que posteriormente conllevan a cambios celulares, lo que se denomina proceso de carcinogénesis.

En vista que la exposición a los carcinógenos no solo ocurre en una sola área del tracto aero-digestivo superior, sino en toda la mucosa que lo conforma, pueden ocurrir en forma simultánea en varios sitios del tracto (esófago y pulmón inclusive), estos cambios de carcinogénesis. Esto explicaría la aparición de neoplasias en localizaciones lejanas al sitio original del tumor (segundos primarios) o la reaparición del tumor en la cicatriz de una cirugía, a pesar de haberse obtenido en ella márgenes histológicos amplios y claros (recaída o recurrencia). La tasa de recaídas y de segundos primarios en cabeza y cuello puede variar entre un 10 % a un 40 %. ^(1,2)



Este fenómeno es lo que se ha descrito con el concepto de “campo de cancerización”. El término de “campo de cancerización” fue postulado por primera vez por Slaughter y col., en su artículo publicado en 1953, que aunque no definieron un concepto como tal, dieron las primeras pistas de este fenómeno. Esta hipótesis sugería que después de exponer completamente el epitelio del tracto aero-digestivo superior a los carcinógenos se producen cambios citológicos y moleculares extensos lo que conduce a la aparición de múltiples neoplasias.

Algunos trabajos han realizado análisis moleculares del epitelio considerado histológicamente normal adyacente a carcinomas y han evidenciado la existencia de alteraciones genéticas tempranas o inestabilidad cromosómica. Las células genéticamente alteradas forman “poblaciones clonales” las cuales tienen una elevada tasa proliferativa, sin embargo, se acepta que es necesario el acúmulo de diferentes alteraciones genéticas para lograr que una célula molecularmente alterada progrese a una célula maligna. Esto explicaría que a pesar de que una célula posea diversos cambios moleculares, citológicamente sea de apariencia normal o quizás tenga solo cambios displásicos. ^(1,2)

La susceptibilidad de cáncer debido a la exposición química se espera que sea determinada por un fenotipo individual para varias enzimas, ambos activadores y detoxicadores relativos a ese compuesto o mezclas de compuestos. La valoración de una sola enzima o genotipo no puede ser suficiente, dado el número de enzimas metabolizadoras de carcinógenos ya identificadas y la complejidad de mezclas químicas a las que un individuo está expuesto. En algunos estudios, el riesgo relativo asociado con el desarrollo de cáncer estaba aumentado con todas las combinaciones diferentes de genotipos desfavorables (odds ratios entre 1.3 y 14 con las diferentes combinaciones). El riesgo es más alto cuando los genes activadores están implicados. La historia de fumador estaba fuertemente asociada con el desarrollo de cáncer pulmonar independiente de los genotipos individuales.

Otras observaciones interesantes apuntadas en ciertos estudios de pacientes con cáncer, es la alta incidencia en el pasado (22.2%) de otros cánceres primarios (principalmente cánceres del tracto aerodigestivo). Esto está en concordancia con algunos estudios que



implican al tabaco como un factor importante en los cánceres del tracto aerodigestivo superior incluyendo el oral, orofaringe, hipofaringe, laríngeo y cánceres esofágicos. Entre estos pacientes que habían heredado los genes “desfavorables”, la edad crítica en el momento de desarrollo de su cáncer pulmonar primario era 48.8 ± 11.1 años (vs. 60.18 ± 11.3 en todos los pacientes de cáncer de pulmón) y con una historia de fumador de 45 ± 28.9 paq/año (vs. 67.11 ± 31.6 en todos los pacientes de cáncer de pulmón). Estos resultados apoyan el papel de los polimorfismos genéticos modificando el riesgo individual de desarrollo de cáncer.^(5,6)

TUMORES BENIGNOS

Los tumores benignos de laringe son neoplasias con un potencial muy limitado o nulo de malignidad, y que comparadas con otras lesiones pseudotumorales, registran una incidencia muy baja en la población general, con la única excepción de los papilomas. Los tumores benignos pueden ser divididos de acuerdo al tejido del cual se originan, pudiendo agruparse en tumores de origen epitelial, vascular, muscular, adiposo, glandular, cartilaginoso o neural

CLASIFICACIÓN DE LOS TUMORES BENIGNOS

Pseudotumores de laringe:

- | | |
|----------------|------------------------------------|
| -Nódulos | - tumor amiloide |
| - pólipos | - xantoma |
| - granulomas | - pseudotumor disquístico de banda |
| - laringoceles | ventricular |

Tumores verdaderos de laringe:

- | | |
|--|---|
| - t. de origen epitelial: papiloma | - t. de origen vascular: angioma, |
| - t. de origen cartilaginoso: condroma | hemangioma |
| - t. de origen neural: neurofibroma, | - t. de origen adiposo: lipoma |
| neurolimoma | - t. de origen muscular: rabiomioma |
| - t. de origen glandular: oncocitoma | - t. de origen en tejido fibroso. fibroma |
| (adenoma exofítico) | |



Factores de riesgo

Se han determinado ciertos factores de riesgo que aumentan el riesgo de desarrollar esta condición. El Fumar, por ejemplo, es el factor de riesgo principal para el cáncer laríngeo y exceso del consumo del alcohol a largo plazo es otro factor de riesgo importante.

Algunos de los factores de riesgo para el cáncer laríngeo incluyen:

- Tabaco

El riesgo de cáncer laríngeo aumenta más la probabilidad de desarrollarlo en una persona que fuma un gran número de cigarrillos por día. Los estudios reflejan que las personas que fuman sobre 25 cigarrillos al día esta sobre 40 veces con mayor probabilidad de desarrollar el cáncer que alguien que no fuma.

- Alcohol

El uso Pesado, a largo plazo del alcohol es también un factor de riesgo importante para el cáncer laríngeo, especialmente el consumo de bebidas espirituosas. Cuando se combina el fumar y el alcoholismo, el riesgo de cáncer laríngeo es incluso más alto.^(5, 6,7)

- Género Masculino

Los Hombres tienen mayor riesgo que mujeres para desarrollar el cáncer laríngeo. Este riesgo creciente se puede atribuir probablemente a una mayor proporción de hombres que toman que fuma, pero los números de levantamiento de fumadores femeninos significan que esta diferencia del entre-género en riesgo puede disminuir.

- Edad

El cáncer Laríngeo es poco frecuente a edades menores de 40 años y la mayoría de los casos ocurren en los individuos con edades que superan estas cifras.



- Antecedentes familiares

Los Individuos con un pariente del primer grado, tal como un hermano, la hermana o el padre, que han sufrido de cáncer de cabeza y cuello son dos veces más propensos para desarrollar el cáncer laríngeo que una persona sin tales antecedentes familiares.

- Substancias Tóxicas

La Exposición a las sustancias tóxicas tales como polvo de carbón, pintura fumes, el polvo de madera, níquel, formaldehido, y los vapores diésel aumentan el riesgo de cáncer laríngeo.

- Algunos tipos de carne

Investigaciones han mostrado que la ingesta de carne trmitada, frita o barbequed pueden aumentar el riesgo de cáncer laríngeo.

- Virus de papiloma Humano

Algunas deformaciones del virus de papiloma humano (HPV) parecen ser conectadas al cáncer laríngeo, con un estudio revelando la presencia de la infección hacia adentro el alrededor 25% de HPV de cánceres laríngeos, considerando que los subtipos de mayor riesgo carcinogénico son el 16 y el 18. ^(5, 6,7)

SISTEMÁTICA DIAGNÓSTICA

1. Datos anamnésticos: Historia de cáncer familiar, antecedentes de tabaquismo y/o alcoholismo. Antecedentes de patología laríngea previa. Datos sobre los síntomas en su orden de aparición e intensidad (disfonía, disfagia, disnea, dolor, otros).
2. Examen físico: Examen completo de las vías aéreas y digestivas superiores particularizando en el examen laríngeo mediante la laringoscopia indirecta y directa con endoscopia rígida y/o laringofibroscofia. Examen del cuello.
3. Exámenes imagenológicos: TAC. Recomendable su realización en todos los casos.



Su aplicación en el estadiamiento modifica este en un 20% de los casos. RMN, para casos seleccionados. El ultrasonido puede ser útil en la detección de ganglios linfáticos cervicales.

4. Exámenes histopatológicos: Mediante biopsia por ponche tomados por laringoscopia indirecta o directa. La citología se haría en los casos que resulte recomendable, tanto de lesión primaria como nódulos cervicales.

5. Otros exámenes: Además se realizarán los exámenes de laboratorio esenciales: Hemograma, eritrosedimentación, glicemia, creatinina, serología y examen de orina, Rx de tórax. A los casos que reciban tratamiento de Poliquimioterapia se les realizará además filtrado glomerular. ^(7,8)

Generalidades sobre estadios

El sistema de clasificación es clínico, y se basa en la mejor estimación posible del grado de la enfermedad antes del tratamiento. La evaluación del tumor primario se basa en la inspección y palpación cuando sea posible, y tanto por medio de examen con espejos indirectos como con endoscopia directa cuando sea necesario. El tumor debe ser confirmado histológicamente, y se puede incluir cualquier otro dato patológico obtenido con la biopsia. El estudio de imágenes por resonancia magnética y el rastreo de tomografía computarizada de la cabeza y del cuello se deberán hacer antes de la terapia para complementar la inspección y palpación.

Se pueden incluir estudios radiográficos adicionales. Se examinan las áreas apropiadas de drenaje ganglionar en el cuello mediante palpación cuidadosa.

En una evaluación clínica, debe medirse el tamaño real de la masa ganglionar y se deberá dejar espacio para los tejidos blandos que intervienen. La mayoría de las masas que tienen >3 centímetros de diámetro no son ganglios solos sino ganglios que confluyen o tumores en los tejidos blandos del cuello. Hay tres estadios de ganglios clínicamente positivos: N1, N2 y N3. No se requiere el uso de subgrupos a, b y c pero se recomienda. Los ganglios medios son considerados ganglios homolaterales.



La evaluación del resultado del tratamiento se puede informar de diversas maneras: control loco regional, supervivencia sin enfermedad, supervivencia determinada y supervivencia general de 2 a 5 años. La preservación de la voz es un parámetro importante de evaluar. Deben informarse los resultados después de la cirugía inicial, radiación inicial, tratamiento combinado planificado o la recuperación quirúrgica debido al fracaso de la radiación. Se deberá consultar el material de fuente primaria para revisar estas diferencias. ^(7,8)

Debido a problemas clínicos relacionados con el tabaquismo y el consumo de alcohol en esta población, muchos pacientes sucumben a enfermedades intercurrentes en vez de sucumbir al cáncer primario.

Es complicado realizar una comparación directa de los resultados de la radiación con los de la cirugía. Los estudios quirúrgicos pueden informar de resultados en base a la clasificación patológica, mientras que los estudios de radiación tienen que informar basados en la clasificación clínica, con el problema obvio de la subclasificación en los pacientes tratados con radiación, particularmente en el cuello. Además, frecuentemente se recomienda la radiación solar para pacientes con estado general precario, lo que lleva a resultados menos favorables.

Aspectos generales de las opciones de tratamiento

Los cánceres superficiales pequeños sin fijación laríngea o complicación de ganglios linfáticos se tratan exitosamente con radioterapia o cirugía sola incluyendo cirugía de escisión con rayos láser. Se puede escoger radioterapia para preservar la voz, y reservar la cirugía para salvar las fallas. El campo de radiación y dosis se deciden por la ubicación y el tamaño del tumor primario. También se recomienda una variedad de procedimientos quirúrgicos curativos para cáncer de la laringe, algunos de los cuales preservan la función vocal. Se deberá considerar un procedimiento quirúrgico apropiado para cada paciente, teniendo en cuenta el problema anatómico, el estado general y la experiencia clínica del equipo de tratamiento. A menudo, los cánceres de la laringe avanzados se tratan al combinar radiación y cirugía.



Resultados clínicos publicados sobre la radioterapia radical para el cáncer de cabeza y cuello sugiere una pérdida significativa de control local cuando la administración de radioterapia fue prolongada; por lo tanto, se deberá evitar siempre que sea posible extender la duración de los programas estándar de tratamiento.

Debido a que la tasa de curación para lesiones avanzadas es baja, se deberán considerar los ensayos clínicos que exploran la quimioterapia, radioterapia hiperfraccionada, sensibilizadores de radiación o radioterapia con haz de partículas.

A pesar de que las tasas de curación no cambian con la quimio radiación administrada en un entorno neo adyuvante, aumenta la preservación del órgano. ^(9,10)

Un ensayo aleatorio llevado a cabo en múltiples instituciones, asignó a los pacientes a inducción de cisplatino más fluoracilo seguido de radioterapia; radioterapia administrada conjuntamente con cisplatino o radioterapia sola.

