



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

Facultad de Ciencias Químicas
Centro de Química del Instituto de Ciencias
Posgrado de Ciencias Químicas



**Determinación del valor clínico de los niveles
en sangre de TIM-3, Galectina-9, y
marcadores de anemia e inflamación en
pacientes con cáncer cervicouterino**

Tesis presentada para obtener el grado de Maestría en
Ciencias Químicas en el área de Bioquímica y Biología
Molecular

PRESENTA

IBT Lizeth Jocelyn Serna Villalobos

DIRECTORES DE TESIS

Dra. Verónica Vallejo Ruiz. CIBIOR-IMSS
Dr. Alfonso Daniel Díaz Fonseca. FCQ-ICUAP

PUEBLA, PUE.

ENERO, 2022.

**BUAP****A QUIEN CORRESPONDA:**

Por este conducto la Comisión Revisora formada por la Dra. Lourdes Millán Pérez Peña, Dr. José Gustavo López y López, Dra. Paola Maycotte González y el Dr. Julio Roberto Reyes Leyva, informan haber leído y aprobado para su impresión, la tesis denominada **“Determinación del valor clínico de los niveles en sangre de TIM-3, Galectina-9, y marcadores de anemia e inflamación en pacientes con cáncer cervicouterino”**, que presenta la alumna **Lizeth Jocelyn Serna Villalobos** para obtener el grado de Maestra en Ciencias Químicas.

Se extiende la presente a los trece días del mes de diciembre del año dos mil veintiuno.

ATENTAMENTE

Dra. Lourdes Millán Pérez Peña

Dr. José Gustavo López y López

Dra. Paola Maycotte González

Dr. Julio Roberto Reyes Leyva

Dedico esta tesis a mis padres Hugo Serna y Lizet Villalobos, quienes me apoyaron en todo momento para lograr esta meta.

Los amo.

Dedico esta tesis a Jorge Gutiérrez, quien es mi compañero, mi amigo, y mi fuente de inspiración.

Tu amor y apoyo me ayudaron a que esta etapa fuera más sencilla y cálida.

Espero que la vida nos permita seguir aprendiendo y creciendo juntos.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología.

No. becario: 1003716

Fondo Sectorial de Investigación en Salud

S0008-2017-1

No. de proyecto 290068.



Al Centro de Investigación Biomédica de Oriente del Instituto Mexicano del Seguro Social donde se realizó el trabajo experimental.

A la Unidad Médica de Alta Especialidad del Instituto Mexicano del Seguro Social por la colaboración de los servicios de:

- Oncología Médica.
- Radio-Oncología.
- Patología.
- Hematología.

Al apoyo adicional de los:

- Estudiantes de Servicio Social en Investigación en Salud.





Se agradece a la Vicerrectoría de Investigación y Estudios de Posgrado por el apoyo otorgado para la conclusión de esta tesis dentro del Programa IV, Investigación y Posgrado. Apoyar a los programas de posgrado para lograr su incorporación al Padrón Nacional de Calidad. Indicador establecido en el Plan de Desarrollo Institucional 2017-2021.

ÍNDICE

<i>Agradecimientos</i>	5
<i>Resumen</i>	13
<i>Lista de abreviaturas</i>	15
<i>Índice de figuras</i>	17
<i>Índice de tablas</i>	19
<i>Introducción</i>	20
Cáncer cervicouterino	20
Epidemiología	20
Factores de riesgo	21
Anatomía e histología del cérvix	21
Lesiones premalignas y CaCu	22
Tamizaje y diagnóstico	23
Clasificación histopatológica	25
Estadificación y supervivencia	27
Factores pronósticos	30
Tratamiento	32
Seguimiento postratamiento	34
Medicina de precisión para cáncer cervicouterino	36
Identificación de biomarcadores durante el curso clínico	36
Inmunoterapia	38
Anemia inducida por los tumores de cérvix o su tratamiento sistémico	40
Marcadores de anemia y pronóstico	42
Marcadores de anemia y respuesta al tratamiento	42
Inflamación impulsada por los tumores de cérvix	44
Marcadores de inflamación y pronóstico	45

Marcadores de inflamación y respuesta a tratamiento _____	46
Vías inmunosupresoras de los tumores de cérvix _____	48
Vía TIM-3/Gal-9 _____	49
TIM-3 y Gal-9 como biomarcadores de tamizaje _____	53
TIM-3 y Gal-9 como biomarcadores de pronóstico _____	54
TIM-3 y Gal-9 en el diseño de inmunoterapias _____	55
<i>Planteamiento del problema</i> _____	58
<i>Justificación</i> _____	61
<i>Hipótesis</i> _____	63
<i>Objetivos</i> _____	65
Objetivo general _____	65
Objetivos específicos _____	65
<i>Metodología</i> _____	67
Diseño de investigación _____	67
Estudio de casos y controles _____	67
Estudio trasversal _____	67
Seguimiento retrospectivo _____	70
Población de estudio _____	71
Universo de estudio _____	71
Criterios en la selección de pacientes _____	71
Criterios de inclusión _____	71
Criterios de exclusión _____	71
Criterios de eliminación _____	71
Características de la población _____	71
Muestras de pacientes _____	72

Variables de estudio	72
Proceso técnico	75
Recolección de sangre periférica	75
Manejo de muestras de sueros	75
Cuantificación de los niveles séricos de TIM-3 y Gal-9	75
Obtención y recuperación de datos relativos a la salud	76
Datos clínico-histopatológicos	77
Datos de biometrías hemáticas	77
Datos del programa de tratamiento	77
Datos de respuesta al tratamiento	78
Programa de tratamiento	78
Evaluación de respuesta al tratamiento	78
Análisis estadísticos	79
Verificación de comportamiento normal	79
Comprobación de homocedasticidad de varianzas	79
Comparaciones de dos muestras independientes	80
Comparaciones de tres o más muestras independientes	80
Análisis de correlación	80
Mapas de calor	81
Curvas ROC	82
Gráficos de calidad general del modelo predictivo	83
Registro del proyecto y aprobación por el comité ético de investigación clínica	83
<i>Resultados</i>	84
Estudio de casos y controles	84

Determinación de las diferencias entre los niveles séricos de TIM-3, Gal-9, y la proporción de Gal-9/TIM-3 de mujeres con citología normal y pacientes con CaCu _____	84
Evaluación de la capacidad de los niveles séricos de TIM-3, Gal-9, y Gal-9/TIM-3 para discriminar entre mujeres con citología normal y pacientes con CaCu _____	86
Estudio transversal _____	89
Determinación de las correlaciones de los niveles en sangre de TIM-3 y Gal-9, y de los marcadores de anemia e inflamación de pacientes con CaCu _____	89
Determinación de la relación de los niveles en sangre de marcadores de anemia e inflamación con las características clínico-histopatológicas de pacientes con CaCu _____	91
Evaluación de la relación de los niveles séricos de TIM-3 y Gal-9 con las características clínico-histopatológicas de pacientes con CaCu _____	103
Identificación de firmas sanguíneas basadas en TIM-3, Gal-9, y marcadores de anemia e inflamación en relación con las características clínico-histopatológicas de pacientes con CaCu _____	107
Evaluación de la asociación de los niveles en sangre de índices basados en TIM-3, Gal-9, y marcadores de anemia e inflamación con las características clínico-histopatológicas de pacientes con CaCu _____	112
Seguimiento retrospectivo _____	124
Determinación de la relación de la respuesta terapéutica y los niveles en sangre de marcadores de anemia e inflamación previo, durante, y posterior al tratamiento de pacientes con CaCu localmente avanzado _____	124
Evaluación de la capacidad de los niveles en sangre de marcadores de anemia e inflamación previo, durante y posterior al tratamiento de CaCu localmente avanzado para discriminar entre pacientes respondedoras y no respondedoras _____	131
<i>Discusión</i> _____	139
Estudio de casos y controles _____	139
Gal-9 sérica muestra potencial como biomarcador en el tamizaje de CaCu _____	140
TIM-3 sérico exhibe un rendimiento deficiente como biomarcador de tamizaje en CaCu _____	142

Los niveles séricos de TIM-3 y Gal-9 se correlacionan positivamente en mujeres con citología normal y pacientes con CaCu _____	145
El índice sérico de Gal-9/TIM-3 muestra potencial como biomarcador en el tamizaje de CaCu _____	146
Estudio transversal _____	149
Existen correlaciones de los niveles en sangre de Gal-9 y TIM-3, y de los marcadores de anemia e inflamación de pacientes con CaCu _____	150
Los niveles en sangre de marcadores de anemia e inflamación se relacionan con las características clínico-histopatológicas de peor pronóstico de pacientes con CaCu _____	153
Los niveles séricos de Gal-9 se relacionan con el tamaño tumoral en pacientes con CaCu _____	159
Los niveles séricos de TIM-3 se relacionan con la queratinización de tumores en pacientes con CaCu _____	161
Las firmas sanguíneas y los índices basados en TIM-3, Gal-9, y marcadores de anemia e inflamación se asocian con el tamaño y queratinización del tumor en pacientes con CaCu _____	163
Seguimiento retrospectivo _____	166
Los niveles en sangre de marcadores de anemia e inflamación previo, durante, y posterior al tratamiento de CaCu localmente avanzado muestran potencial como biomarcadores de predicción de beneficio terapéutico, vigilancia de respuesta terapéutica, y pronóstico postratamiento _____	167
<i>Conclusiones _____</i>	<i>172</i>
<i>Consideraciones y recomendaciones _____</i>	<i>174</i>
<i>Referencias _____</i>	<i>176</i>
<i>Materiales suplementarios _____</i>	<i>191</i>
Índice de tablas suplementarias _____	191
Índice de tablas de características de las pacientes _____	193
Índice de figuras suplementarias _____	194
Material suplementario 1: Consentimiento informado _____	195

Material suplementario 2: Descripción de variables de estudio	199
Variables experimentales	199
Características clínico-histopatológicas	199
Marcadores de inflamación	201
Marcadores de anemia	203
Índices basados en TIM-3, Gal-9, y marcadores de anemia e inflamación	204
Material suplementario 3: Protocolo del kit Human TIM-3 SimpleStep ELISA de Abcam	208
Material suplementario 4: Protocolo del kit Quantikine ELISA Human Gal-9 Immunoassay de R&D Systems	209
Material suplementario 5: Otros Resultados	210
Material suplementario 6: Tablas de características de las pacientes	228
Material suplementario 7: Figuras suplementarias	233