El uso concurrente de radioterapia más cisplatino resultó en un porcentaje estadísticamente significativo más alto de pacientes con una laringe intacta a los 2 años (por ejemplo, 88% vs. 75% y 70% para la terapia concurrente, quimioterapia de inducción y radioterapia sola respectivamente) y un mayor control loco regional (por ejemplo, 78% vs. 61% y 56%, respectivamente) que los otros dos regímenes. Ambos regímenes quimioterapéuticos tuvieron una menor incidencia de metástasis distante y una mejor supervivencia sin recaídas que los que tuvieron radioterapia solamente, pero también tuvieron una tasa más alta de efectos tóxicos de grado alto. Las tasas de supervivencia en general no fueron significativamente diferentes entre los diferentes grupos. ^(9,10)

Grado de comprobación:

El riesgo de metástasis a ganglios linfáticos en pacientes con cáncer glótico en estadio I va de 0%-2%, y en el caso de enfermedad más avanzada, tal como cáncer glótico en estadios II y III, la incidencia es de solo 10% y 15% respectivamente. Por lo tanto, no hay necesidad de tratar electivamente los ganglios linfáticos cervicales de cáncer glótico en pacientes con



tumores en estadio I y con tumores pequeños en estadio II. Se deberá dar consideración a usar radiación electiva del cuello para tumores mayores o supraglóticos.

En general, se prefiere que los pacientes con cáncer de la subglotis reciban terapia de modalidad combinada aunque para las lesiones pequeñas poco comunes (por ejemplo, estadio I o estadio II) puede emplearse radioterapia sola.

Los pacientes que fuman durante la radioterapia parecen tener tasas más bajas de respuesta y duraciones más cortas de supervivencia que los que no lo hacen; por lo tanto, deberá aconsejarse a los pacientes que dejen de fumar antes de iniciar la radioterapia. ^(9,10)

Las pruebas acumuladas han mostrado una alta incidencia (por ejemplo, >30%-40%) de hipotiroidismo en pacientes que han recibido radiación de haz externo a toda la glándula tiroides o a la glándula pituitaria. Se deberá considerar la evaluación de la función de la tiroides en los pacientes antes de la terapia y como parte de seguimiento post-tratamiento.



VII. DISEÑO METODOLÓGICO

1.1 Tipo de Estudio:

El estudio que se llevó a cabo en este trabajo investigativo, es un estudio descriptivo prospectivo, de corte transversal y cuantitativo con el propósito de identificar la supresión genética de la glutatión S-transferasa GST-M1 como expresión del carcinoma de células escamosas de laringe en pacientes atendidos por el servicio de ORL entre febrero - diciembre del 2016. .

Es descriptivo con el propósito principal de obtener información acerca del estado actual del fenómeno, describiendo todas sus dimensiones, sin cambiar el entorno (es decir, no hay manipulación), el objeto de estudio es la supresión genética de la glutatión S-transferasa GST-M1 como expresión del carcinoma de células escamosas de laringe en pacientes atendidos por el servicio de ORL.

Prospectivo porque los datos se recolectaron una vez diseñado el estudio lo que nos permitió tener un menor margen de error.

Corte transversal ya que a las variables no se medirá ni evaluara la evolución, fueron medidas en un solo tiempo.

Cuantitativo porque fue utilizado la recolección y el análisis de los datos para contestar las preguntas de la investigación, donde permitió confiar en la medición numérica frecuentemente con el uso de las estadísticas para establecer con exactitud los patrones.

1.2 Área de Estudio:

Se llevó cabo, en el servicio de otorrinolaringología, en el hospital escuela Antonio Lenin Fonseca, el cual está ubicado en el departamento de Managua.

1.3 Universo:

Estuvo representado por 8 pacientes con tumoraciones benignas de laringe, y 8 pacientes con carcinoma de células escamosas de laringe, para un total de 16 pacientes, todos fumadores de tabaco que practicaban la ingesta de alcohol.



Se empleó muestra no probabilística por conveniencia aplicando los siguientes criterios de selección.

1.4 Unidad de Análisis:

Los pacientes con carcinoma de células escamosas y tumoraciones benignas de laringe, mayores de cuarenta años, fumadores de tabaco que practicaban la ingesta de alcohol.

1.5 Criterios de Inclusión fueron los siguientes:

- Que desee colaborar con nuestro estudio.
- Fumador activo y tomador de bebidas alcohólicas.
- Que cursen con tumoración benigna o Ca de laringe.
- Que no hayan recibido radio-quimioterapia.

1.6 Criterios de Exclusión:

- Que no desee colaborar con nuestro estudio.
- Paciente que no sea fumador ni tomador.
- Que sea diagnosticado fuera del periodo de estudio.
- Que hayan recibido radio-quimioterapia.

1.7 Variables

A partir de los objetivos específicos se definen las siguientes variables.

Objetivo No 1: Identificar las características sociodemográficas de los pacientes.

- Edad
- Sexo
- Ocupacion
- Procedencia
- Nivel de escolaridad



Objetivo No 2: Determinar la relación genotípica de GST-M1 de pacientes con carcinoma y tumoraciones benignas de laringe.

- Fumador
- Tomador de alcohol
- Procedimiento realizado
- Medición en sangre
- Medición en tejido
- Supresión GST-M1

Objetivo No 3: Clasificar las tumoraciones laríngeas según diagnóstico histopatológico.

- Benigno.
- Maligno.
- Otros.

1.8 La fuente de Información

Secundaria: ya que se diseñó un instrumento el cual se llenó mediante la revisión y evaluación de los expedientes clínicos.

El desarrollo de la técnica se llevó a cabo en el laboratorio de biología molecular del instituto politécnico de la salud , POLISAL-UNAN, Managua, la cual incluirá extracción de ADN en tejidos y sangre, aplicando la técnica PCR multiplex, los pacientes casos serán pacientes con diagnóstico histopatológico de cáncer de laringe y los pacientes y se sometieron voluntariamente.

5.10. PROCEDIMIENTOS DE REFERENCIA

Se utilizó como referencia para estandarización de la técnica la detección de las supresiones GSTT1-GSTM1 descrita en las publicaciones Ehab H (2001) Genetic Deletions of Glutathione- S-Transferase as a Risk Factor in Squamous Cell carcinoma of the larynx: A Preliminary Report. (Ehab Hanna,2001)



Una vez realizada la PCR se analizaron mediante el uso de un retro iluminador ultravioleta, cámara con campana para retroiluminador y sistema digital de documentación de geles.

1.10 Recolección de la Información:

Técnicas e instrumentos de la recolección de información:

Revisión de expedientes clínicos: se aplicó un cuestionario de preguntas cerradas, conteniendo las variables relacionadas con la supresión genética de la glutatión-s-transferasa M-1 como factor de riesgo del carcinoma de células escamosas de laringe.

Procedimiento de recolección de la información: Se elaboró una ficha de recolección de información previa validación por el investigador, y se aplicó a cada expediente, extrayendo la información del expediente clínico y del paciente, se tomó biopsia de tejido y una muestra de sangre por paciente, y fueron llevadas al laboratorio de biología molecular donde se aisló ADN de tejido y de sangre a través de la técnica de PCR, para detectar glutatión-s-transferasa M-1.

1.11 Recolección de la muestra:

Se utilizó muestra de sangre total con EDTA, y muestras de tejido con solución PBS 1x las muestras se almacenaron a 4 grados centígrados antes de su transporte, el cual se realizó bajo refrigeración con la utilización de termo, refrigerante, gradilla y termómetro para verificar la temperatura.

Extracción de ADN: La extracción de ADN se realizó a partir de 200 ul de sangre total con EDTA mediante la utilización del QIAamp DNA mini kit, siguiendo el protocolo de DNA Purification from Blood Mini Handbook(QIAEN,2012)

Para la extracción de tejido laríngeo se realizó a partir de 25 mg de tejido de PBS 1X mediante la utilización del QIAamp DNA Mini kit siguiendo el protocolo DNA Purification Tissue (Spin protocolo) indicados en el manual QIAamp DNA Mni kit (QIAEN, 2008)



1.12 Procesamiento de los Datos:

Una vez recolectada la información se procesó y analizó en el programa SPSS (statistics statistical procederes companion) versión 22, para toda la población en estudio con estadísticas descriptivas a través de frecuencia simple y contingencias de variables, para facilitar el análisis de la información de acuerdo a los objetivos planteados.

Para la redacción de resultados se utilizó el Word de Windows versión 2013.

1.13 Validación de Instrumento (prueba piloto):

Previa a la aplicación del instrumento se llevó a cabo una prueba a tres pacientes a quienes se les realizó toma de muestra de sangre y de tejido laríngeo, se les aplicó una prueba de PCR multiplex al ADN llevada a cabo por el Dr. Allan Pernudi biólogo molecular quien diseñó los protocolos de extracción de ADN, evidenciando la supresión de la enzima GSTT1-GSTM1, lo que nos dio las pautas necesarias para continuar el estudio.

1.14 Plan de análisis:

La información se procesó a través del paquete estadístico PASW Statistics 18. Para el análisis estadístico se utilizó cálculo de frecuencia, porcentajes. La presentación de los resultados se realizó a través de cuadros y gráficos, en el informe final del estudio se utilizó el paquete de Microsoft office 2010.

1.15 Presentación de Datos:

Los datos fueron presentados en diapositivas programa (PowerPoint), donde tendrán los principales resultados obtenidos del estudio en porcentajes, tablas simples para un mejor análisis de la información con gráficos incluidos con una expresión exacta de cifras, pero permite una visión más clara y rápida acerca de la que presentan los datos.

1.16 Aspecto Ético:

Se llenó un consentimiento informado por cada paciente solicitando su autorización por escrito, para poder llevar a cabo la toma de muestras de tejido de la tumoración y muestra



TESIS PARA OPTAR AL TÍTULO DE ESPECIALISTA EN OTORRINOLARINGOLOGÍA.

de sangre para aislar el ADN. Luego se acudió a la dirección médica del Hospital Escuela Antonio Lenin Fonseca del Departamento de Managua, a solicitar autorización por escrito, para tener acceso a los expedientes clínicos de dichos pacientes, luego se procedió a la aplicación del instrumento.



ANEXOS N° 1

OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLE

Tabla N°: 1

Objetivo N° 1: Identificar las características sociodemográficas de los pacientes.

| N° | Nombre de la variable | Definición Operacional | Indicador | Valores / Escalas | Instrumento |
|----|-----------------------|---|--|---|---------------|
| 1 | Edad | Número de años cumplidos al momento del estudio. | Años cumplidos. | A. < 25 años. B. 26 a 35 años. C. 36 a 45 D. 46 a 55 E. > 56 años | Cuestiona rio |
| 2 | Sexo | Diferencia física anatómica entre el género hombre y mujer. | Sexo biológico de la persona. | A. Masculino. B. Femenino. | Cuestionario |
| 3 | Nivel de escolaridad | Nivel de preparación profesional en salud acorde a los años estudiados. | Grado académico alcanzado. | A. Primaria B. Secundaria C. Universitaria D. Ninguna | Cuestionario |
| 4 | Procedencia | Principio u origen de donde nació y vive | Desarrollo del lugar donde se ubica la residencia. | A. Área Urbana. B. Área Rural. | Cuestionario |



| | | | | | |
|---|-----------|-------------------------------|--------------------------|--|--------------|
| 5 | Ocupacion | Oficio o profesión que ejerce | Labor a la que se dedica | A. Obrero B. Profesional C. Desempleado D. Otro | Cuestionario |
|---|-----------|-------------------------------|--------------------------|--|--------------|

OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLE

Tabla N°: 2

Objetivo N° 2: Determinar la relación genotípica de GST-M1 de pacientes con carcinoma y tumoraciones benignas de laringe.

| N° | Nombre de la variable | Definición Operacional | Indicador | Valores / Escalas | Instrumento |
|----|-----------------------|---|---|--|--------------|
| 6 | Fumador | Es aquella persona que ha contraído el hábito de fumar, que significa inhalar humo. | Total de cigarros fumados por día | A. 1 al día B. 6-10 al día C. > 10 al día | Cuestionario |
| 7 | Ingesta de Alcohol | Cantidad de bebidas alcohólicas que son suministradas por vía oral | Frecuencia en la ingesta de bebidas alcohólicas | A. 1 vez por semana B. Cada dos semanas C. Ocasional | Cuestionario |
| 8 | Procedimiento | Un conjunto de acciones que se | Tipo de muestra tomada para | A. Biopsia | Cuestionario |



| | | | | | |
|----|----------------------|---|---|--|--------------|
| | realizado | realizan de la misma manera y bajo las mismas circunstancias, para lograr el mismo resultado. | estudio | B. Exceresis biopsia C. Muestra de sangre | |
| 9 | Componente Hemático | Material biológico constituido por un conjunto de células | Fluido que circula por venas y arterias | A. Positivo B. Negativo | Cuestionario |
| 10 | Tejido laríngeo | Conjunto de células con un mismo origen embriológico | Agrupación de células que actúan de formas coordinada | A. Positivo B. Negativo | Cuestionario |
| 11 | Supresión enzimática | Interferencia en la síntesis de enzimas debido a la supresión de su gen | | A. Positivo B. Negativo | Cuestionario |

OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLE

Tabla N°: 3

Objetivo N° 3: Clasificar las tumoraciones laríngeas según diagnóstico histopatológico.

| N° | Nombre de la variable | Definición Operacional | Indicador | Valores / Escalas | Instrumento |
|----|-----------------------|---|---|---------------------------------------|--------------|
| 12 | Tumoración benigna | Afección autolimitada no progresiva que no implica ninguna gravedad | Neoplasia que carece de malignidad | A. Pólipo B. Granuloma C. Otros | Cuestionario |
| 13 | Tumoración maligna | Crecimiento anormal de células que se multiplican sin control de forma agresiva | Neoplasia con transformación maligna de células | A. Carcinoma escamoso. B. Otros. | Cuestionario |

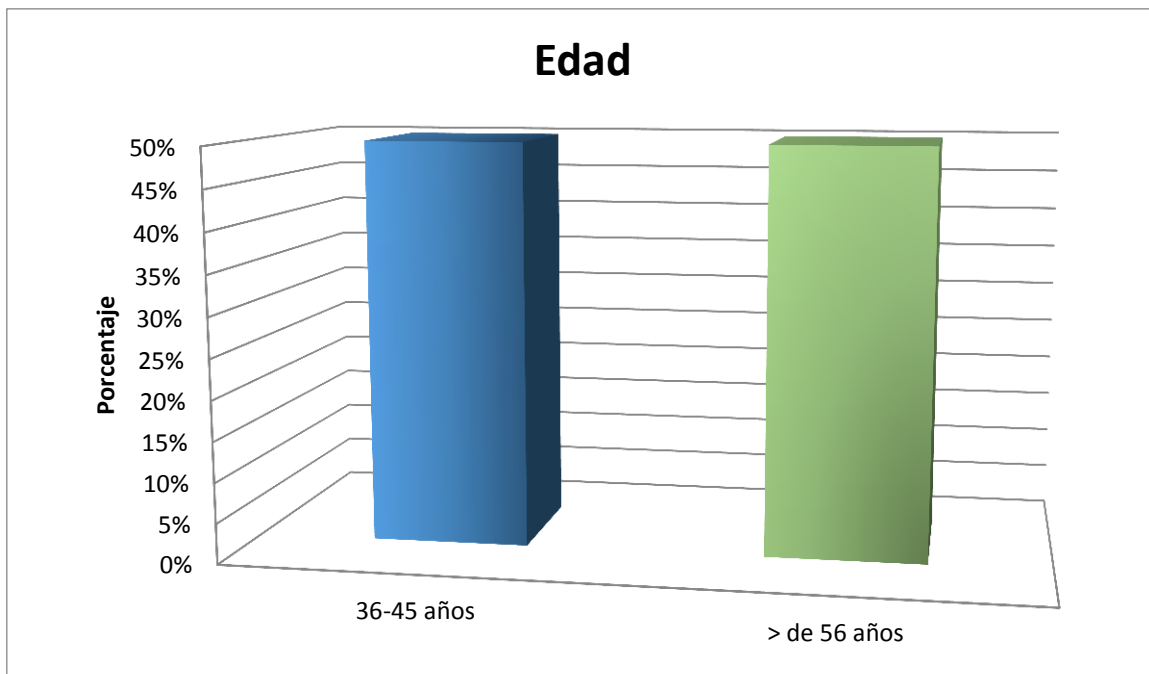


VIII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Esta investigación tuvo como propósito determinar la supresión genética de la glutatión-s-transferasa M-1, como factor de riesgo del carcinoma de células escamosas de laringe en pacientes atendidos por el servicio de otorrinolaringología, entre febrero -diciembre del 2016. Sobre todo se pretendió examinar ¿Cuáles son las características sociodemográficas de los pacientes atendidos por el servicio de Otorrinolaringología?, ¿Cuál es la relación genotípica de GST-M1 de pacientes con carcinoma y tumoraciones benignas de laringe atendidos por el servicio de Otorrinolaringología? y ¿Cuáles son las tumoraciones laríngeas según diagnóstico histopatológico en pacientes atendidos por el servicio de Otorrinolaringología? A continuación se estarán discutiendo los principales hallazgos de este estudio

Objetivo 1: Características socio demográficas de los pacientes atendidos por el servicio de otorrinolaringología que participaron en el estudio.

Grafico1. Edad de los pacientes con tumoraciones laríngeas atendidos en el periodo del estudio.



Fuente: Tabla 1 (revisión de expedientes clínicos)



Con un total de 16 pacientes que participaron en el estudio el grafico refleja la edad de los pacientes, de los cuales la mitad de ellos que se encuentran entre las edades de 40 – 50 años que son 8 pacientes para un 50% y la otra mitad que son 8 se encuentran entre las edades de 60 – 70 años para un 50%.

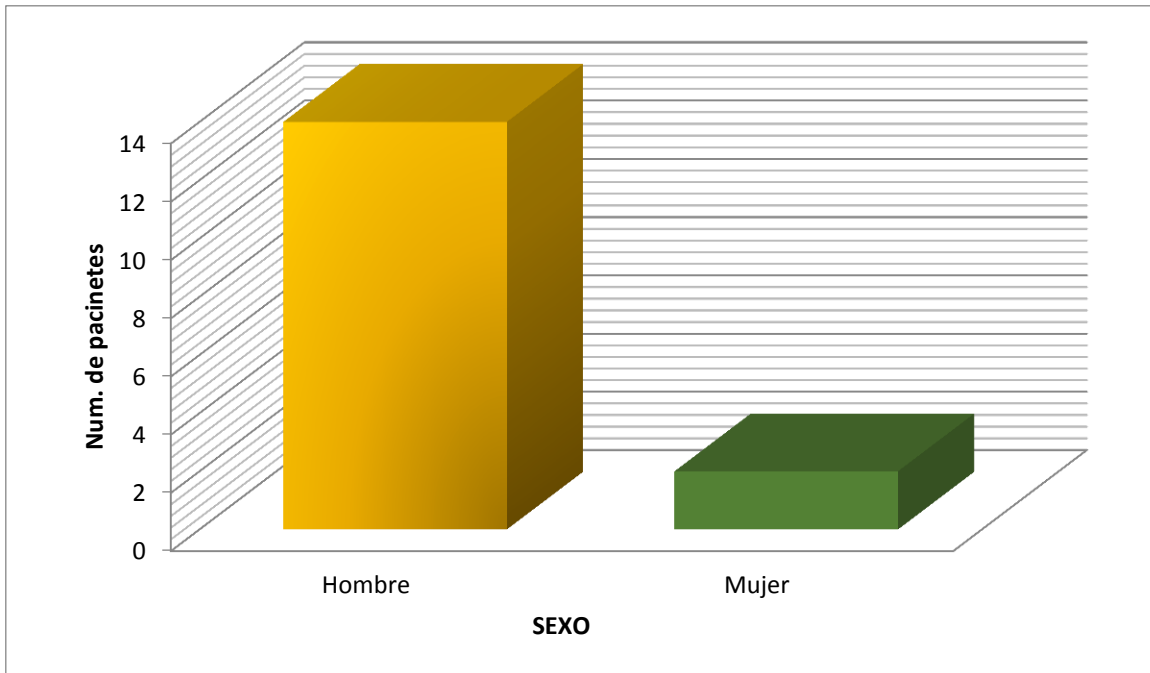
En los estudios que se han realizado no se encontró una relación clara respecto a la edad de los pacientes que participaron en los diversos estudios, este trabajo investigativo refleja que hay dos rango de edades de preferencia para el desarrollo de cáncer laríngeo en pacientes fumadores y tomadores que son de 40-50 años de edad y de 60 a más.

El cáncer Laríngeo es poco frecuente a edades menores de 40 años y la mayoría de los casos ocurren en los individuos con edades que superan estas cifras. Los niveles de las enzimas detoxificantes por debajo de estas cifras están en niveles óptimos, pero a medida que aumentan los años estos niveles decrecen asociado a diversas sustancias carcinogénicas a las que hay exposición favoreciendo el desarrollo de cáncer en ciertas edades (Gong M, D. W. 2012).

Es una de las neoplasias de cabeza y cuello más frecuentes, de todos los tumores malignos del organismo, el 98% corresponde a carcinomas escamosos o epidermoide (generalmente del tipo bien diferenciado). Es más frecuente entre los 50 y 70 años, pero se observa cada vez más en edades tempranas.



Grafico 2. Genero de los pacientes con tumorações laríngeas.



Fuente: Tabla 2 (revisión de expedientes clínicos)

El grafico número 2 refleja el sexo de los 16 pacientes que participaron en el estudio de los cuales el sexo masculino predomina con 15 pacientes para un 93.75%, seguido en menor frecuencia el sexo femenino con 1 pacientes para un 6.25%.

El sexo masculino es el más afectado ya que es el género que con mayor frecuencia practica el fumado de tabaco y consumo de alcohol, ya que la sociedad no ve bien estas prácticas en el sexo femenino aunque se ha ido perdiendo con forme pasan los años ya que cada vez es mayor el número de mujeres que fuman tabaco y consumen alcohol (Gong M, D. W. 2012).

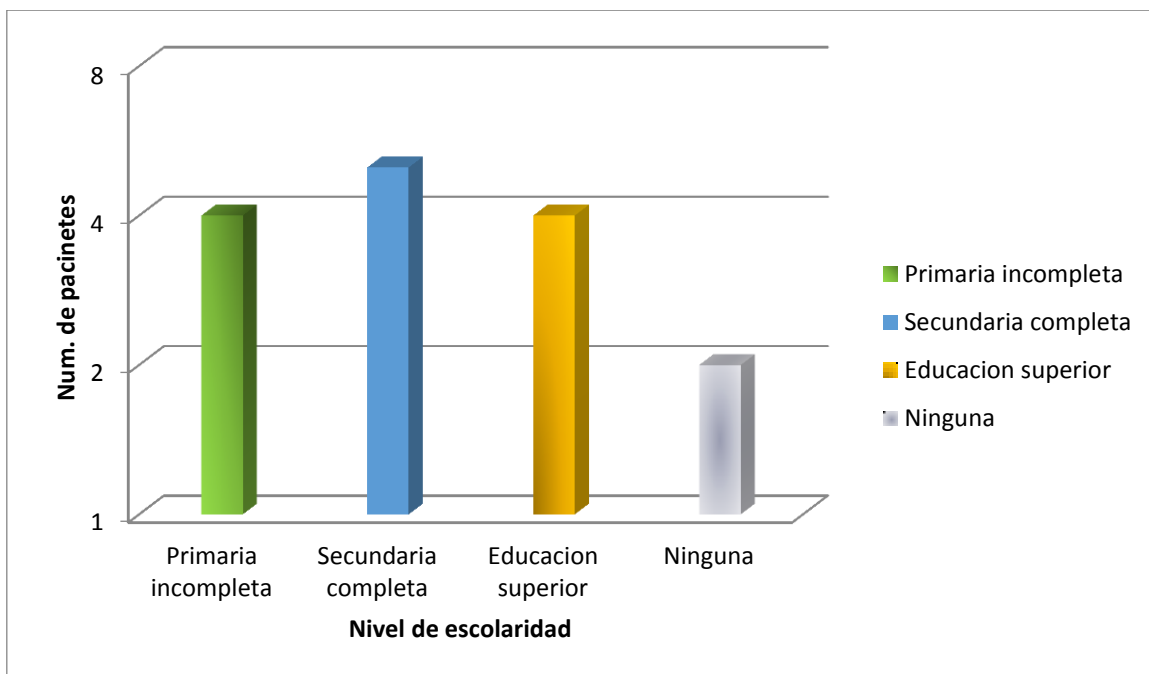
El cáncer de laringe es una enfermedad con predominio en el sexo masculino y en relación con la exposición a carcinógenos, fundamentalmente a través del consumo de tabaco, hecho este, que se da en el 94 % de los pacientes diagnosticados de cáncer de laringe. Son de aproximadamente cuatro veces más comunes en los hombres que en las mujeres, lo cual se relaciona a que el sexo masculino esta en mayor exposición a otras sustancias carcinogénicas ya que hay labores que por el desgaste físico la mayoría de los empleadores



prefieran el sexo masculino y debido a que es la cabeza del hogar, debe sustentar a su familia lo que conlleva a que su protección pase a segundo plano (Gong M, D. W. 2012).

Ocupa el sexto lugar en la mortalidad por cáncer en los varones y el cuarto puesto en los años potenciales de vida perdidos. El pronóstico de la enfermedad está en relación con la extensión de ésta, siendo el diagnóstico precoz fundamental en cuanto a las opciones de tratamiento y las posibilidades de curación.

Grafico 3. Nivel de escolaridad de los pacientes que participaron en el estudio.



Fuente: Tabla 3 (revisión de expedientes clínicos)

El nivel de escolaridad reflejado en el gráfico número 3 de los 16 pacientes del estudio, el mayor número de ellos que son 5 cursaron su secundaria completa, para un 31.25%, seguido de 4 que cursaron su primaria incompleta para un 25%, 4 que cursaron su educación superior para un 25% y en menor porcentaje 2 que no tienen ningún nivel académico, para un 12.5%.