RESUMEN

Introducción: El cáncer cervicouterino (CaCu) se ubica en el segundo lugar como causa de muerte por neoplasias malignas en la mujer mexicana. El mal manejo clínico y terapéutico que enfrentan las pacientes con la enfermedad en entornos con recursos limitados a menudo conduce al diagnóstico tardío, el tratamiento inadecuado, y el seguimiento clínico ineficiente. En consecuencia, surge la necesidad de implementar nuevos programas de control más económicos para CaCu enfocados al diagnóstico temprano, la estimación de resultados clínicos a largo plazo, la predicción del beneficio terapéutico, la vigilancia de respuesta terapéutica, y el pronóstico postratamiento. La identificación de biomarcadores como herramientas complementarias con diferentes aplicaciones en el curso clínico de CaCu podría mejorar la atención médica habitual en contextos de bajos recursos. Por otro lado, los cambios en el panorama inmunológico sistémico impulsados por el tumor de cérvix o su tratamiento no son tomados en consideración en el manejo terapéutico actual. No obstante, esta información sobre el perfil sanguíneo podría ser útil para el diseño de nuevas inmunoterapias. La inmunoglobulina de linfocitos T 3 con dominio de mucina (TIM-3), Galectina-9 (Gal-9), y los marcadores de anemia e inflamación son reconocidos indicadores sanguíneos que permiten conocer el estado inflamatorio, y que han atraído gran interés en oncología por su capacidad para detectar a tumores sólidos, estimar los resultados clínicos a largo plazo, y predecir la respuesta al tratamiento. La evaluación de la posible utilidad clínica de los niveles en sangre de TIM-3, Gal-9, y marcadores de anemia e inflamación podría brindar nuevos biomarcadores para las diferentes etapas del manejo clínico y terapéutico de pacientes con CaCu. Además, podría proporcionar información valiosa sobre el panorama inmunológico sistémico para el diseño de nuevas estrategias inmunoterapéuticas contra los tumores de cérvix. Por lo que el objetivo de la presente tesis fue determinar el valor clínico de los niveles en sangre de TIM-3, Gal-9, y marcadores de anemia e inflamación en pacientes con CaCu.

Diseño de la investigación: La investigación se conformó por tres estudios clínicos. El estudio de casos y controles se realizó para evaluar el potencial de los niveles en sangre de TIM-3, Gal-9, y Gal-9/TIM-3 como biomarcadores para el tamizaje de CaCu. El estudio transversal se llevó a cabo para identificar nuevas firmas sanguíneas basadas en TIM-3, Gal-9, y marcadores de anemia e inflamación en relación con los rasgos clínico-histopatológicos de los tumores de cérvix. En el mismo estudio, se ejecutó la determinación de las relaciones de los niveles de 28 nuevos índices basados en TIM-3, Gal-9, y marcadores de anemia e inflamación con dos reconocidos factores pronósticos de CaCu. El seguimiento retrospectivo se diseñó para valorar la utilidad clínica de los niveles en sangre de marcadores de anemia e inflamación previo, durante, y posterior al tratamiento de CaCu localmente avanzado como posibles biomarcadores de predicción de beneficio terapéutico, vigilancia de respuesta terapéutica, y pronóstico postratamiento.

Resultados: Los niveles séricos de Gal-9, y Gal-9/TIM-3 muestran una buena capacidad para distinguir a las pacientes con CaCu de las mujeres con citología normal. En los ensayos identificamos nuevas firmas sanguíneas basadas en TIM-3, Gal-9, y marcadores de anemia e inflamación en relación con el tamaño y la queratinización de los tumores de cérvix. Los niveles en sangre de 17 nuevos índices basados en TIM-3, Gal-9, y marcadores de anemia e inflamación se asociaron con el tamaño y la queratinización de los tumores de cérvix. Los niveles en sangre de linfocitos, plaquetas/linfocitos, y monocitos/linfocitos previos al tratamiento de CaCu localmente avanzado logran distinguir a las pacientes que mostrarán beneficio terapéutico de las pacientes que presentarán resistencia a la terapia. Los niveles en sangre de leucocitos, neutrófilos, linfocitos, y neutrófilos/plaquetas durante el tratamiento de CaCu localmente avanzado pueden discriminar entre las pacientes con una adecuada o inadecuada respuesta terapéutica. Los niveles en sangre de plaquetas/linfocitos, eritrocitos, hemoglobina, y hematocrito posteriores al tratamiento de CaCu localmente avanzado permiten diferenciar entre las pacientes respondedoras y no respondedoras.

Conclusión: La presente investigación demostró que la Gal-9 sérica y el índice sérico de Gal-9/TIM-3 exhiben potencial como biomarcadores sensibles para el tamizaje de CaCu. En los análisis realizados identificamos nuevas firmas sanguíneas basadas en TIM-3, Gal-9, y marcadores de anemia e inflamación que proporcionan información valiosa sobre el macroambiente sistémico con posible utilidad para el diseño de nuevas inmunoterapias contra los tumores de cérvix. Dentro de nuestras aportaciones, también se encuentra el descubrimiento de 17 nuevos índices basados en TIM-3, Gal-9, y marcadores de anemia e inflamación con potencial para utilizarse como biomarcadores de pronóstico en CaCu. Además, la evaluación de los niveles en sangre de marcadores de anemia e inflamación previo, durante, y posterior al tratamiento de CaCu localmente avanzado reveló el potencial clínico de 3 biomarcadores de predicción de beneficio terapéutico, 4 biomarcadores de vigilancia de respuesta terapéutica, y 4 biomarcadores de pronóstico postratamiento.

LISTA DE ABREVIATURAS

ABC: Área bajo la curva.

AC: Adenocarcinoma.

AE: Carcinoma adenoescamoso.

BD y MD: Bien y moderadamente diferenciado.

CaCu: Cáncer cervicouterino.

CCE: Carcinoma de células escamosas.

CHCM: Concentración de hemoglobina corpuscular media.

CIBIOR: Centro de Investigación Biomédica de Oriente.

DAMP: *Damage-Associated Molecular Pattern*. En español, patrones moleculares asociados al daño.

EEM: Error estándar de la media.

ELISA: *Enzyme Linked Immunosorbent Assay*. En español, ensayo por inmunoadsorción ligado a enzimas.

FIGO: Federación internacional de ginecología y obstetricia.

Gal-1: Galectina-1.

Gal-3: Galectina-3.

Gal-9: Galectina-9.

HCM: Hemoglobina corpuscular media.

IC: Intervalo de confianza.

IMSS: Instituto Mexicano del Seguro Social.

LEIAG: Lesiones escamosas intraepiteliales de alto grado.

LEIBG: Lesiones escamosas intraepiteliales de bajo grado.

NETs: *Neutrophil Extracellular Traps*. En español, trampas extracelulares de neutrófilos.

NQ: No queratinizante.

NR: Paciente no respondedora al tratamiento.

PD: Pobremente diferenciado.

PIV: *Pan-Immune-Inflammation Value*. En español, valor pan-inmuno-inflamatorio.

POST-TX: Postratamiento.

PRE-TX: Pretratamiento.

Q: Queratinizante.

R: Paciente respondedora al tratamiento.

RDW: *Red cell Distribution Width*. En español, amplitud de distribución eritrocitaria.

ROC: *Receiver Operating Characteristic*. En español, característica de operación del receptor.

SIRI: *Systemic Inflammation Response Index*. En español, índice de respuesta a la inflamación sistémica.

TIM-2: *T cell immunoglobulin and mucin-domain containing-2*. En español, inmunoglobulina de linfocitos T 2 con dominio de mucina.

TIM-3: *T cell immunoglobulin and mucin-domain containing-3*. En español, inmunoglobulina de linfocitos T 3 con dominio de mucina.

UMAE: Unidad Médica de Alta Especialidad.

VCM: Volumen corpuscular medio.

VIH: Virus de inmunodeficiencia humana.

VPH: Virus del papiloma humano.

Δ: Cambio de los niveles en sangre del marcador durante el tratamiento.

ÍNDICE DE FIGURAS

<i>Figura 1. Anatomía e histología del cérvix</i>	22
<i>Figura 2. Cambios morfológicos en las células del cérvix que anteceden al CaCu</i>	23
<i>Figura 3. Imágenes representativas de las clasificaciones histopatológicas de los tumores de cérvix</i>	26
<i>Figura 4. Estadificación FIGO para CaCu</i>	28
<i>Figura 5. Uso de biomarcadores en el curso clínico del cáncer</i>	37
<i>Figura 7. Vía de producción y liberación de TIM-3 soluble y Gal-9</i>	51
<i>Figura 8. Representación gráfica de los valores p y coeficientes r en mapas de calor</i>	81
<i>Figura 9. Niveles séricos de Gal-9 y TIM-3 en mujeres con citología normal y pacientes con CaCu</i>	84
<i>Figura 10. Correlación de los niveles séricos de Gal-9 y TIM-3 en mujeres con citología normal y pacientes con CaCu</i>	85
<i>Figura 11. Niveles séricos del índice de Gal-9/TIM-3 de mujeres con citología normal y pacientes con CaCu</i>	86
<i>Figura 12. Capacidad de los niveles séricos de TIM-3 y Gal-9 para discriminar entre mujeres con citología normal y pacientes con CaCu</i>	87
<i>Figura 13. Capacidad de los niveles séricos del índice de Gal-9/TIM-3 para discriminar entre mujeres con citología normal y pacientes con CaCu</i>	88
<i>Figura 14. Correlaciones de los niveles en sangre de TIM-3 y Gal-9, y de los marcadores de anemia e inflamación en pacientes con CaCu</i>	90
<i>Figura 15. Relación de los niveles en sangre de plaquetas y linfocitos con los estadios FIGO de pacientes con CaCu</i>	92
<i>Figura 16. Relación de los niveles en sangre de marcadores de anemia con los estadios FIGO de pacientes con CaCu</i>	93
<i>Figura 17. Relación de los niveles en sangre de leucocitos y plaquetas con el tamaño tumoral de pacientes con CaCu</i>	95
<i>Figura 18. Relación de los niveles en sangre de neutrófilos/plaquetas, y PIV con el tamaño de tumor de pacientes con CaCu</i>	96
<i>Figura 19. Relación de los niveles en sangre de eritrocitos, hemoglobina, y hematocrito con el tamaño tumoral de pacientes con CaCu</i>	97
<i>Figura 20. Relación de los niveles en sangre de eosinófilos, monocitos, y linfocitos con el tipo histológico de tumores en pacientes con CaCu</i>	99
<i>Figura 21. Relación de los niveles en sangre de eosinófilos y linfocitos con el grado de diferenciación tumoral en pacientes con CaCu</i>	100
<i>Figura 22. Relación de los niveles en sangre de eosinófilos y linfocitos con la queratinización tumoral en pacientes con CaCu</i>	102
<i>Figura 23. Niveles séricos de Gal-9 y su capacidad para discriminar entre pacientes con tumores de cérvix ≤ 6 cm y >6 cm</i>	104
<i>Figura 24. Niveles séricos de TIM-3 y su capacidad para discriminar entre pacientes con tumores de cérvix queratinizantes y no queratinizantes</i>	106