Todas las personas tienen riesgo de desarrollar cáncer, pero hay grupos que tienen mayor riesgo como lo son los descritos en el gráfico anterior lo cual se puede atribuir a que por

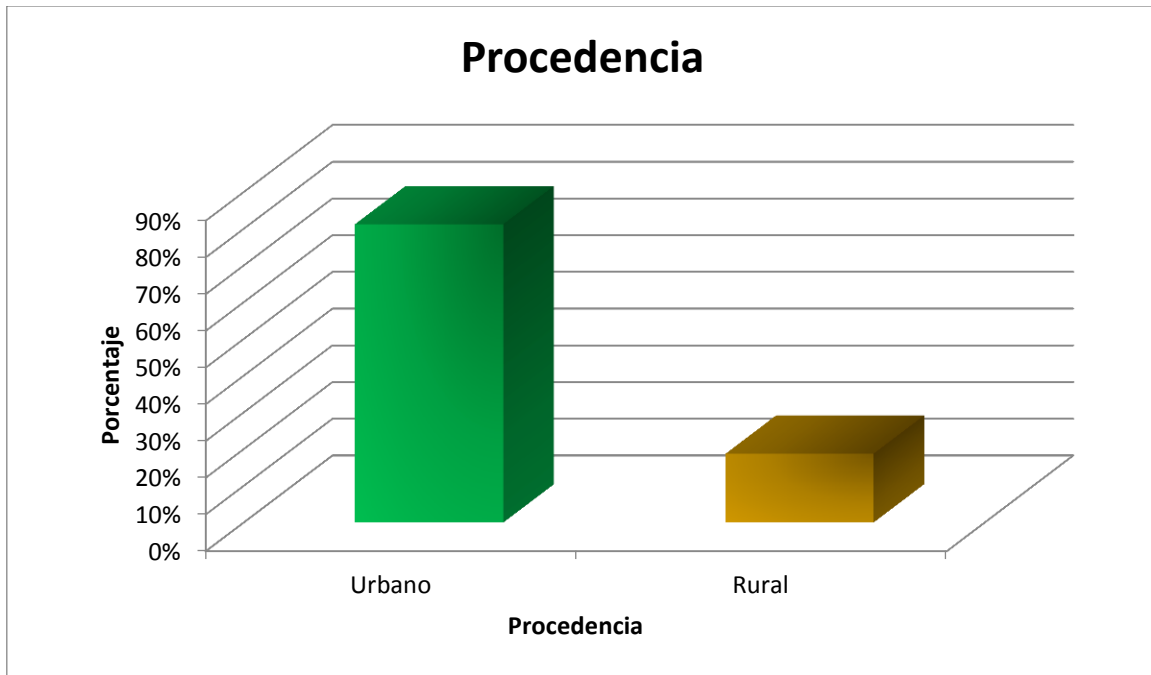


su bajo nivel de escolaridad no acuden a una valoración oportuna asociada a la práctica exagerada del consumo de tabaco y alcohol, a la vez que se exponen a muchas otras sustancias carcinogénicas que desconocen.

Estudios anteriores no hacen referencia al nivel de escolaridad como influencia del comportamiento de la neoplasia laríngea: las personas con bajo nivel de escolaridad presentan altas tasas de incidencia de carcinoma y cada vez a edades más tempranas. La escolaridad puede considerarse un elemento decisivo para determinar grupos de riesgo con respecto a cáncer. Las personas con mejor nivel educativo tienen la oportunidad de ocupar viviendas que se encuentran con mejor acceso a las diferentes unidades de salud, lo que podría contribuir a que sean atendidos de forma temprana y oportuna.



Grafico 4. Procedencia de los pacientes con tumoraciones laríngeas atendidos durante el periodo de estudio.



Fuente: Tabla 4 (revisión de expedientes clínicos)

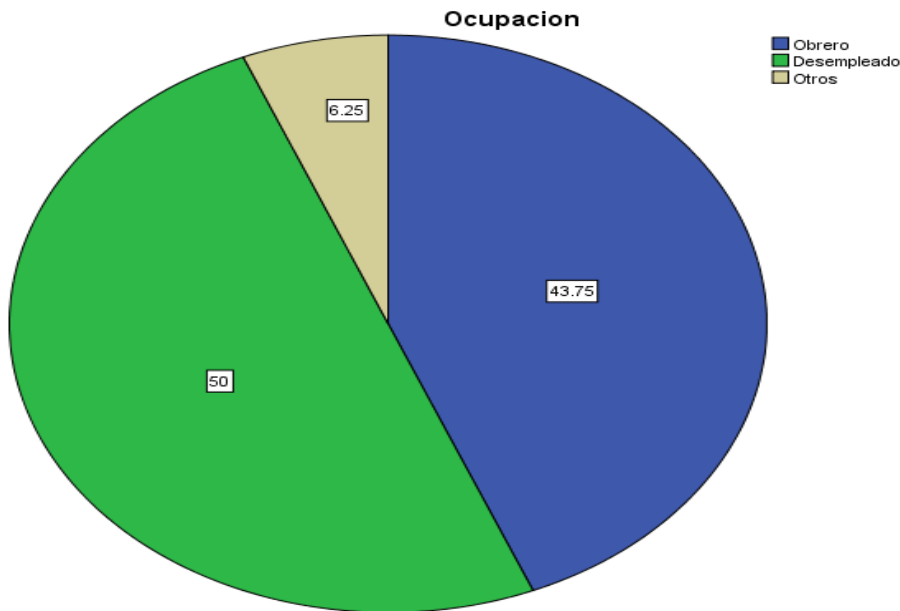
En relación a la procedencia, el grafico número 4 refleja **que de los 16 pacientes** 13 son del casco urbano siendo **la mayoría para un 81.25 %** y en menor porcentaje **solamente 3 pacientes son del casco rural** para un 18.75 %.

Un gran porcentaje son del casco urbano, aunque no hay estudios que relacionen la procedencia con el riesgo de desarrollar cáncer de laringe, se considera que hay una mayor exposición a sustancias carcinogénicas, y debido a la facilidad de acceso a la unidades de atención de segundo y primer nivel la captación en este grupo de pacientes es mayor en comparación que los que son originarios del casco rural.

Los pacientes del casco urbano prefieren consumir alimentos pocos saludables como comidas rápidas, consumen pocas frutas y verduras, siendo las personas adultas las que más consumen este tipo de alimentos, además de haber un mayor número de agentes contaminantes en estas zonas, producto del desarrollo propio de cada país.



Grafico 5. Ocupacion de los pacientes con tumoraciones laríngea que participaron en el estudio.



Fuente: Tabla 5 (revisión de expedientes clínicos)

En el grafico 5 se refleja la ocupación de los 16 pacientes de los cuales el mayor número son desempleados con 8 pacientes para un 50%, seguidos de 7 que son agricultores para un 43.75%, y en menor porcentaje uno que tiene otra ocupación No hay estudios que relacionen la ocupación con el riesgo de desarrollar cáncer de laringe pero en este estudio se refleja que los pacientes desempleados son los que presentan el mayor riesgo pero esto es relativo ya que hay que tomar en cuenta la edad al momento del diagnóstico y lo tarde que se acuda a la atención ya que por la sintomatología algunos dejan de laborar. La literatura revisada concuerda en que la exposición ocupacional a ciertas sustancias puede contribuir a aumentar el riesgo de aparición de cáncer. Las exposiciones acumuladas a formaldehído han sido asociadas. También se han relacionado las exposiciones prolongadas a humos de distintas procedencias y las partículas de madera. Se ha observado un mayor riesgo de en sujetos expuestos a fibras minerales (fibras de vidrio) (Armstrong RW 2000).



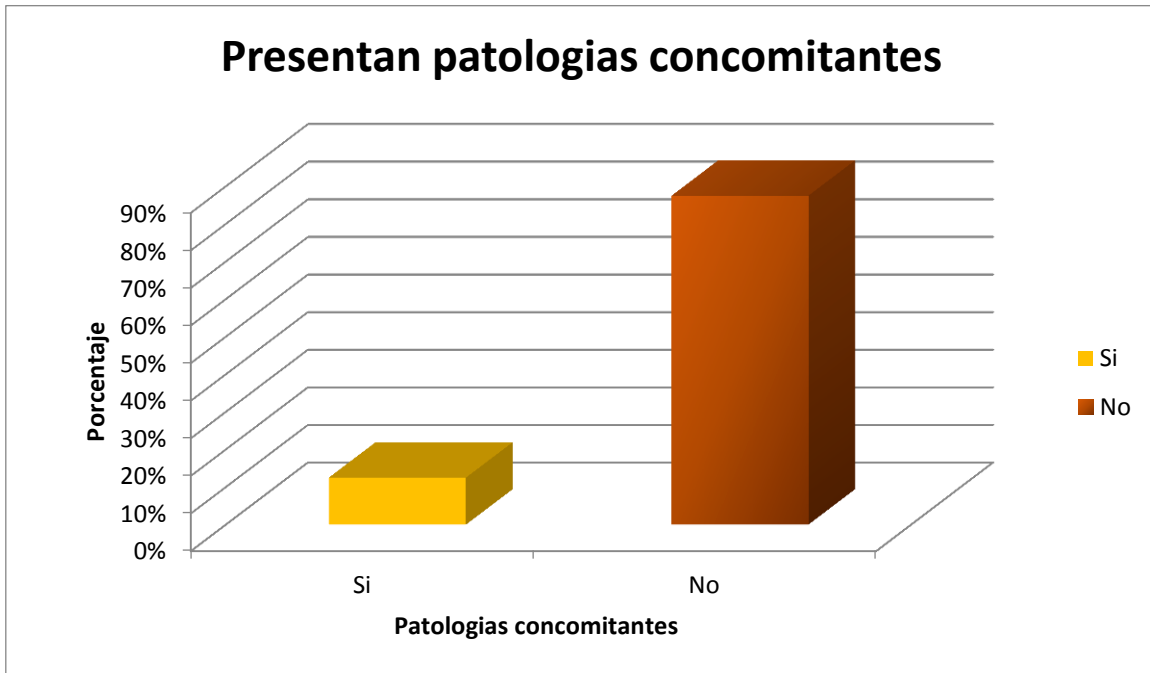
La exposición a un gran número de productos químicos como tintes, disolventes y pesticidas y a partículas de cemento, metal o fibras textiles no ha mostrado riesgos significativos para ninguna de las localizaciones.

Otro posible carcinógeno evaluado en los estudios revisados fue el humo derivado de la combustión de combustibles, de soldaduras, de cocinas, etc. Según una de los trabajos realizados por, el humo procedente de la combustión de motores o aceite y de soldadura ha sido clasificado como potencialmente carcinógeno.

El potencial carcinogénico de cada sustancia no es muy bien conocido se considera que unas tienen mayor riesgo, asociadas a otros factores como la edad, sexo entre otros factores de riesgo que contribuyen a que unos desarrollen cáncer d laringe.



Grafico 6. Pacientes que presentan patologías concomitantes



Fuente: Tabla 6 (revisión de expedientes clínicos)

El grafico número 6 refleja que de un total de 16 pacientes que participaron en el estudio la mayor frecuencia de ellos ,14 no presentaban ninguna patología para un 87.5%, seguido en menor frecuencia con 2 pacientes que si presentan alguna patología para un 12.5%, de los cuales uno presento HTA y uno presento HTA con DM II asociada.

Del total de pacientes que participaron en el estudio no se evidencio ninguna relación en el desarrollo del cáncer de laringe con problemas médico de base, al igual que no se encontró evidencia en literaturas sobre ellos, pero al realizar este trabajo investigavo se comprueba que un gran porcentaje de pacientes no presentaba patologías de base asociada.

En el ámbito internacional existen diferentes publicaciones que han tratado de correlacionar diversos polimorfismos con cáncer de vía aéreo-digestiva superior, con diversos resultados, la conversión de un terreno en campo expansivo, como resultado de Cambios moleculares en el carcinoma de células escamosas y alteraciones genéticas adicionales. Por último, la selección clonal provoca el desarrollo del carcinoma dentro de este campo contiguo de células pre-neoplásicas (Hab Hanna, M. S. 2001, Gong M, D. W. 2012).



Existen diversas enzimas detoxificantes que son las responsables de eliminar elementos potencialmente carcinogénicos, de ellas una de las principales es la glutatión-S-transferasa GSTM-1, la cual no se demostró que este suprimida en pacientes con enfermedades crónicas.

Objetivo 2. Relación genotípica de GST-M1 de pacientes con carcinoma y tumoraciones benignas de laringe atendidos por el servicio de Otorrinolaringología.