<i>Figura 25. Firmas sanguíneas basadas en Gal-9, y marcadores de anemia e inflamación de pacientes con tumores de cérvix ≤ 6 cm y > 6 cm</i>	108
<i>Figura 26. Firmas sanguíneas basadas en TIM-3 y marcadores de anemia e inflamación de pacientes con tumores de cérvix no queratinizantes y queratinizantes</i>	110
<i>Figura 27. Niveles en sangre de neutrófilos/log(Gal-9), y su capacidad para discriminar entre pacientes con tumores de cérvix ≤ 6 cm y > 6 cm</i>	113
<i>Figura 28. Niveles en sangre de los índices basados en Gal-9 y marcadores de anemia de pacientes con tumores de cérvix ≤ 6 cm y > 6 cm</i>	115
<i>Figura 29. Capacidad de los niveles en sangre de eritrocitos/log(Gal-9), hemoglobina/log(Gal-9), hematocrito/log(Gal-9), VCM/log(Gal-9), HCM/log(Gal-9), y CHCM/log(Gal-9) para discriminar entre pacientes con tumores de cérvix ≤ 6 cm y > 6 cm</i>	116
<i>Figura 30. Niveles en sangre de los índices basados en TIM-3 y marcadores de inflamación de pacientes con tumores de cérvix queratinizantes, y no queratinizantes</i>	118
<i>Figura 31. Capacidad de los niveles en sangre de leucocitos/TIM-3, linfocitos/TIM-3, neutrófilos/TIM-3, basófilos/TIM-3, monocitos/TIM-3, y plaquetas/TIM-3 para discriminar entre pacientes con tumores de cérvix queratinizantes y no queratinizantes</i>	119
<i>Figura 32. Niveles en sangre de índices basados en TIM-3 y marcadores de anemia de pacientes con tumores de cérvix queratinizantes y no queratinizantes</i>	121
<i>Figura 33. Capacidad de los niveles en sangre de eritrocitos/TIM-3, hemoglobina/TIM-3, hematocrito/TIM-3, VCM/TIM-3, CHCM/TIM-3, y RDW/TIM-3 para discriminar entre pacientes con tumores de cérvix queratinizantes y no queratinizantes</i>	122
<i>Figura 34. Niveles en sangre de linfocitos, plaquetas, y monocitos previo al tratamiento de pacientes respondedoras y no respondedoras</i>	125
<i>Figura 35. Niveles en sangre de plaquetas/linfocitos, y monocitos/linfocitos previo al tratamiento de pacientes respondedoras y no respondedoras</i>	126
<i>Figura 36. Los niveles en sangre de Δleucocitos, Δlinfocitos, Δplaquetas, Δneutrófilos, y Δ(neutrófilos/plaquetas) de pacientes respondedoras y no respondedoras</i>	127
<i>Figura 37. Niveles en sangre de plaquetas, linfocitos, y plaquetas/linfocitos posterior al tratamiento de pacientes respondedoras y no respondedoras</i>	129
<i>Figura 38. Niveles en sangre de eritrocitos, hemoglobina, y hematocrito posterior al tratamiento de pacientes respondedoras y no respondedoras</i>	130
<i>Figura 39. Capacidad de los niveles en sangre de linfocitos, monocitos/linfocitos, y plaquetas/linfocitos previos al tratamiento para discriminar entre pacientes respondedoras y no respondedoras</i>	132
<i>Figura 40. Capacidad de los niveles en sangre de leucocitos, linfocitos, neutrófilos, y neutrófilos/plaquetas durante el tratamiento para discriminar entre pacientes respondedoras y no respondedoras</i>	134
<i>Figura 41. Capacidad de los niveles en sangre de plaquetas/linfocitos posterior al tratamiento para discriminar entre pacientes respondedoras y no respondedoras</i>	136
<i>Figura 42. Capacidad de los niveles en sangre de eritrocitos, hemoglobina, y hematocrito posterior al tratamiento para discriminar entre pacientes respondedoras y no respondedoras</i>	137

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Estadios FIGO de CaCu _____	29
Tabla 2. Variables experimentales y clínico-histopatológicas _____	73
Tabla 3. Índices basados en TIM-3, Gal-9, y marcadores de anemia e inflamación _____	74
Tabla 4. Parámetros de las curvas ROC de los niveles séricos de TIM-3, Gal-9, y Gal-9/TIM-3 de mujeres con citología normal y pacientes con CaCu _____	89
Tabla 5. Parámetros de la curva ROC de los niveles séricos de Gal-9 en pacientes con tumores de cérvix ≤ 6 cm y >6 cm _____	105
Tabla 6. Parámetros de la curva ROC de los niveles séricos de TIM-3 en pacientes con tumores de cérvix queratinizantes y no queratinizantes _____	107
Tabla 7. Parámetros de la curva ROC de los niveles en sangre de neutrófilos/log(Gal-9) de pacientes con tumores de cérvix ≤ 6 cm y >6 cm _____	114
Tabla 8. Parámetros de las curvas ROC de los niveles en sangre de índices basados en Gal-9 y marcadores de anemia de pacientes con tumores de cérvix ≤ 6 cm y >6 cm _____	117
Tabla 9. Parámetros de las curvas ROC de los niveles en sangre de índices basados en TIM-3, y marcadores de inflamación de pacientes con tumores de cérvix queratinizantes y no queratinizantes _____	120
Tabla 10. Parámetros de las curvas ROC de los niveles en sangre de índices basados en TIM-3 y marcadores de anemia de pacientes con tumores queratinizantes y no queratinizantes _____	123
Tabla 11. Parámetros de las curvas ROC de los niveles en sangre de los linfocitos, plaquetas/linfocitos, y monocitos/linfocitos previo al tratamiento de pacientes respondedoras y no respondedoras _____	133
Tabla 12. Parámetros de las curvas ROC de los niveles en sangre de Δ leucocitos, Δ neutrófilos, Δ linfocitos, y Δ (neutrófilos/plaquetas) durante el tratamiento de pacientes respondedoras y no respondedoras _____	135
Tabla 13. Parámetros de las curvas ROC de los niveles en sangre de plaquetas/linfocitos, eritrocitos, hemoglobina, y hematocrito posterior al tratamiento de pacientes respondedoras y no respondedoras _____	138

INTRODUCCIÓN

CÁNCER CERVICOUTERINO

EPIDEMIOLOGÍA

El CaCu es la cuarta neoplasia maligna más diagnosticada, y la tercera causa de muerte por cáncer en la mujer a nivel mundial. En México, el CaCu ocupa el segundo lugar en incidencia y mortalidad por cáncer en la mujer con cerca de 9,000 nuevos casos, y con más de 4,000 defunciones ([Sung et al., 2021](#)).

Los datos estadísticos de CaCu varían según el índice de desarrollo social de los países, y aquellos en vías de desarrollo, incluido México, soportan las mayores cargas. Alrededor del 80 % de los casos de CaCu se reportan en países de ingreso mediano bajo, donde las tasas de mortalidad por la enfermedad son 6 veces mayores que en los países de ingreso alto ([M. B. Shin et al., 2021](#)). En términos de supervivencia, en países desarrollados cerca del 66 % de las mujeres afectadas por CaCu sobreviven más de 5 años, pero en países en vías de desarrollo la supervivencia a 5 años es menor al 50 % ([Wassie et al., 2019](#)). La disparidad en las estadísticas de entornos menos desarrollados se debe al acceso limitado a servicios de salud, falta de personal capacitado, infraestructura hospitalaria deficiente, normas sociales, barreras culturales, entre otros ([Adedimeji et al., 2021](#); [Shah et al., 2019](#)). El mal manejo clínico del CaCu en estos países conduce a menudo al diagnóstico tardío, tratamiento inadecuado, y seguimiento clínico ineficiente ([Shah et al., 2019](#)). En consecuencia, se requiere la implementación de programas de control más económicos y asequibles para CaCu enfocados al diagnóstico temprano, estimación de resultados clínicos a largo plazo, predicción del beneficio terapéutico, vigilancia de respuesta terapéutica, y pronóstico postratamiento ([Adedimeji et al., 2021](#); [Shah et al., 2019](#)).

FACTORES DE RIESGO

El desarrollo de CaCu se ha vinculado con una red compleja de factores de riesgo. El principal factor de riesgo de CaCu es la infección persistente por el Virus del Papiloma Humano (VPH) de alto riesgo (Yamaguchi et al., 2021; S. Zhang et al., 2020). El VPH es un virus ADN bicatenario de transmisión sexual, y que se encuentra presente en el 99 % de los casos con CaCu (Gaete et al., 2021; Gennigens et al., 2021). Existen algunos otros factores de riesgo vinculados con las etapas del desarrollo de CaCu por el VPH. Los factores de riesgo que favorecen la infección por este virus incluyen el inicio temprano de vida sexual activa, y tener múltiples parejas sexuales (Yamaguchi et al., 2021). Entre los factores de riesgo que impulsan la persistencia viral y la progresión maligna se encuentra el consumo de cigarro, multiparidad, coinfecciones con otros virus de transmisión sexual, inflamación crónica, y estados de inmunodeficiencia (Trottier & Franco, 2006; Yamaguchi et al., 2021).

ANATOMÍA E HISTOLOGÍA DEL CÉRVIX

El cérvix sano se clasifica en tres regiones de acuerdo con su ubicación anatómica, y clasificación histológica. Las tres regiones del cérvix incluyen al ectocérvix, el endocérvix, y la zona de transformación (Deng & Woodworth, 2019). El endocérvix es la región distal al útero, y se conforma por una sola capa de células columnares secretoras de mucina organizadas en una red de criptas. El ectocérvix es la región proximal a la vagina, y se constituye por células escamosas en varias capas ubicadas en la lámina basal, parabasal, suprabasal, y superficial (Doorbar & Griffin, 2019; Tomasi et al., 2019). La región donde se une el epitelio columnar y el epitelio escamoso estratificado se denomina zona de transformación, y en esta se originan la mayoría de los cambios malignos (Doorbar & Griffin, 2019). Las tres regiones del cérvix se exponen en la **Figura 1**.

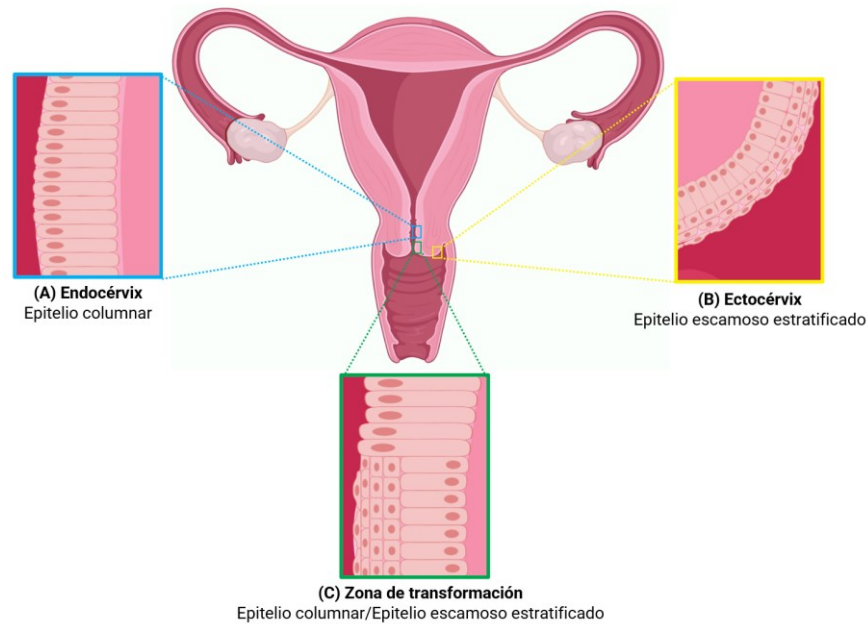


Figura 1. Anatomía e histología del cérvix

El cérvix sano se conforma por tres regiones de acuerdo con su ubicación anatómica y clasificación histológica. **(A)** El endocérnix está revestido por epitelio columnar. **(B)** El ectocérnix se encuentra cubierto por epitelio escamoso estratificado. **(C)** La zona de transformación corresponde a la unión del epitelio columnar y epitelio escamoso estratificado. Imagen creada con apoyo en los reportes: (Doorbar & Griffin, 2019; Tomasi et al., 2019).

LESIONES PREMALIGNAS Y CACU

El desarrollo de CaCu se ve precedido por lesiones premalignas en las células que revisten el cérvix. Estas reciben el nombre de lesiones escamosas intraepiteliales, y se clasifican en dos grupos de acuerdo con el sistema Bethesda. Las lesiones escamosas intraepiteliales de bajo grado (LEIBG) se limitan al tercio inferior del epitelio. En cambio, las lesiones escamosas intraepiteliales de alto grado (LEIAG) se localizan en el tercio inferior, extendiéndose al tercio medio o superior del epitelio (Mukhopadhyay et al., 2013). En CaCu, la transformación morfológica maligna predomina en los diferentes estratos del epitelio, y se pierde la integridad de la membrana basal (M. Y. Lee & Shen, 2012). Cada uno de estos escenarios morfológicos en el tejido del cérvix se ilustran en la **Figura 2**.

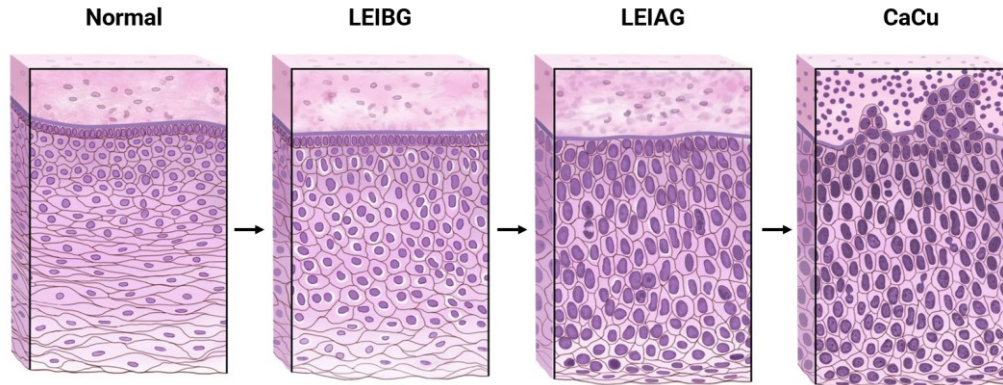


Figura 2. Cambios morfológicos en las células del cérvix que anteceden al CaCu

Representación gráfica de los cambios en la morfología de las células del cérvix a través del epitelio normal, con lesiones premalignas, y con CaCu. **Abreviaturas.** LEIBG: Lesiones escamosas intraepiteliales de bajo grado. LEIAG: Lesiones escamosas intraepiteliales de alto grado. CaCu: Cáncer cervicouterino. Imagen modificada de [Terese Winslow \(2014\)](#).

TAMIZAJE Y DIAGNÓSTICO

El propósito del tamizaje es detectar lesiones precancerosas, o cáncer en el cérvix ([Shah et al., 2019](#)). En cambio, el diagnóstico diferencial busca descartar aquellas pacientes con otras condiciones, e identificar a los casos con CaCu ([Fowler et al., 2021](#)). Ambos procesos se realizan mediante pruebas de rutina para que el médico identifique la enfermedad en etapas tempranas con más opciones de tratamiento, y mayores probabilidades de beneficio terapéutico ([Bhatla et al., 2021](#); [Shah et al., 2019](#)).

Los principales métodos para el tamizaje de CaCu son las pruebas de Papanicolaou y del VPH ([Zigang Li et al., 2021](#)). La prueba de Papanicolaou consiste en un frotis del cérvix que permite identificar lesiones precancerosas o cáncer. En cambio, la prueba de VPH es una prueba molecular que se utiliza para detectar infecciones por VPHs de alto riesgo que podrían conducir a cáncer ([Tsikouras et al., 2016](#)).

El proceso de tamizaje para CaCu requiere de las pruebas de VPH y Papanicolaou, y su realización de forma periódica. Las recomendaciones para la detección de CaCu establecen que las mujeres de 25 a 65 años deben someterse a la prueba conjunta de VPH y Papanicolaou cada cinco años, o la prueba de Papanicolaou en solitario cada tres años. La evidencia ha demostrado que la prueba conjunta es más sensible que la prueba de Papanicolaou sola (Fontham et al., 2020).

Las herramientas empleadas en el tamizaje para CaCu poseen algunas limitaciones. En países desarrollados con altos estándares y nivel técnico, la sensibilidad de la prueba de Papanicolaou puede alcanzar valores del 90 %, pero en países en vías de desarrollo esta es menor al 40 % (S. Zhang et al., 2020). La baja sensibilidad de esta prueba contribuye a que las lesiones premalignas progresen, y sean detectadas en etapas avanzadas (Nkwabong et al., 2019). Si bien el uso de la prueba de VPH ha logrado mejorar la sensibilidad para detectar precáncer y cáncer en el cérvix, en países de ingreso mediano bajo su uso es limitado debido a su alto costo (Perkins et al., 2020; Vale et al., 2021). Además, esta prueba molecular cuenta con una baja especificidad para CaCu, ya que un gran número de las infecciones por VPH son transitorias y no conducen a la transformación maligna (Zigang Li et al., 2021).

Posterior al proceso de tamizaje, el manejo clínico de las pacientes se determina con base en los resultados actuales y previos de las pruebas de Papanicolaou, y de VPH. Estos resultados definirán las recomendaciones sobre la examinación con colposcopia, y el análisis histopatológico de una biopsia del cérvix. Si se verifica la presencia de lesiones precancerosas, las pacientes deberán ser sometidas a tratamiento, y a programas de vigilancia por periodos más cortos a los recomendados para el tamizaje de rutina (Perkins et al., 2020).

En caso de confirmar el diagnóstico de CaCu, se procede a determinar las características histopatológicas, y la etapa del tumor del cérvix (Fowler et al., 2021).

CLASIFICACIÓN HISTOPATOLÓGICA

La clasificación histopatológica de los tumores de cérvix requiere de la examinación de una biopsia. De acuerdo con sus características microscópicas, el patólogo puede clasificar a los tejidos tumorales por el tipo histológico, el grado de diferenciación, y la queratinización.

El CaCu se clasifica en tipos histológicos dependiendo del tipo celular donde se origina el carcinoma. Los tres más prevalentes son el carcinoma de células escamosas, adenocarcinoma, y carcinoma adenoescamoso (**Figura 3A**). El carcinoma de células escamosas representa cerca del 87 % de los casos, y se origina en el epitelio escamoso estratificado. El adenocarcinoma posee una incidencia de alrededor del 9 %, y surge en el epitelio columnar (L. Cao et al., 2019; Doorbar & Griffin, 2019). El origen epitelial del carcinoma adenoescamoso no se ha logrado determinar. Este tipo histológico debe su nombre a sus componentes malignos mixtos de tipo columnar-escamosos, y se diagnostica con una frecuencia menor al 4 % (L. Cao et al., 2019; Lei et al., 2019).