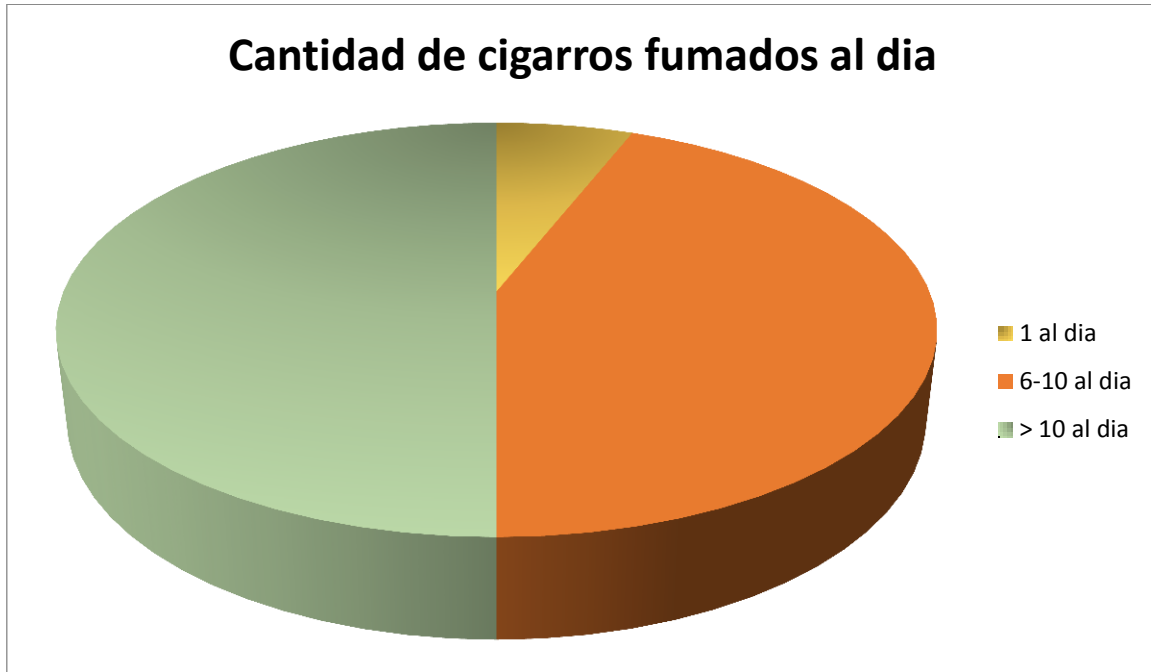
El análisis de las muestras para la genotipificación de las enzimas glutatión-S-transferasa Theta (GST-T1) y glutatión-S-transferasa Mu (GST-M1), Se realizó mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR) multiplex, en el cual se incluyeron muestras de tejido y sangre de pacientes con tumoraciones laríngeas (8 casos) y controles sanos (8 controles) con una historia similar o antecedentes de fumador. Debido a que este ensayo da como resultado la ausencia de un producto PCR en individuos que expresan el genotipo nulo GST-M1 / GST-T1, cebadores de oligonucleótidos que amplifican una porción del gen de la albúmina se incluyeron en una PCR multiplex como un control positivo para la calidad del ADN y las condiciones de PCR.

La extracción de ADN se realizó a partir de 200 µl de sangre total con EDTA y 25mg de tejido, mediante la utilización del QIAamp DNA Mini Kit, siguiendo el protocolo DNA Purification from Blood or Body Fluid (Spin Protocol) indicados en el manual QIAamp DNA Mini and Blood Mini Handbook.

Para la amplificación del ADN se utilizaran los siguientes primers: para el gen **GST-M1 forward** 5'GAA CTC CCT GAA AAG CTA AAGC3' y **GST-M1 reverse** 5'GTT GGG CTC AAA TAT AGC GTGG3'. **Gen GST-T1 forward** 5'TTC CTT ACT GGT CCT CAC ATC TC3' y **GST-T1 reverse** 5'TCA CCG GAT CAT GGC CAG CA3'. Utilizando como control interno la albúmina con 350 pb, **Albumina forward** 5'GCC CTC TGC TAA CAA GCT GTAC3' y **Albumina reverse** 5'GCC CTA AAA AGA AAA TCG CCA ATC3'.



Grafico 7. Cantidad de cigarros consumidos por los pacientes.



Fuente: Tabla 7(revisión de expedientes clínicos)

En el grafico 7 se refleja el número de cigarro consumidos por los 16 pacientes, de los cuales el de mayor frecuencia son 8 pacientes quienes fuman más de 10 cigarrillos al día para un 50%, seguidos de 7 pacientes que fuman de 6-10 cigarrillos para un 44%, y en menor frecuencia 1 paciente que fuma un cigarro al día para un 6%.

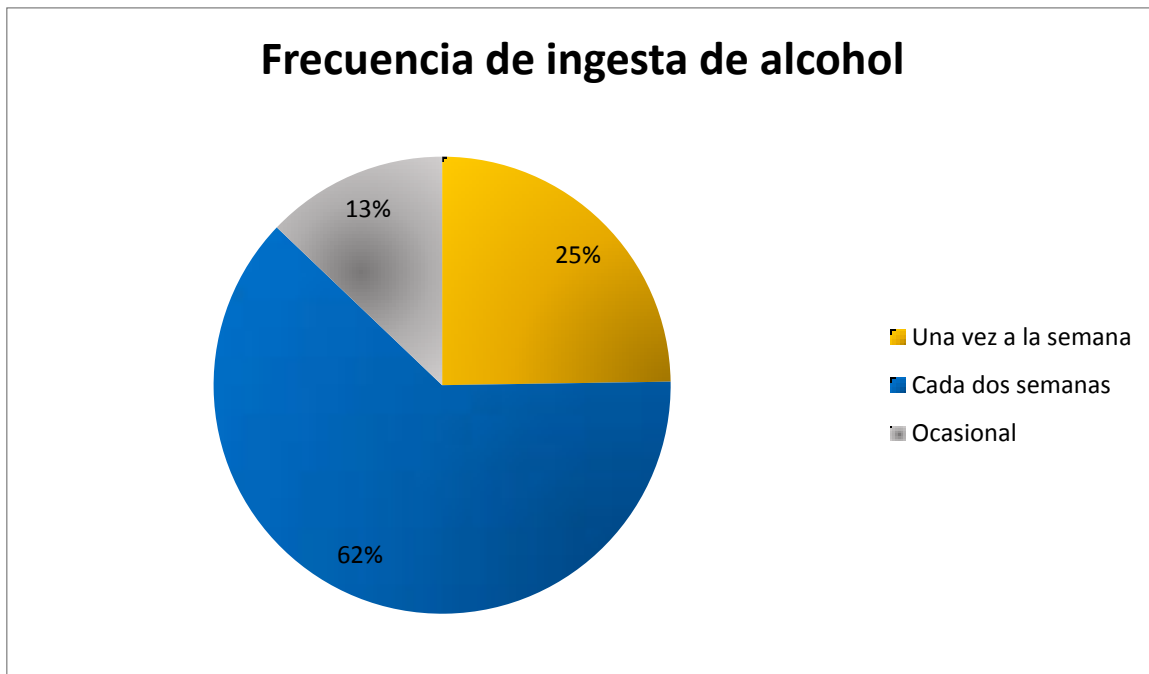
El humo del tabaco es el responsable de la mayoría de los carcinomas vías respiratorias en hombres y mujeres. Por consiguiente, si se consigue reducir el consumo de cigarros, los efectos de la salud, relacionados con fumar, reducirán significativamente la carga de la enfermedad en la población (Armstrong RW 2000). Sin embargo, tal esfuerzo sólo se ha podido realizar con un éxito limitado debido a las diferencias en la susceptibilidad individual. La susceptibilidad puede deberse a las variaciones heredadas en la habilidad de metabolizar procarcinógenos en el humo del tabaco. Las sucesiones genéticas de proto-oncogenes y genes supresores de tumores, y la reparación del ADN son otro factor determinante (Angel Díaz 2003).



El riesgo es más alto cuando los genes activadores están implicados. La historia de fumador está fuertemente asociada con el desarrollo de cáncer independiente de los genotipos individuales.

El riesgo de cáncer laríngeo aumenta más la probabilidad de desarrollarlo en una persona que fuma un gran número de cigarrillos por día. Los estudios reflejan que las personas que fuman sobre 25 cigarrillos al día esta sobre 40 veces con mayor probabilidad de desarrollar el cáncer que alguien que no fuma, se ha comprobado que el 97% de los pacientes con carcinoma de laringe son fumadores.

Grafico 8. Frecuencia en la ingesta de alcohol.



Fuente: Tabla 8(revisión de expedientes clínicos)

En relación al grafico número 8 refleja que en mayor frecuencia 10 pacientes consumen bebidas alcohólicas cada dos semanas lo que representa un 62%, seguida de 4 que consumen alcohol una vez por semana para un 25%, y en menor frecuencia 2 que consumen de forma ocasional para un 13%.

El consumo, a largo plazo del alcohol es también un factor de riesgo importante para el cáncer laríngeo, especialmente el consumo de bebidas espirituosas. Cuando se combina el



fumar y el alcoholismo, el riesgo de cáncer laríngeo es incluso más alto. Las células de la mucosa expuesta durante un tiempo prolongado a estos carcinógenos, comienzan a presentar cambios moleculares que posteriormente conllevan a cambios celulares, lo que se denomina proceso de carcinogénesis.

De los factores universalmente conocidos que aumentan el riesgo de cáncer de cabeza y cuello se encuentran el consumo de tabaco y de alcohol, debido a la exposición química se espera que sea determinada por un fenotipo individual para varias enzimas, ambos activadores y detoxicadores relativos a ese compuesto o mezclas de compuestos. La valoración de una sola enzima o genotipo no puede ser suficiente, dado el número de enzimas metabolizadoras de carcinógenos ya identificadas y la complejidad de mezclas químicas a las que un individuo está expuesto. En algunos estudios, el riesgo relativo asociado con el desarrollo de cáncer estaba aumentado con todas las combinaciones diferentes de genotipos desfavorables (Armstrong RW 2000).

El riesgo es más alto cuando los genes activadores están implicados. Uno de cada 10 casos de cáncer en hombres y uno de cada 33 en mujeres son debidos a la ingesta de alcohol en el pasado o el presente (Angel Díaz 2003). El riesgo acumulado para cáncer, asociado con el aumento de la exposición a acetaldehído, señala la necesidad de una detección a nivel mundial de los niveles de etanol y acetaldehído de bebidas alcohólicas



Grafico 9. Procedimiento realizado en los pacientes



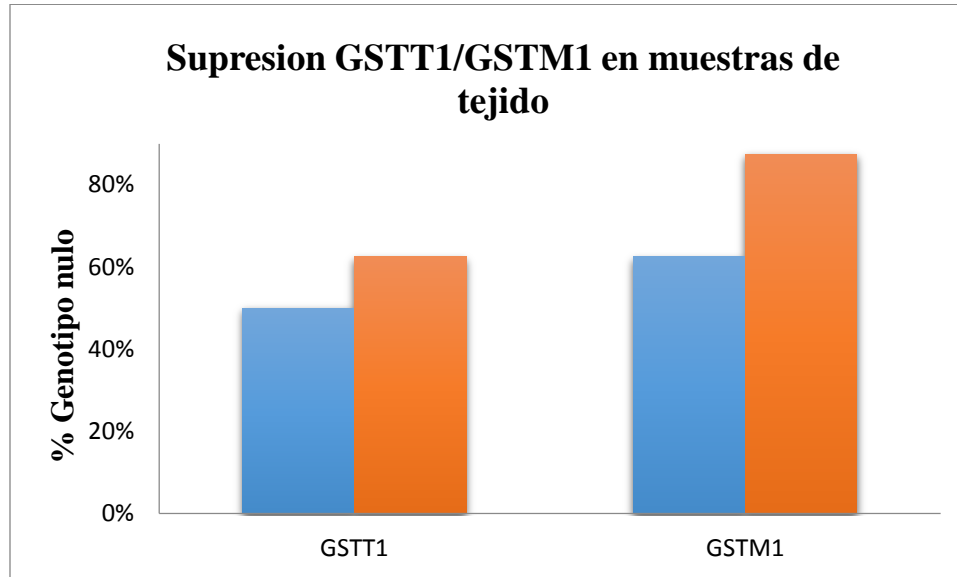
Fuente: Tabla 9 (revisión de expedientes clínicos)

En relación al procedimiento realizado en los 16 pacientes, el grafico número 9 refleja que en mayor frecuencia a 10 se les realizo toma de biopsia, para un 62.5% y en menor frecuencia a 6 se les realizo exceresis biopsia para un 37.5%.

El tipo de procedimiento realizado para toma de biopsia no presentó ninguna variación al momento del diagnóstico, dado a que no es necesario una gran cantidad de tejido para llegar a su diagnóstico y detectar la supresión de las enzimas detoxificantes, aunque no se pudo comparar con literaturas nacionales o extranjeras ya que ninguna presenta este tipo de enfoque, a todos los pacientes se les realizo toma de muestra de sangre siendo esta más sencilla al momento de extraer ADN para la realización de la detección de las enzimas detoxificantes.



Grafico 10: Supresión de los genes GSTT1/GSTM1 en muestras de tejido laríngeo



Fuente: medición en PCR multiplex (muestra en tejido)

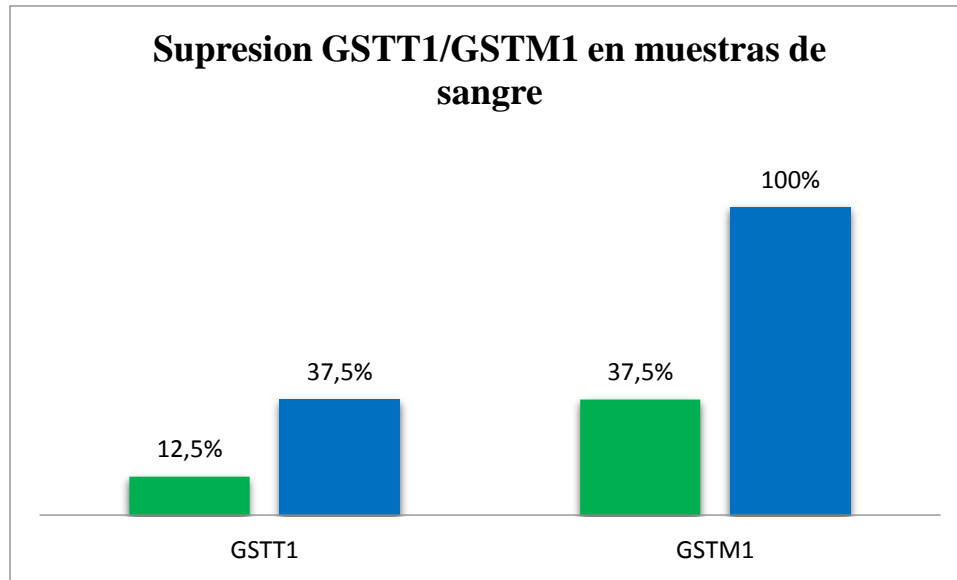
Según los datos reflejados en el grafico número 10, el gen GSTT1 está ausente en 5 de 8 (62.5%) en pacientes con cáncer de laringe y en 4 de 8 (50%) en pacientes con tumoraciones benignas. El gen GSTM1 está ausente en 7 de 8 (87.5%) en pacientes con cáncer de laringe y en 5 de 8 (62.5%) en pacientes con tumoraciones benignas. Genotipos GSTT1 ($p < 0.05$) y GSTM1 ($p < 0.05$) en pacientes con cáncer de laringe (rojo) y con tumoraciones benignas (azul).

La supresión del gen GST-M1 se asoció significativamente con el cáncer de células escamosas (CCE) de la laringe y puede producir un riesgo de padecer esta enfermedad en particular¹. Los individuos con deficiencia absoluta o relativa del sistema de enzimas GST pueden, por tanto, estar en un riesgo mayor de desarrollar carcinoma de laringe.

Hay algunos estudios sobre la relación del genotipo GSTM1 nulo y cánceres. Por ejemplo: Gong et al². Sugiere que el genotipo GSTM1 nulo se asocia con un alto riesgo de cáncer de próstata. Song et al³ indicó que, el genotipo GSTM1 nulo puede aumentar ligeramente el riesgo de carcinoma hepatocelular. Además, GSTM1 nulo genotipo también se asocia con el riesgo de enfermedad de la arteria coronaria y el riesgo de asma.



Grafico 11: Supresión de los genes GSTT1/GSTM1 en muestras de sangre.



Fuente: Medición en PCR multiplex (muestra de sangre)

El grafico número 11 refleja que el gen GSTT1 está ausente en 3 de 8 (37.5%) en pacientes con cáncer de laringe y en 1 de 8 (12.5%) en pacientes con tumoraciones benignas. El gen GSTM1 está ausente en 8 de 8 (100%) en pacientes con cáncer de laringe y en 3 de 8 (37.5%) en pacientes con tumoraciones benignas. Genotipos GSTT1 ($p < 0.05$) y GSTM1 ($p < 0.05$) en pacientes con cáncer de laringe y en pacientes con tumoraciones benignas. Verde representa a los pacientes con tumoraciones benignas y Azul a los pacientes con cáncer de laringe.

Lo que refleja que 3 pacientes de los 8 que presentaban tumoraciones laríngeas benignas presentan mayor riesgo de desarrollar cáncer de laringe ya que presentan supresión de la enzima GSTM1.

La variabilidad en los resultados de estos estudios puede ser causada por las diferencias en los enfoques metodológicos utilizados para evaluar el sistema de GST. En primer lugar, algunos estudios evaluaron la expresión fenotípica de los genes GST, mientras que otros evaluaron su polimorfismo genotípico.

La amplificación por PCR se realizó en un volumen final de 50 μ l utilizando 500 ng de ADN, 1 μ l dNTPs, 1 μ l de Taq polimerasa y 1 μ l de buffer Y 1 μ l del Primer GST-M1 forward y 1 μ l del Primers GST-M1 reverse; 1 μ l del Primer GST-T1 forward y 1 μ l del Primer GST-T1 reverse; 1 μ l del Primer Albumina forward y 1 μ l del Primer Albumina reverse. El programa de PCR utilizado consta de 37 ciclos, y se inicia con una desnaturalización de 5 minutos, para luego ciclar: 30 segundos a 94°C, 30 segundos a 58°C



y 30 segundos a 72°C. La verificación del producto de PCR esperado se realizó en un gel de agarosa a 2.5 % teñido con bromuro etidio, se cargó en los pozos 5 µl de marcador molecular, 3 µl Loading buffer y 10 µl de Productos de PCR corrido a voltaje constante de 120V por 45 minutos (Fig. 1)

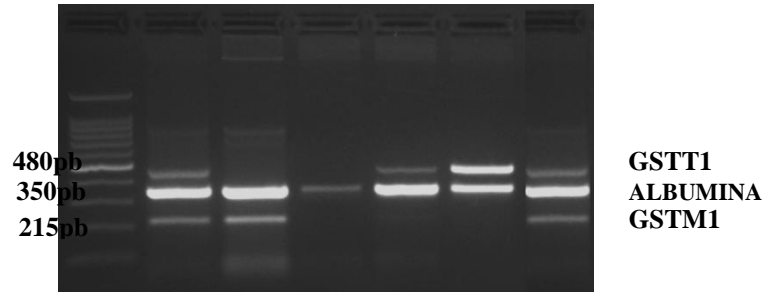
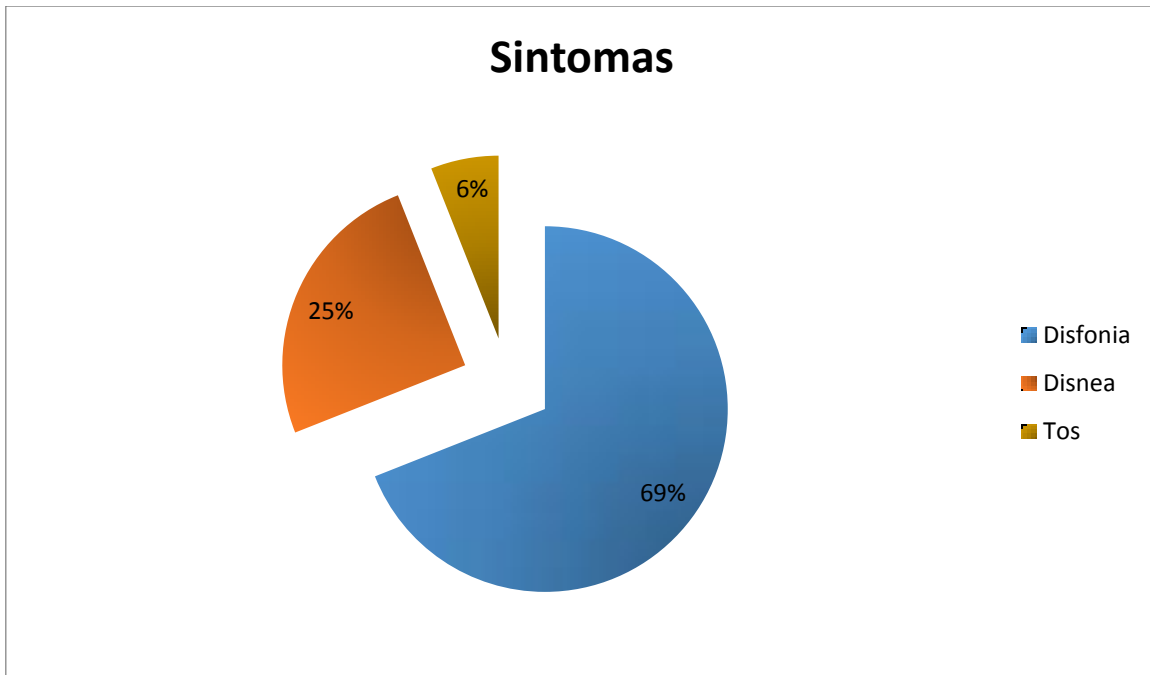


Figura 1: Genotipo GSTT1/GSTM1. Resultado de análisis de PCR Multiplex de glutatión-s-transferasa (GST). La GSTT1 (480 pb), ALBUMINA (350 PB) y GSTM1 (215 pb). Línea 1. Marcador molecular de 100 pb, líneas 2 y 7 son ambas GSTT1/GSTM1 positivas, la línea 3 GSTT1 negativo (genotipo nulo) y GSTM1 positivo, la línea 4 GSTT1/GSTM1 negativo (genotipo nulo), y las líneas 5 y 6 GSTT1 positivas y GSTM1 negativas (genotipo nulo).



Objetivo 3. Clasificación de las tumoraciones laríngeas según diagnóstico histopatológico en pacientes atendidos por el servicio de Otorrinolaringología.

Grafico 12. Síntomas que presentaron los pacientes al momento de su primera consulta.



Fuente: Tabla 11 (revisión de expedientes clínicos)

En relación al gráfico número 12 se refleja que de los 16 pacientes con mayor frecuencia 11 presentaron disfonía al momento de su primera consulta para un 69%, seguidos de 4 pacientes que presentaron disnea para un 25% y en menor frecuencia 2 pacientes que solo presentaron tos para un 6%.

Los síntomas que producen, dependen de su sitio de implantación y de su tamaño. Los tumores de cuerdas vocales se anuncian con disfonía y luego suele sobrevenir disnea de acuerdo al volumen de su incremento.

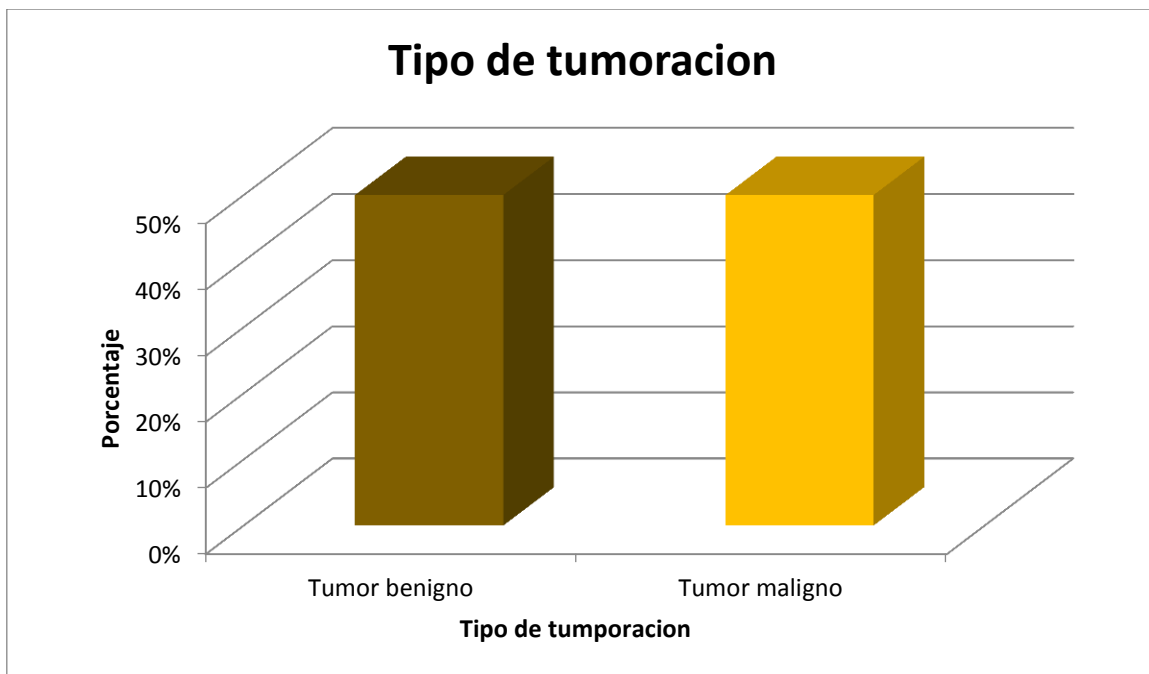
Los tumores supra glóticos se anuncian con disfagia, voz apagada y disnea, cuando el tamaño es grande; hay casos en que la primera queja puede ser la sensación de presión o de un bulto en garganta.



Los tumores de localización subglótica se presentan con disnea. Asimismo en los tumores benignos existe tos y cuando se ulceran aparece una Hemoptisis (Nazar Miranda Gonzalo 2003).