Los tejidos tumorales de cérvix también pueden dividirse según el grado de diferenciación celular en bien, moderadamente, y pobremente diferenciados (**Figura 3B**). Esta clasificación se basa en la semejanza histológica de las células tumorales con las células del tejido de origen (Mocciaro et al., 2016). Las células de tumores bien diferenciados se parecen mucho a las células del tejido normal, y presentan un crecimiento lento. Las células de tumores moderadamente diferenciados exhiben un menor parecido, y el crecimiento es más rápido de lo normal. En el caso de las células de tumores pobremente diferenciados

muestran nulo parecido a las células normales de las cuales preceden, y el crecimiento es muy rápido (CRUK, 2020).

Los carcinomas de células escamosas se subclasifican en dos grupos dependiendo de su contenido de queratina, y algunos otros criterios histológicos. Los tumores de cérvix queratinizantes presentan buena diferenciación con alto contenido de queratina en estructuras perladas. En contraste, los tumores de cérvix no queratinizantes exhiben moderada a pobre diferenciación con bajo contenido de queratina, y carecen de perlas de queratina (Soslow et al., 2021). Esta clasificación de los tumores de cérvix se puede apreciar en la **Figura 3C**.

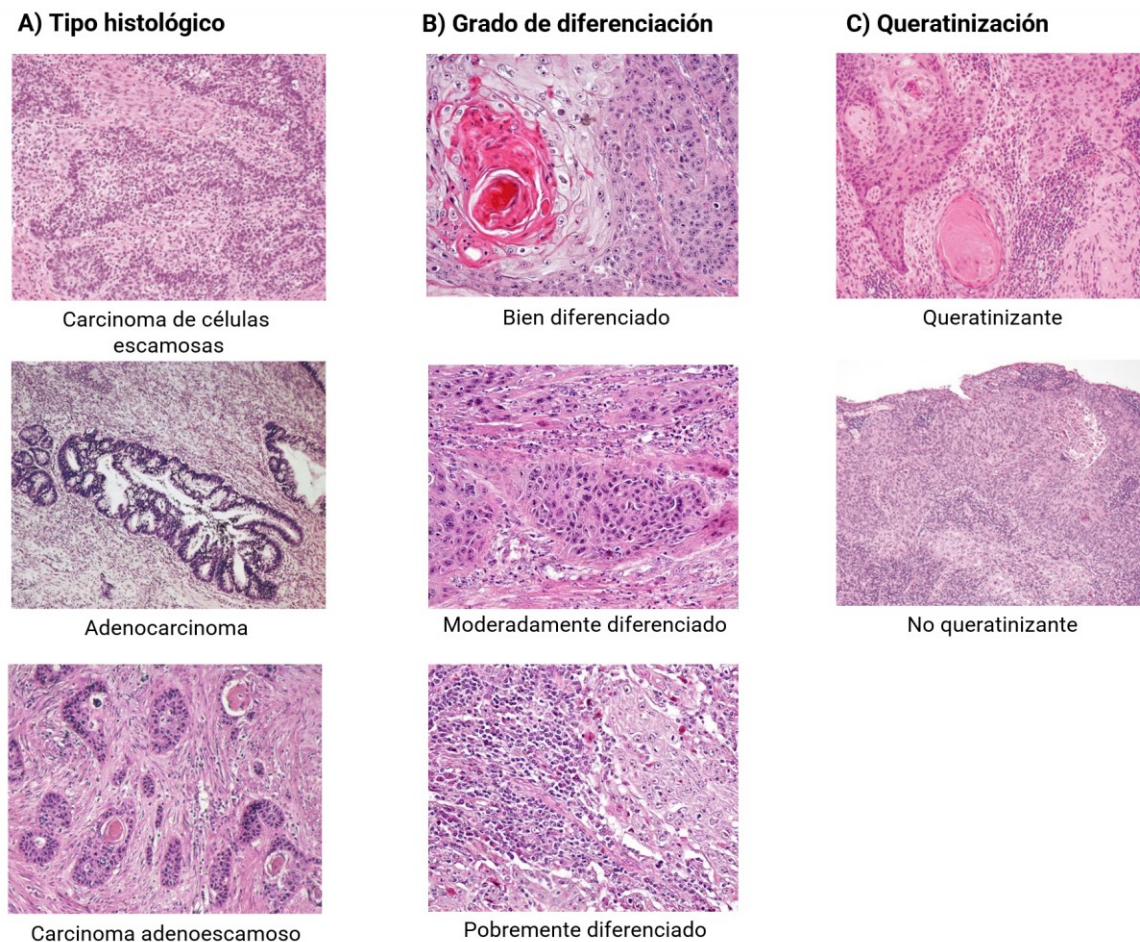


Figura 3. Imágenes representativas de las clasificaciones histopatológicas de los tumores de cérvix

Los tumores de cérvix pueden clasificarse por el **A)** tipo histológico, **B)** el grado de diferenciación, y **C)** la queratinización. Las fotografías de los tejidos tumorales teñidos con hematoxilina y eosina se tomaron de: (Bratu et al., 2015; Dallenbach & Knebel, 2018; Soslow et al., 2021).

ESTADIFICACIÓN Y SUPERVIVENCIA

La estadificación permite al médico oncólogo dictar la etapa del tumor de cérvix a través de diferentes evaluaciones. La determinación del estadio clínico se basa en el tamaño del tumor primario, y su extensión anatómica en el momento del diagnóstico. Esta clasificación se realiza de acuerdo con los lineamientos establecidos por la Federación Internacional de Ginecología y Obstetricia (FIGO) (Bhatla et al., 2019; Grigsby et al., 2020), y es actualmente utilizada en México (IMSS, 2017). La asignación del estadio clínico requiere de exámenes físicos, análisis histopatológicos, y exploraciones anatómicas por técnicas de imágenes (Bhatla et al., 2019).

El sistema de estadificación de FIGO para CaCu consiste en cuatro estadios principales, y estos proporcionan información de valor pronóstico. En el estadio I el carcinoma se limita al cérvix. En el estadio II se aprecia la infiltración del carcinoma a la vagina o los parametrios. En el estadio III el carcinoma invade un tercio inferior de la vagina, pared pélvica y/o ganglios linfáticos ocasionando a menudo hidronefrosis o insuficiencia renal. En el estadio IV se manifiesta diseminación del carcinoma a órganos adyacentes y/o distantes (Bhatla et al., 2019; Merz et al., 2020). La tasa de supervivencia libre de la enfermedad a 5 años es del 87 % para el estadio I, del 71 % para el estadio II, del 55 % para el estadio III, y del 16 % para el estadio IV. La supervivencia disminuye a medida que progresan los estadios, y el estadio IV posee la estimación de vida más corta (Grigsby et al., 2020).

De acuerdo con la estadificación de FIGO para CaCu, los cuatro estadios principales se desglosan en 14 subestadios tumorales (Bhatla et al., 2019; Merz et al., 2020). Cada uno de estos se describe a detalle en la **Figura 4** y **Tabla 1**.

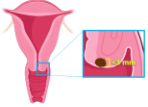
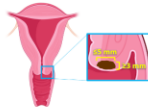
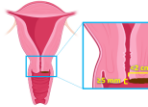
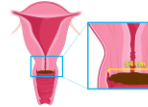
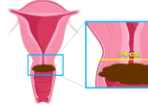
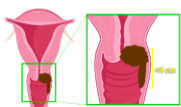
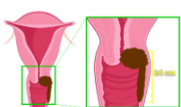

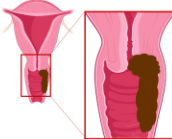
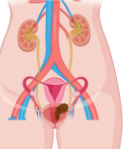
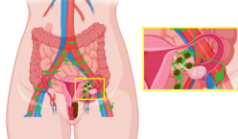
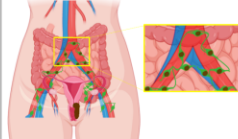
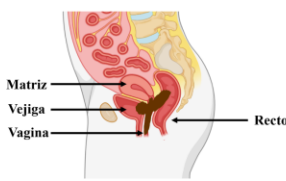
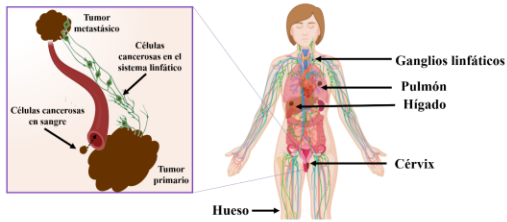
Estadio I				
IA		IB		
IA1	IA2	IB1	IB2	IB3
				
Invasión estromal <3 mm	Invasión estromal ≥ 3 mm y ≤ 5 mm en su mayor dimensión	Tumor <2 cm en su mayor dimensión con una profundidad de invasión >5 mm	Tumor ≤ 4 cm en su mayor extensión con una profundidad de invasión ≥ 2 cm	Tumor >4 cm en su mayor dimensión
Estadio II				
IIA		IIB		
IIA1	IIA2			
				
Tumor con <4 cm en su mayor extensión	Tumor con ≥ 4 cm en su mayor extensión	Invasión de parametrios		
Estadio III				
IIIA	IIIB	IIIC		
		IIIC1	IIIC2	
				
El tumor se extiende 1/3 inferior de la vagina	Diseminación a la pared pélvica, hidronefrosis y/o insuficiencia renal	Metástasis en los ganglios linfáticos pélvicos	Metástasis en ganglios linfáticos paraaórticos	
Estadio IV				
IVA		IVB		
				
Diseminación a órganos adyacentes		Diseminación a órganos distantes		

Figura 4. Estadificación FIGO para CaCu

Se muestran los estadios clínicos para CaCu de acuerdo con el tamaño del tumor y su extensión anatómica. Imagen elaborada con apoyo en los reportes: (Bhatla et al., 2019; Merz et al., 2020).

Tabla 1. Estadios FIGO de CaCu

Estadios FIGO		
Estadio I: El tumor se limita al cérvix.	Estadio IA: El carcinoma microinvasivo es visible de manera microscópica. La profundidad máxima de invasión es <5 mm.	Estadio IA1: Invasión estromal <3 mm. Estadio IA2: Invasión estromal ≥ 3 mm y ≤ 5 mm en su mayor dimensión.
	Estadio IB: El carcinoma invasivo es visible de manera macroscópica. La profundidad máxima de invasión del estroma es ≥ 5 mm.	Estadio IB1: Tumor <2 cm en su mayor dimensión con una profundidad de invasión de >5 mm. Estadio IB2: Tumor ≤ 4 cm en su mayor dimensión con profundidad de invasión de ≥ 2 cm. Estadio IB3: Tumor >4 cm en su mayor dimensión.
	Estadio II: El tumor infiltra la vagina o los parametrios.	Estadio IIA: El carcinoma infiltra dos tercios superiores de la vagina. Estadio IIB: El carcinoma infiltra los parametrios.
Estadio III: El tumor infiltra un tercio inferior de la vagina, la pared pélvica y/o ganglios linfáticos ocasionando a menudo hidronefrosis o insuficiencia renal.	Estadio IIIA: El carcinoma afecta un tercio inferior de la vagina. Estadio IIIB: El carcinoma se extiende a la pared pélvica ocasionando a menudo hidronefrosis o insuficiencia renal.	Estadio IIIC1: Metástasis a ganglios linfáticos pélvicos. Estadio IIIC2: Metástasis a ganglios linfáticos paraaórticos.
	Estadio IV: El tumor invade órganos adyacentes y/o distantes.	Estadio IVA: El carcinoma se extiende a órganos adyacentes como el recto, matriz, vejiga, y vagina. Estadio IVB: El carcinoma se propaga a órganos distantes.

Los estadios FIGO también pueden clasificarse en tres grupos de acuerdo con el grado de diseminación del tumor primario de cérvix, y se ha informado que estos se asocian con la supervivencia de las pacientes. El CaCu en etapa temprana incluye a los estadios IA-IB2, el CaCu localmente avanzado se conforma por los estadios IB3-IVA, y el CaCu metastásico de *novo* corresponde al estadio IVB (Gennigens et al., 2021; Oishi et al., 2016). La tasa de supervivencia a 5 años del CaCu temprano, localmente avanzado, y metastásico es secuencialmente de 92 %, 65 %, y 17 % (Gennigens et al., 2021).

FACTORES PRONÓSTICOS

La mejora de la supervivencia para CaCu depende en gran medida de la información pronóstica disponible en el momento del diagnóstico, y su utilidad para guiar la toma de decisiones en el manejo clínico de las pacientes. La predicción del pronóstico individual en CaCu se realiza con ayuda de factores específicos del tumor. Esta información sobre el riesgo pronóstico permite a los médicos oncólogos seleccionar el enfoque terapéutico, y el programa de seguimiento postratamiento asociados con mayores probabilidades de éxito para cada paciente (He et al., 2021; Ma et al., 2018).

El principal factor pronóstico de CaCu es el estadio FIGO, pero su predicción pronóstica es poco precisa. Informes anteriores han documentado diferentes tasas de supervivencia en pacientes con el mismo estadio clínico (Feng et al., 2021; Grigsby et al., 2020). Esto se debe a menudo a la asignación incorrecta del estadio clínico a causa de enfermedades inflamatorias pélvicas, endometriosis, o estados de obesidad (S. Li et al., 2016; Ma et al., 2018). Además, la adecuada estadificación de los tumores de cérvix en etapas avanzadas se ve obstaculizada en países en desarrollo que carecen de la infraestructura para realizar la exploración anatómica por técnicas de imágenes (Olpin et al., 2018).

Existen otros factores pronósticos basados en las características clínico-histopatológicas del tumor de cérvix. Entre estos se destaca al tamaño, el tipo histológico, el grado de diferenciación, y la queratinización. El tamaño de la dimensión mayor del tumor de cérvix permite predecir el tiempo promedio de vida. La supervivencia media de los individuos con tumores de cérvix ≤ 4 cm, 4 a 6 cm, y >6 cm es secuencialmente de 66.1, 50.3, y 38.3 meses (Kyung et al., 2015). Los tres tipos histológicos más prevalentes en CaCu también proporcionan información pronóstica valiosa. La supervivencia libre de recidiva a 5 años es del 85.1 % para el carcinoma de células escamosas, del 78.2 % para el adenocarcinoma, y del 72.3 % para el carcinoma adenoescamoso (L. Cao et al., 2019). El grado de diferenciación es otro rasgo histopatológico con valor pronóstico, y los tumores con menores grados de diferenciación se vinculan con las estimaciones de vida más cortas. La tasa de supervivencia general a 5 años es del 79.6 %, 70.4 %, y 62.3 % para tumores bien diferenciados (grado 1), moderadamente diferenciados (grado 2), y pobremente diferenciados (grado 3), respectivamente (Matsuo et al., 2018). Asimismo, la queratinización tumoral influye en los resultados clínicos a largo plazo, y el aumento de la cantidad de queratina en el tumor de cérvix se asocia con una baja supervivencia. Alrededor del 65.3 % de las pacientes con tumores no queratinizantes sobreviven más de 5 años, pero en pacientes con tumores queratinizantes la supervivencia es menor al 63.4 % (Sanjeev Kumar et al., 2009). En conjunto, estos cuatro factores específicos del tumor permiten predecir el riesgo pronóstico de las pacientes con CaCu. Sin embargo, la determinación de las características clínicas e histopatológicas del tumor es poco confiable debido a que se realiza mediante técnicas cualitativas y se encuentra sujeta al criterio del evaluador.

TRATAMIENTO

El tratamiento de CaCu se determina principalmente por la etapa del tumor de la paciente (Petignat & Roy, 2007). No obstante, existen otros factores que influyen en la selección del enfoque terapéutico como la edad, posibilidad de maternidad a futuro, características histológicas del tumor, entre otros (Bethesda, 2021). De acuerdo con estas consideraciones, las intervenciones clínicas para tratar a los tumores de cérvix incluyen a la cirugía, radioterapia, quimioterapia, terapia dirigida, inmunoterapia, o alguna combinatoria de estas (Bethesda, 2021; Bhatla et al., 2021).

Los tratamientos actuales permiten combatir al tumor de cérvix a través de diferentes protocolos clínicos. La cirugía consiste en la extirpación del tumor en una operación. En la radioterapia se suelen emplear rayos X de alta energía para erradicar las células tumorales o evitar su crecimiento. La quimioterapia es un tratamiento que utiliza medicamentos para destruir a las células cancerosas. La forma de administración puede ser regional o sistémica. La primera se aplica a una zona específica para inducir un efecto local. En cambio, la segunda se suministra vía oral o venosa para generar un efecto sistémico. La terapia dirigida es una estrategia que usa fármacos u otras sustancias para identificar y atacar células tumorales, pero sin dañar a las células normales. En cambio, la inmunoterapia es un tipo de tratamiento que utiliza medicamentos diseñados para impulsar, dirigir, o restaurar la inmunidad antitumoral. Lo que conduce a que el propio sistema inmunológico del paciente combata al tumor (Bethesda, 2021).

La selección del tratamiento depende en gran medida del grado de diseminación del tumor de cérvix. En estadios tempranos donde el tumor se encuentra limitado al cérvix, la cirugía es el principal tratamiento recomendado. En estadios con tumores localmente

avanzados, el tratamiento estándar es la quimiorradioterapia concurrente a base de cisplatino. Para el caso del estadio metastásico no se disponen de opciones para su tratamiento curativo. Sin embargo, a menudo se sugiere la quimioterapia como tratamiento paliativo (Petignat & Roy, 2007). Cuando el cáncer no mejora con los tratamientos estándares, algunos individuos tienen la opción de participar en ensayos clínicos con nuevos enfoques como la terapia dirigida o inmunoterapia (Bethesda, 2021).

A raíz del diagnóstico tardío, la mayoría de los casos son de estadios localmente avanzados (Espenel et al., 2018). Si bien la quimiorradioterapia concurrente a base de cisplatino ha mejorado la supervivencia general, alrededor de un tercio de las pacientes experimenta recidiva (L. Han et al., 2021). Esto se debe en parte a que dependiendo del contexto la quimiorradioterapia puede remodelar el sistema inmunológico periférico impidiendo, o promoviendo la inmunidad antitumoral (Hiam-Galvez et al., 2021). De manera similar, las alteraciones en la eritropoyesis también pueden determinar la resistencia del tumor a la quimiorradioterapia (Madeddu et al., 2021).

Uno de los principales problemas que enfrenta el manejo terapéutico del cáncer, es que este requiere de la supervisión de un equipo multidisciplinario para predecir cualquier posible evento adverso, y monitorear la respuesta del tumor a la terapia. En países de ingreso mediano bajo, la atención multimodal es escasa y la valoración de riesgo-beneficio del tratamiento es ineficiente. Se ha sugerido que una potencial solución es la implementación de programas para el tratamiento conformadas por intervenciones realistas de acuerdo con las creencias, cultura, infraestructura hospitalaria, y atención médica disponible en estos países (Shah et al., 2019). Por lo que hay una búsqueda activa de nuevas herramientas económicas y accesibles que permitan valorar el beneficio terapéutico, y el monitoreo en tiempo real de la

respuesta al tratamiento. La incorporación de estas podría mejorar los programas de tratamiento para CaCu en entornos con recursos limitados.

SEGUIMIENTO POSTRATAMIENTO

El seguimiento postratamiento busca detectar de manera oportuna el CaCu recidivo y la toxicidad inducida por el tratamiento. Esto con el propósito de intervenir a las pacientes en etapas asociadas con mayores probabilidades de obtener resultados positivos a los enfoques terapéuticos complementarios (Petignat & Roy, 2007). El protocolo de monitoreo incluye la revisión del historial clínico, la exploración clínica de signos de cáncer recurrente, y la detección de posibles efectos secundarios resultantes del tratamiento (Bethesda, 2021). La periodicidad de las revisiones después del tratamiento debe ser cada tres o cuatro meses durante los primeros tres años. En el cuarto año se recomienda realizar evaluaciones cada 6 meses. Posterior al quinto año, las exploraciones suelen ser anuales (Petignat & Roy, 2007).

Las pacientes con CaCu que presentan recidiva poseen una tasa de supervivencia a 5 años menor al 5 %. La mayoría de los casos se detectan en los dos primeros años después del tratamiento (Petignat & Roy, 2007). Estos con frecuencia son resultado de la resistencia del tumor a la terapia estándar (Lin et al., 2016). Una parte de la posible solución al problema es incluir nuevas pruebas capaces de detectar de forma temprana la resistencia terapéutica en los programas de manejo postratamiento para CaCu. Estas herramientas ayudarían al médico oncólogo a emplear de forma oportuna enfoques terapéuticos de rescate que promuevan la regresión tumoral en los casos no respondedores, y durante etapas sin signos evidentes de recidiva.