Los cánceres de laringe que se forman en las cuerdas vocales (glotis) a menudo causan un cambio en la voz, lo que puede conducir a que estos cánceres sean encontrados en etapas muy iniciales. Para las neoplasias malignas que no se han originado en las cuerdas vocales, la ronquera sólo ocurre después que estos alcanzan una etapa más avanzada o se han propagado a las cuerdas vocales. A veces no se descubren hasta que se han propagado hasta los ganglios linfáticos y la persona nota una masa que crece en su cuello.

Grafico 13. Clasificación de tumoraciones laríngea de los pacientes que participaron en el estudio



Fuente: Tabla 11 (revisión de expedientes clínicos)

El gráfico número 13 refleja que según la clasificación de las tumoraciones laríngeas en los 16 pacientes que participaron en el estudio 8 presentan tumoraciones benignas para un 50% y 8 con carcinoma de células escamosas de laringe para un 50% que corresponde a los casos controles incluidos en el estudio.



Todo paciente con tumoración benigna tiene riesgo de desarrollar cáncer de laringe y ser fumador de tabaco y consumidor de alcohol permite que este riesgo se incremente de forma muy significativa.

La susceptibilidad de cáncer debido a la exposición química se espera que sea determinada por un fenotipo individual para varias enzimas, ambos activadores y detoxicadores relativos a ese compuesto o mezclas de compuestos. La valoración de una sola enzima o genotipo no puede ser suficiente, dado el número de enzimas metabolizadoras de carcinógenos ya identificadas y la complejidad de mezclas químicas a las que un individuo está expuesto. En algunos estudios, el riesgo relativo asociado con el desarrollo de cáncer estaba aumentado con todas las combinaciones diferentes de genotipos desfavorables (odds ratios entre 1.3 y 14 con las diferentes combinaciones) (Hab Hanna 2003).

Grafico 14. Tipo de tumoraciones laríngeas benignas

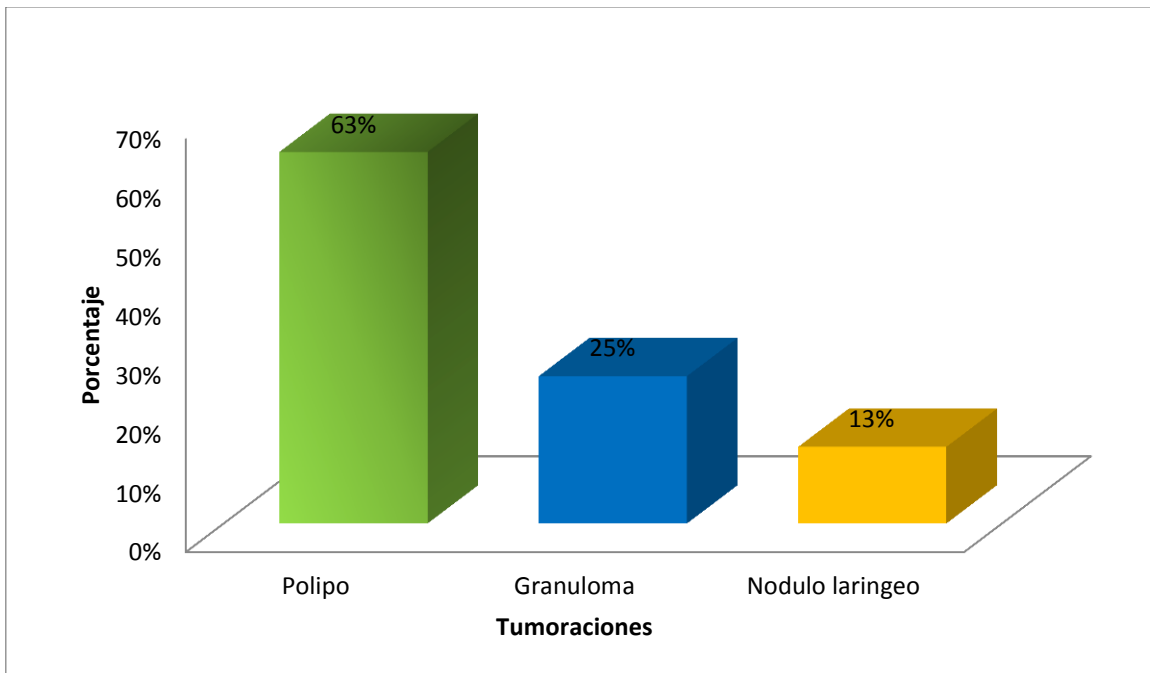


Tabla 12(revisión de expedientes clínicos)

El grafico número 14 refleja el tipo de tumoraciones benignas de laringe de 8 pacientes de los cuales el de mayor frecuencia fue 5 pacientes con pólipo para un 63%, seguido de 2 que presentaron granuloma para un 25% y en menor frecuencia 1 paciente que presento nódulo laríngeo para un 13%.



Estas tumoraciones laríngeas benignas se presentaron en su mayoría en la glotis seguidas de la supraglotis, lo que concuerda con algunas literaturas en relación al área de en donde se desarrollan. La clínica suele ser similar en los distintos tipos de tumor y está en relación a su localización y lento crecimiento. El tratamiento inicial es generalmente conservador, aunque se debe realizar una exceresis completa para evitar la recidiva, porque el tratamiento posterior es más radical (Arenas Calderón 2001).



IX. CONCLUSIONES

Después de haber culminado este trabajo investigativo, se puede concluir lo siguiente;

- Que el mayor número de pacientes con tumoraciones laríngeas se presenta en dos intervalos de edades entre de 36- 45 años y en mayores de 56 años, lo que guarda mucha relación con otros estudios ya que a esta edad acumulan muchos años en la práctica de ingesta de alcohol y el fumado, es relevante que no hay pacientes entre los 51-59 años pero estos podría ser el reflejo de que no son referidos adecuadamente o por falta de conocimiento sobre el tema, la mayoría son del sexo masculino, lo cual no refleja ninguna variación.
- Los pacientes del casco urbano desarrollan tumoraciones laríngeas en mayor frecuencia que los que habitan en el casco rural, siendo la mayoría desempleado y con bajo nivel educativo, esto debido al poco conocimiento que hay de estas patologías, su bajo nivel de escolaridad, asociado a la exposición de diferentes sustancias carcinogénicas a las que están expuestas las personas sobre todo del casco urbano.
- Un gran número de pacientes no solo son fumadores, si no que fuman más de diez cigarrillos al día, y están ingiriendo bebidas alcohólicas con mucha frecuencia, lo cual los predispone a que sean susceptibles para el desarrollo de cáncer laríngeo por el efecto carcinogénico que estas dos sustancias mezcladas provocan.
- A pesar del pequeño número de pacientes, los resultados de este estudio de un grupo bastante homogénea de los pacientes con carcinoma de laringe no tratado previamente indican que GST-M1 delección del gen se asoció con SCC de la laringe, y esta asociación puede ser causada por la aumento de la susceptibilidad como resultado de GST-M1 nulo. Presentando Supresion de la enzima GST-M1 con una prevalencia del 87,5% en muestras de tejido en pacientes con cáncer y un 62.5% en pacientes con tumoraciones laríngeas benignas, en muestras de sangre la prevalencia fue del 100% en pacientes con cáncer y de 37.5% de pacientes con tumoraciones laríngeas, lo que nos permite demostrar que la supresión de esta enzima es responsable en el desarrollo del cáncer laríngeo.



TESIS PARA OPTAR AL TÍTULO DE ESPECIALISTA EN OTORRINOLARINGOLOGÍA.

- La sintomatología que se presenta con frecuencia y los lleva a su primera consulta es la disfonía, la cual se asocia a disnea en algunos pacientes lo cual está relacionado con el tamaño y la extensión de la tumoración. La tumoración benigna que más se presenta es el pólipo de cuerdas vocales considerada como pseudotumor, el cual no llega a obstruir la luz glótica por completo, por lo que la mayoría acuden aquejando disfonía.



X. RECOMENDACIONES

AL MINSA, desarrollar estrategias en donde se involucre no solo al estado sino también a las diferentes ONG que tengan la proyección social de apoyar este tipo de estudio, para que en un futuro no lejano se les pueda realizar a los grupos vulnerables y de esta manera contribuir a la detección temprana y oportuna de todos aquellos pacientes con una alto porcentaje de desarrollar cáncer laríngeo.

Coordinar capacitaciones con expertos en el tema a profesionales de la salud de atención primaria y realizar tamizajes a pacientes que se encuentran en riesgo de desarrollar este problema da salud pública.

A estudiantes, médicos, residentes y profesionales de la salud, que continúen realizando trabajos investigativos que demuestren con evidencia científica que se puede detectar a pacientes en riesgo de desarrollar cáncer de laringe, y contribuir de esta manera a disminuir la prevalencia del mismo en nuestro país.

Alas personas en general que tengan un estilo de vida saludable, y evitar el consumo de tabaco y de alcohol, ya que en nuestro estudio se ha demostrado al igual que muchos otros que aumenta de forma muy significativa el riesgo de desarrollar cáncer de laringe.



XI. BIBLIOGRAFÍA

- 1) Hab Hanna, M. S. (2001). Genetic Deletions of Glutathione-S-Transferase as a Risk Factor in Squamous Cell Carcinoma of the Larynx. *American Journal of Otolaryngology*, 121-123.
- 2) Gong M, D. W. (2012). polimorfismos genéticos de la GSTM1, GSTT1, GSTP1 y con el riesgo de cáncer de próstata: un meta-análisis de 57 estudios. *pubmed.gov*, 1187-1197.
- 3) Kan Song. J. Y. (2012). Genetic Polymorphisms of Glutathione S-Transferase. *plos.ONE*, 364-371.
- 4) Blobe GC, Schieman WP, Lodish HF. Role of transforming growth factor beta in human disease. *N Engl J Med* 2000; 342:1350-8.
- 5) Angel Manuel Díaz Lanciego. Estudio genotípico del citocromo p450 en una cohorte de pacientes con cáncer de pulmón en el área sanitaria de Mérida. Universidad de extremadura Facultad de medicina departamento de patología y clínicas humanas. Mexico,2003 45-49
- 6) M. Nosheen, M Ishrat. Asociación de la GSTM1 y GSTT1 genes de supresión con el riesgo de cáncer de cabeza y cuello. 2010, Pakistán.
- 7) Xiuchan Guo, Brien Stphen. GSTM1 y GSTT1 genes de supresión y el riesgo de carcinoma nasofaríngeo.2008, Han China.
- 8) Arenas Calderon. Incidencia de tumores benignos de laringe. Hospital Arzobispo Loaiza Perú, 2001.
- 9) Sobin LH, Wittekind C. TNM classification of malignant tumors. 5th ed. New York: Wiley-Liss; 1997.
- 10) Perez-Ordóñez B, Beauchemin M, Jordan RCK. Molecular biology of squamous cell carcinoma of the head and neck. *J Clin Pathol* 2006; 59: 445-53.
- 11) Armstrong RW, Imrey PB, Lye MS, Armstrong MJ, Yu MC, Sani S. Nasopharyngeal carcinoma in Malaysian Chinese: occupational exposures to particles, formaldehyde and heat. *Int J Epidemiol*. 2000; 29:991-8.
- 12) Nazar Miranda Gonzalo y Cabezas Labrín, Luis. Departamento de Otorrinolaringología. Cáncer de laringe. Volumen 14 N2 abril 2003, Clínica Las Condes.



- 13) Stanula Martin, Brechlin Annette. Polimorfismo dentro de los genes de la glutatión S transferasa (GSTM1, GSTT1, GSTP1) riesgo de recaída en un precursor linfoblástica infantil aguda. 2000.
- 14) Ruwali Munindra, Madhu Singh. Polimorfismo en glutatión S transferasa: susceptibilidad y el resultado del tratamiento para el cáncer de cabeza y cuello.2011.



XII. ANEXOS

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE NICARAGUA

UNAN, MANAGUA

Hospital Escuela Antonio Lenin Fonseca

Servicio de Otorrinolaringología



CUESTIONARIO:

El carcinoma de células escamosas de laringe (LSCC) es el cáncer más frecuente de cabeza cuello y constituye aproximadamente un tercio de todos los casos. Los mecanismos moleculares exactos de patogénesis y la progresión de este tumor no se explican hasta ahora. La glutatión-S-transferasa GSTM1, está involucrada en la carcinogénesis asociada a exposición a hidrocarburos aromáticos policíclicos, nitrosaminas y dioxinas, tóxicos pre cancerígenos presentes en el humo del tabaco y el alcohol. Con el propósito de fortalecer la labor profesional es el siguiente tema:

Supresión genética de la glutatión-s-transferasa M-1, como factor de riesgo del carcinoma de células escamosas de laringe en pacientes atendidos por el servicio de otorrinolaringología, entre febrero -diciembre del 2016.