La toxicidad hematológica más común inducida por la quimiorradioterapia es la anemia (Tan et al., 2004). Esta se puede clasificar de acuerdo con los niveles de hemoglobina de 10 a 12 g/dL, de 8 a 10 g/dL, y 6.5 a 7.9 g/dL en grado 1, grado 2, y grado 3, respectivamente (Madeddu et al., 2021). Alrededor del 41 % de los pacientes con tumores de cérvix desarrolla toxicidad de grado 1 o 2, y al menos el 4 % presenta toxicidad de grado 3 posterior al tratamiento (Tan et al., 2004). La detección tardía de la toxicidad derivada del tratamiento sistémico para tumores sólidos influye negativamente en la eficacia terapéutica y en la supervivencia de los pacientes (Natalucci et al., 2021). Por consiguiente, una solución potencial podría ser la incorporación de nuevos ensayos que permitan la identificación de toxicidad inducida por el tratamiento inmediatamente después de finalizarlo. Estos posibilitarían que el personal clínico trate de forma oportuna los efectos sistémicos negativos resultantes de la terapia en las pacientes con CaCu.

MEDICINA DE PRECISIÓN PARA CÁNCER CERVICOUTERINO

IDENTIFICACIÓN DE BIOMARCADORES DURANTE EL CURSO CLÍNICO

La oncología de precisión busca mejorar la atención habitual mediante la implementación clínica de biomarcadores en las diferentes etapas del curso clínico de los pacientes con cáncer (Henry & Hayes, 2012; Normanno et al., 2021; Ou et al., 2021).

Un biomarcador es una característica definida que se mide como un indicador de procesos biológicos normales, procesos patológicos, o respuestas biológicas a una exposición. En cáncer, los biomarcadores suelen ser moléculas biológicas que participan en procesos vinculados con el desarrollo, la progresión, o la respuesta a exposición terapéutica del tumor. Estos a menudo se cuantifican en biopsias del tejido tumoral, fluidos corporales, o sangre (Normanno et al., 2021; Ou et al., 2021).

Los candidatos a biomarcadores en cáncer deben cumplir con algunos requisitos, y cursar una serie de etapas para lograr su traducción clínica. Los biomarcadores deben ser binarios, sensibles, específicos, y cuantificables sin evaluaciones subjetivas. Además, la medición de los biomarcadores tiene que realizarse con ensayos que se adapten a la práctica clínica habitual, y con un tiempo de respuesta corto (Ou et al., 2021). El desarrollo de biomarcadores para cáncer atraviesa cinco etapas principales. Estas incluyen el descubrimiento, el desarrollo, la validación analítica, la verificación de la utilidad clínica, y la implementación (Goossens et al., 2015).

La utilización de los biomarcadores abarcan el tamizaje, el diagnóstico, la estimación del pronóstico, la predicción del beneficio de la terapia, y el seguimiento de la enfermedad (Ou et al., 2021). Los biomarcadores de tamizaje permiten la identificación de individuos

que podrían tener la enfermedad en etapas asintomáticas (S. Kumar et al., 2006). Los biomarcadores de diagnóstico se emplean para distinguir a los pacientes con el padecimiento, y descartar aquellos pacientes con otras condiciones. Los biomarcadores de pronóstico permiten informar sobre los resultados probables de evolución de la enfermedad (Goossens et al., 2015). Los biomarcadores de beneficio terapéutico se usan para predecir la respuesta o toxicidad potencial de una intervención terapéutica (Normanno et al., 2021; Ou et al., 2021). Los biomarcadores de seguimiento se utilizan a menudo para el monitoreo de respuesta terapéutica, detección de recurrencias, y predicción del pronóstico postratamiento (Henry & Hayes, 2012; Ou et al., 2021; Parihar et al., 2021). Cada uno de estos biomarcadores, y su aplicación en el curso clínico del cáncer se muestra en la **Figura 5**.

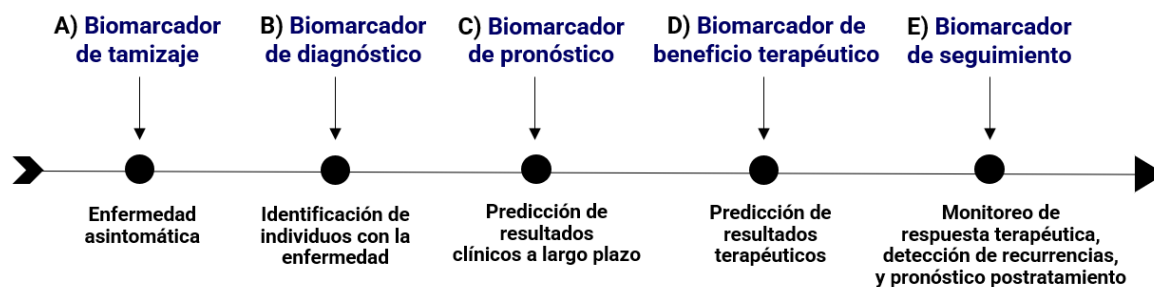


Figura 5. *Uso de biomarcadores en el curso clínico del cáncer*

Las aplicaciones de los biomarcadores en cáncer incluyen **A)** el tamizaje, **B)** el diagnóstico, **C)** el pronóstico, **D)** la predicción de beneficio terapéutico, y **E)** el seguimiento. Imagen elaborada con base en los reportes: (Henry & Hayes, 2012; Ou et al., 2021; Parihar et al., 2021)

Hasta ahora no existen biomarcadores para CaCu con aplicaciones en el tamizaje, la estimación de pronóstico, la predicción de beneficio terapéutico, y el seguimiento de la enfermedad. Debido a que los tumores impulsan importantes consecuencias inmunitarias, las proteínas y mediadores celulares en circulación han atraído un gran interés como potenciales biomarcadores no invasivos (Hiam-Galvez et al., 2021). El descubrimiento e implementación de biomarcadores basados en el panorama inmunológico sistémico con aplicaciones en las

diferentes etapas del curso clínico de la enfermedad podría mejorar el manejo clínico y terapéutico de las pacientes con CaCu.

INMUNOTERAPIA

La inmunoterapia ha revolucionado el tratamiento del CaCu (Naumann & Leath, 2020). Este enfoque terapéutico permite reactivar el sistema inmunitario del paciente para combatir al tumor de cérvix (Hiam-Galvez et al., 2021; Naumann & Leath, 2020). No obstante, el diseño de estrategias para lograr la estimulación de la inmunidad antitumoral sigue siendo un desafío (J. K. Lee & Priceman, 2019).

Uno de los principales retos que enfrenta la inmunoterapia, es que esta necesita mejorar la comprensión de las diferentes perturbaciones sistémicas que ocurren en cáncer (Hegde & Chen, 2020; Hiam-Galvez et al., 2021). Los tumores pueden generar cambios en el panorama inmunológico sistémico para favorecer su progresión (Hiam-Galvez et al., 2021). No obstante, cada tumor impulsa alteraciones sistémicas únicas (Allen et al., 2020; Hegde & Chen, 2020). Por ejemplo, los tumores grandes promueven macroambientes sistémicos más inmunosupresores que los tumores de tamaños más pequeños (S. Kim et al., 2021). Esto se debe a que a medida que los tumores crecen pueden inducir cambios sistémicos que debilitan gradualmente la inmunidad antitumoral (Allen et al., 2020; A. C. Huang et al., 2017; Nessler et al., 2020). Es de destacar que la importancia del tamaño tumoral para evaluar el estado de la inmunidad previo al tratamiento se ha reconocido desde hace mucho tiempo, pero rara vez se tiene en cuenta en la práctica clínica (S. Kim et al., 2021; Nessler et al., 2020). Si bien no se han reportado, es probable que existan alteraciones particulares del panorama inmunológico sistémico asociadas con otras características del tumor. De ser así, estos cambios en el perfil sanguíneo podrían proporcionar información valiosa para el diseño de

nuevas estrategias que permitan revertir el contexto sistémico inmunosupresor de tumores con características concretas, y como resultado mejorar su eficiencia terapéutica.

ANEMIA INDUCIDA POR LOS TUMORES DE CÉRVIX O SU TRATAMIENTO SISTÉMICO

La anemia es una complicación común que afecta la calidad y esperanza de vida de las pacientes con CaCu. La detección temprana y tratamiento oportuno de esta condición hematológica mejora los resultados clínicos a largo plazo, y la eficiencia del tratamiento contra el tumor ([Busti et al., 2018](#); [Wassie et al., 2021](#)).

La anemia puede ser impulsada por el tumor o derivarse de la toxicidad del tratamiento ([Madeddu et al., 2021](#)). Los tumores pueden inducir progresivamente alteraciones en la eritropoyesis y el metabolismo de hierro hasta producir anemia. El crecimiento tumoral genera desnutrición, y la falta de componentes esenciales conduce a una baja producción de eritrocitos ([Natalucci et al., 2021](#)). Además, las hemorragias abundantes incitadas por el tumor reducen notablemente los depósitos de hierro ([Busti et al., 2018](#)). La anemia también puede ser una consecuencia hematológica resultante de la exposición al tratamiento. Las terapias sistémicas a base de cisplatino promueven el desarrollo de anemia ([Ithimakin & Srimuninnimit, 2009](#)). Si bien el objetivo de la quimiorradioterapia es destruir o impedir el crecimiento de las células tumorales, este enfoque también puede atacar a otras células sanas de crecimiento rápido como los eritrocitos. Esto produce que los niveles de hemoglobina disminuyan, y conlleven a anemia ([Alghamdi et al., 2021](#)). Curiosamente, las perturbaciones de la eritropoyesis derivadas de radioterapia y quimioterapia a menudo se vinculan con la resistencia tumoral ([Madeddu et al., 2021](#)), pero estas no se comprenden por completo.