REVISION DE EXPEDIENTES CLINICOS

Fecha: _____

Núm. De expediente _____

A. Datos sociodemográficos

1. Edad _____ 2. Sexo _____ 3. Procedencia; Urbano _____
Rural _____



4. Estado civil: Casado(a) ____ Soltera(a) ____ Acompañado(a) ____

5. Número de hijos _____

6. Escolaridad:
 - a) Primaria incompleta ____ b) Primaria completa ____
 - c) Secundaria incompleta ____ d) Secundaria completa ____
 - e) Educación técnica ____ f) Educación superior ____

7. Ocupación: obrero(a) ____ Profesionales ____ Desempleados ____
Otros ____

B. Antecedentes patológicos y no patológicos

1. ¿Es usted fumador activo?
Sí _____ No _____
Si su respuesta es sí ¿Cuántos cigarros se fuma al día?
2. ¿Es usted tomador de bebidas alcohólicas?
Sí _____ No _____
Si su respuesta es sí ¿Con que frecuencia toma?

3. ¿Tiene usted alguna otra patología, concomitante?
Sí _____ No _____ ¿Cuál?

4. ¿Qué síntomas presentaba al momento de su primera consulta?

C. Resultados de biopsia realizada.

1. Número de biopsia ____



2. Procedimiento realizado a) biopsia _____ b) exceresis biopsia _____
c) Muestra de sangre _____

3. ¿Qué tipo de tumoración se le diagnóstico?
a) Tumor benigno _____ b) Ca laríngea _____ c) otros _____

4. ¿De acuerdo al diagnóstico histopatológico que tipo de tumoración benigna presenta?

5. ¿Cuál es el resultado de la medición de glutatión-s-transferasa M-1?
a) Positivo _____ b) Negativo _____ c) Otros _____

6. ¿En qué tejido se realizó la detección de glutatión-s-transferasa M-1 con mayor facilidad?
a) Sangre _____ b) mucosa laríngea _____ c) ambas



Protocolo de extracción de ADN genómico, en muestras de sangre (sólo QIAamp DNA Mini Kit)

- En un Eppi de 1.5 ml colocar 20 ul de proteasa-k.
- 200 ul de Mx de sangre total.
- 200 ul de buffer al mezclar 15 segundos vortex.
- Incubar a 56 grados centígrados diez minutos.
- Centrifugar breve.
- 200 ul de etanol mezclar 15 segundos vortex, centrifugar breve.
- Pasar del eppi a una columna.
- Centrifugar 6,000-8,000 por 1 minuto.
- Descartar el tubo colector y pasar a otro colector.
- 500 ul de buffer AW1 centrifugar 6,000-8,000RPM/1 min.
- Descartar el tubo colector y pasar a otro colector.
- 500 ul AW2 centrifugar a 14,000 RPM/3 min.
- Descartar el contenido del filtro, reutilizar el tubo colector y centrifugar 14,000 RPM/1 min.
- Descartar el tubo colector, trasvasar contenido de columna en un eppi nuevo.
- 30ul de buffer AE (Elucion) o agua destilada.
- Dejar en reposo 5 minutos.
- Centrifugar a 8,000 RPM/1 min.
- Cuantificar ADN (Nanodrop)
- Guardar ADN a -20 grados centígrados.

Protocolo de extracion de ADN genómico, Tejido de biopsia de laringe (sólo QIAamp DNA Mini Kit)

Cosas que hacer antes de comenzar:

- Equilibrar la muestra a temperatura ambiente (15-25 ° C).



- El calor de dos baños de agua o bloques de calentamiento: de uno a 56 ° C para su uso en el paso 2, y uno de 70 ° C para su uso en el paso 3.
- Equilibrar Buffer AE o agua destilada a temperatura ambiente durante la elución en el paso 8.
- Evitar la congelación y descongelación repetida de las muestras almacenadas, ya que esto conduce a la reducción tamaño de ADN.

Procedimiento

1. Corte hasta 25 mg de tejido en trozos pequeños, en lugar de un 1,5 ml tubo de microcentrífuga, y añadir 180 l de tampón ATL.
2. Añadir 20 l de proteinasa K, mezclar mediante agitación, y se incuba a 56 ° C hasta que el tejido es completamente lisada. Vortex
3. Centrifugar brevemente el tubo de 1.5 ml para eliminar las gotas del interior de la tapa.
4. Añadir 200 l de tampón AL a la muestra, mezclar con un vórtex durante 15 s , e incubar a 70 ° C durante 10 min. Centrifugar brevemente
5. 200 µl de etanol, Mezclar 15 seg vortex, centrifugar breve.
6. Pasar del eppi a una columna.
7. centrifugar 6,000 -8,000 RPM por minuto.
8. descartar el tubo colector y pasar a otro colector.
9. 500 µl Buffer AW1, centrifugar 6,000 -8,000 RPM por minuto.
10. descartar el tubo colector y pasar a otro colector.
11. 500 µl centrifugar de 14,00 - 20,000 RPM por 3 minuto.



12. descartar el filtrado, reutilizar el tubo colector y centrifugar de 14,00 - 20,000 RPM por 1minuto.

13. descartar el tubo colector, trasvasar el contenido de la columna en un nuevo eppi.

14. 200 µl Buffer AE, dejar en reposo 5 min, centrifugar a 6,000 -8,000 RPM por minuto.

15. cuantificar ADN.

16. guardar ADN a -20 °C.



TABLAS DEL CUESTIONARIO

Objetivo 1: Características socio demográficas de los pacientes atendidos por el servicio de otorrinolaringología que participaron en el estudio.

Tabla 1. Edad de los pacientes con tumoraciones laríngeas atendidos en el periodo del estudio.

| | Frecuencia | Porcentaje | Porcentaje válido | Porcentaje acumulado |
|------------------|------------|------------|-------------------|----------------------|
| 36 a 45 años | 8 | 50.0 | 50.0 | 50.0 |
| Válidos >56 años | 8 | 50.0 | 50.0 | 100.0 |
| Total | 16 | 100.0 | 100.0 | |

Fuente: revisión de expedientes clínicos

Tabla 2. Genero de los pacientes con tumoraciones laríngeas.

| | Frecuencia | Porcentaje | Porcentaje válido | Porcentaje acumulado |
|------------------|------------|------------|-------------------|----------------------|
| Masculin | 15 | 93.8 | 93.8 | 93.8 |
| Válidos Femenino | 1 | 6.3 | 6.3 | 100.0 |
| Total | 16 | 100.0 | 100.0 | |

Fuente: revisión de expedientes clínicos



Tabla 3. Nivel de escolaridad de los pacientes que participaron en el estudio.

| | Frecuencia | Porcentaje | Porcentaje válido | Porcentaje acumulado |
|-----------------------------|------------|------------|-------------------|----------------------|
| Válidos Primaria incompleta | 4 | 25.0 | 25.0 | 25.0 |
| Secundaria Completa | 5 | 31.3 | 31.3 | 56.3 |
| Educación Superior | 4 | 25.0 | 25.0 | 81.3 |
| Ninguna | 3 | 18.8 | 18.8 | 100.0 |
| Total | 16 | 100.0 | 100.0 | |

Fuente: revisión de expedientes clínicos

Tabla 4. Procedencia de los pacientes con tumoraciones laríngeas atendidos durante el periodo de estudio.

| | Frecuencia | Porcentaje | Porcentaje válido | Porcentaje acumulado |
|---------------|------------|------------|-------------------|----------------------|
| Válidos Rural | 3 | 18.8 | 18.8 | 18.8 |
| Urbano | 13 | 81.3 | 81.3 | 100.0 |
| Total | 16 | 100.0 | 100.0 | |

Fuente: revisión de expedientes clínicos

Tabla 5. Ocupacion de los pacientes con tumoraciones laríngea que participaron en el estudio.

| | Frecuencia | Porcentaje | Porcentaje válido | Porcentaje acumulado |
|----------------|------------|------------|-------------------|----------------------|
| Válidos Obrero | 7 | 43.8 | 43.8 | 43.8 |
| Desempleado | 8 | 50.0 | 50.0 | 93.8 |
| Otros | 1 | 6.3 | 6.3 | 100.0 |
| Total | 16 | 100.0 | 100.0 | |

Fuente: revisión de expedientes clínicos



Tabla 6. Pacientes que presentan patologías concomitantes

| | Frecuencia | Porcentaje | Porcentaje válido | Porcentaje acumulado |
|------------|------------|------------|-------------------|----------------------|
| Si | 2 | 12.5 | 12.5 | 12.5 |
| Válidos No | 14 | 87.5 | 87.5 | 100.0 |
| Total | 16 | 100.0 | 100.0 | |

Fuente: revisión de expedientes clínicos

Objetivo 2. Relación genotípica de GST-M1 de pacientes con carcinoma y tumorações benignas de laringe atendidos por el servicio de Otorrinolaringología.

Tabla 7. Cantidad de cigarrillos consumidos por los pacientes.

| | Frecuencia | Porcentaje | Porcentaje válido | Porcentaje acumulado |
|-----------------------|------------|------------|-------------------|----------------------|
| 1 al día | 1 | 6.3 | 6.3 | 6.3 |
| Válidos 6 a 10 al día | 7 | 43.8 | 43.8 | 50.0 |
| > 10 al día | 8 | 50.0 | 50.0 | 100.0 |
| Total | 16 | 100.0 | 100.0 | |

Fuente: revisión de expedientes clínicos

Tabla 8. Frecuencia en el consumo de alcohol

| | Frecuencia | Porcentaje | Porcentaje válido | Porcentaje acumulado |
|--------------------------|------------|------------|-------------------|----------------------|
| finés de semana | 4 | 25.0 | 25.0 | 25.0 |
| Válidos cada dos semanas | 10 | 62.5 | 62.5 | 87.5 |
| ocasional | 2 | 12.5 | 12.5 | 100.0 |
| Total | 16 | 100.0 | 100.0 | |

Fuente: revisión de expedientes clínicos



Tabla 9. Procedimiento realizado en los pacientes

| | Frecuencia | Porcentaje | Porcentaje válido | Porcentaje acumulado |
|-------------------|------------|------------|-------------------|----------------------|
| Válidos | | | | |
| Biopsia | 10 | 62.5 | 62.5 | 62.5 |
| Exceresis biopsia | 6 | 37.5 | 37.5 | 100.0 |
| Total | 16 | 100.0 | 100.0 | |

Fuente: revisión de expedientes clínicos

Objetivo 3. Clasificación de las tumoraciones laríngeas según diagnóstico histopatológico en pacientes atendidos por el servicio de Otorrinolaringología.

Tabla 10. Síntomas que presentaron los pacientes

| | Frecuencia | Porcentaje | Porcentaje válido | Porcentaje acumulado |
|----------|------------|------------|-------------------|----------------------|
| Válidos | | | | |
| Disfonía | 11 | 68.8 | 68.8 | 68.8 |
| Disnea | 4 | 25.0 | 25.0 | 93.8 |
| Tos | 1 | 6.3 | 6.3 | 100.0 |
| Total | 16 | 100.0 | 100.0 | |

Fuente: revisión de expedientes clínicos

Tabla 11. Clasificación de tumoraciones laríngeas de los pacientes que participaron en el estudio.

| | Frecuencia | Porcentaje | Porcentaje válido | Porcentaje acumulado |
|---------------|------------|------------|-------------------|----------------------|
| Válidos | | | | |
| Tumor benigno | 8 | 50.0 | 50.0 | 50.0 |
| Ca laríngea | 8 | 50.0 | 50.0 | 100.0 |
| Total | 16 | 100.0 | 100.0 | |

Fuente: revisión de expedientes clínicos



Tabla 12. Tipo de tumoración laríngea benigna

| Tumoraciones Benignas | | | | | |
|------------------------------|-----------------|-------------------|-------------------|------------------------------|---------------------------------|
| | | Frecuencia | Porcentaje | Porcentaje válido | Porcentaje acumulado |
| | Pólipo | 5 | 31.3 | 62.5 | 62.5 |
| Válidos | Granuloma | 2 | 12.5 | 25.0 | 87.5 |
| | Nódulo Laríngeo | 1 | 6.3 | 12.5 | 100.0 |
| | Total | 8 | 50.0 | 100.0 | |
| Perdidos | Sistema | 8 | 50.0 | | |
| Total | | 16 | 100.0 | | |

Fuente: revisión de expedientes clínicos



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE NICARAGUA

UNAN-MANAGUA

Hospital Escuela Antonio Lenin Fonseca

Servicio de otorrinolaringología

CONSENTIMIENTO INFORMADO

Supresión genética de la glutatión-s-transferasa M-1, como factor de riesgo del carcinoma de células escamosas de laringe en pacientes atendidos por el servicio de otorrinolaringología, entre febrero -diciembre del 2016. Esta enzima tiene una función primordial, ya que es detoxificantes sobre todo en aquellos que practican el fumado de tabaco e ingesta de alcohol.

Yo _____

Con número de cedula _____

Domicilio _____

Mayor de edad, en plena facultad física y mental, acepto por mi propia voluntad el formar parte de este estudio, siendo informado en que consiste el estudio, de la importancia del mismo y de las probables complicaciones.

Firma de paciente o responsable legal _____

Firma del médico _____ Código _____ Sello _____

Fecha _____



Sala de extracción de ADN (Polisal)



Muestra de sangre en tubos con EDTA



Tubos con PBS para muestras de tejido laríngeo