La detección de anemia se realiza mediante la evaluación del historial médico, la exploración clínica, y el análisis de sangre. El médico inspecciona la presencia de signos, síntomas, o indicios de anemia. Sin embargo, las pruebas sanguíneas determinan el

diagnóstico final de esta condición. La hemoglobina, el hematocrito, y el conteo de eritrocitos en sangre son los principales indicadores de anemia (Turner et al., 2021). De acuerdo con los estándares de la Organización Mundial de la Salud, las mujeres con niveles de hemoglobina ≤ 12 g/dL se consideran casos anémicos (Alghamdi et al., 2021). Los niveles de hematocrito ≤ 36 %, y los conteos de eritrocitos $\leq 3.5 \cdot 10^6/\mu\text{L}$ son dos rasgos hematológicos que también distinguen a esta afección (Dean, 2005; Mondal & Budh, 2021).

Existen otros cuatro marcadores de anemia que se calculan a partir de los valores de hemoglobina, hematocrito, y conteo de eritrocitos. Estos reciben el nombre de índices eritrocitarios por que proporcionan información sobre los eritrocitos. El volumen celular medio permite conocer el tamaño de los eritrocitos. La hemoglobina corpuscular media indica la cantidad de hemoglobina por eritrocito. La concentración de hemoglobina corpuscular arroja la cantidad de hemoglobina por unidad de volumen. La amplitud de distribución eritrocitaria define el coeficiente de variación de la distribución del tamaño de los eritrocitos (Sarma, 1990). La importancia de estos cuatro marcadores reside en que ayudan a determinar la causa de la anemia. No obstante, el diagnóstico de anemias asociadas a deficiencias concretas o derivadas de otras condiciones patológicas requiere de pruebas adicionales (Freeman et al., 2021), pero su descripción supera el alcance de la presente revisión.

Los marcadores discriminativos de anemia han atraído gran interés biomédico por su capacidad para estimar el pronóstico, y predecir la respuesta al tratamiento en pacientes con cánceres sólidos, que incluyen al CaCu. Además, una de sus ventajas es que se determinan por métodos cuantitativos y económicos en la práctica clínica rutinaria. A continuación, se destacan algunos reportes que documentan la posible utilidad clínica de estos marcadores.

MARCADORES DE ANEMIA Y PRONÓSTICO

Los marcadores de anemia proporcionan información clínicamente significativa del pronóstico en CaCu. Los niveles pretratamiento de hemoglobina influyen en los resultados clínicos a largo plazo de pacientes con tumores de cérvix. La tasa de supervivencia general a 3 años es del 67 % para pacientes no anémicos con hemoglobina >13 g/dL, del 64 % para pacientes anémicos leves con hemoglobina 11-13 g/dL, y del 32 % para pacientes anémicos moderados a graves con hemoglobina <11 g/dL (Dunst et al., 2003). Los niveles de hematocrito previo al tratamiento cuentan con valor pronóstico en pacientes con estadio II y III. La supervivencia libre de la enfermedad a 5 años es del 57 % para pacientes con hematocrito >37 %, del 41 % para pacientes con hematocrito 30-37 %, y del 33 % para pacientes con hematocrito <30 % (Obralić et al., 1990). La capacidad pronóstica de los niveles del volumen corpuscular medio se ha informado para CaCu. Los pacientes con niveles ≤ 90.7 fl muestran una peor supervivencia libre de recurrencia acumulada en comparación con los pacientes con niveles >90.7 fl (Chun et al., 2017). La capacidad pronóstica de otros marcadores asociados con anemia como el conteo de eritrocitos, la amplitud de distribución eritrocitaria, hemoglobina corpuscular media, y concentración de hemoglobina corpuscular media se ha evidenciado para otros cánceres (Kong et al., 2020; X. Xie et al., 2015; Yao et al., 2019; P. Zhang et al., 2016).

MARCADORES DE ANEMIA Y RESPUESTA AL TRATAMIENTO

El valor clínico de los marcadores de anemia en el manejo terapéutico del CaCu ha sido poco estudiado. No obstante, existen unos cuantos reportes de la relación de los niveles en sangre de estos marcadores y la respuesta terapéutica. En pacientes con CaCu localmente avanzado, los niveles previos al tratamiento de hemoglobina permiten predecir la respuesta a la

quimiorradioterapia neoadyuvante. Los niveles de hemoglobina fueron de 13.8 g/dL para pacientes con respuesta completa, de 12.7 g/dL para pacientes con respuesta ≥ 50 %, y de 11.9 g/dL para pacientes con una respuesta < 50 % (Fuso et al., 2005). El valor terapéutico se ha informado también para otros marcadores de anemia en pacientes con cáncer. Los cambios en los niveles del volumen corpuscular medio después de quimioterapia con capecitabina se relacionan con la respuesta clínica en pacientes con cáncer gástrico avanzado (Jung et al., 2015). El valor terapéutico de la amplitud de distribución eritrocitaria se ha informado para individuos con cáncer de pene metastásico que recibieron quimioterapia adyuvante. La supervivencia media postratamiento fue de 30 meses para pacientes con niveles > 13.9 %, y de 13 meses para pacientes con niveles ≤ 13.9 % (Patel et al., 2020). El hematocrito previo al tratamiento se asocia negativamente con la respuesta a quimioterapia neoadyuvante en el cáncer de mama. Los pacientes con niveles de hematocrito < 39.6 % mostraron una tasa de respuesta objetiva más alta en comparación con los pacientes con niveles de hematocrito ≥ 39.6 % (W. Zhou et al., 2017).

INFLAMACIÓN IMPULSADA POR LOS TUMORES DE CÉRVIX

La infección persistente por VPH se reconoce como el principal agente etimológico infeccioso asociado con las lesiones escamosas intraepiteliales de alto grado, y CaCu invasivo. En la mayoría de los casos, la infección por VPH es transitoria y desaparece espontáneamente en un periodo de 30 meses. Sin embargo, en ocasiones el aclaramiento viral no ocurre durante este período, la infección se vuelve persistente, y resulta en lesiones premalignas que eventualmente podrían desenlazar en cáncer. Es de destacar que la infección persistente por VPH induce inflamación crónica a largo plazo, y esta se considera un cofactor importante del desarrollo de lesiones premalignas y CaCu (Fernandes et al., 2015). Las células del tumor de cérvix establecido pueden liberar moléculas capaces de reclutar distintas células inflamatorias al sitio tumoral (Hemmat & Bannazadeh Baghi, 2019). Estas células inflamatorias incluyen a las plaquetas, los neutrófilos, los monocitos, los basófilos, los eosinófilos, y los linfocitos. Una vez en el sitio tumoral cada uno de los diferentes mediadores celulares implicados en la inflamación pueden promover o impedir la progresión tumoral dependiendo el contexto del panorama inmunológico sistémico y del microambiente tumoral (Gambardella et al., 2020; J. Liu et al., 2021; Palacios-Acedo et al., 2019; Varricchi et al., 2018; Waldman et al., 2020; X. Wang et al., 2018; X. Yang et al., 2021).

Los mediadores celulares implicados en la inflamación se miden fácilmente por análisis de sangre en el laboratorio clínico, y se denominan marcadores de inflamación. Estos se dividen en dos grupos que incluyen a los marcadores basados en el conteo celular, y los índices de inflamación. Los marcadores basados en el conteo celular nos proporcionan el número de plaquetas, neutrófilos, monocitos, linfocitos, eosinófilos, y basófilos por microlitro de sangre. En cambio, los índices de inflamación nos permiten conocer la razón

matemática del conteo de diferentes células sanguíneas. Los índices de inflamación reportados incluyen al índice de neutrófilos/linfocitos, plaquetas/linfocitos, monocitos/linfocitos, neutrófilos/plaquetas, y eosinófilos/linfocitos. Además, se han reportado otros índices más complejos que involucran a más de dos tipos celulares. El índice de respuesta a la inflamación sistémica abarca a tres distintas células sanguíneas, y su valor corresponde al número resultante de: $[(\text{Neutrófilos} \cdot \text{Plaquetas}) / (\text{Linfocitos})]$. El índice pan-immuno-inflamatorio es aún más complejo, ya que abarca cuatro tipos diferentes de células sanguíneas. El cálculo del índice requiere de la ecuación: $[(\text{Neutrófilos} \cdot \text{Plaquetas} \cdot \text{Monocitos}) / (\text{Linfocitos})]$. La utilidad de estos índices reside en que pueden proporcionar información sobre el estado del equilibrio inflamatorio de un individuo. Una ventaja de los indicadores inflamatorios es que su obtención es sencilla y económica. Además, informes previos han revelado la posible capacidad de los marcadores de inflamación para predecir los resultados clínicos a largo plazo, y la respuesta al tratamiento en pacientes con tumores de cérvix y de otros tipos. En las siguientes secciones se destacan algunos informes al respecto.

MARCADORES DE INFLAMACIÓN Y PRONÓSTICO

La evidencia ha revelado que los marcadores de inflamación basados en el conteo celular se relacionan con el pronóstico en CaCu y otros tipos de cáncer. Los altos niveles en sangre de neutrófilos, plaquetas, monocitos, y eosinófilos se asocian con una peor supervivencia de las pacientes con CaCu (Y. Y. Lee et al., 2012; H. Wang et al., 2020). En cambio, los bajos niveles en sangre de linfocitos sirven como indicadores de pronóstico precario en pacientes con tumores de cérvix (Chuk et al., 2020). Informes previos documentaron que los altos niveles del índice de respuesta a la inflamación sistémica, neutrófilos/linfocitos, plaquetas/linfocitos, y eosinófilos/linfocitos se relacionan con una estimación de vida más

corta en pacientes con CaCu (J. W. Lee & Seol, 2021). En otros tipos de cáncer se ha informado que los pacientes con altos niveles del índice pan-inmuno-inflamatorio, monocitos/linfocitos, y neutrófilos/plaquetas exhiben un pobre pronóstico (Mercier & Voutsadakis, 2018; Şahin et al., 2021; Q. xuan Wang et al., 2017).

MARCADORES DE INFLAMACIÓN Y RESPUESTA A TRATAMIENTO

El potencial clínico de algunos marcadores de inflamación como herramientas complementarias en el manejo terapéutico se ha confirmado para CaCu y otros tipos tumorales. En seguida, se destacan los reportes sobre la asociación de los niveles de marcadores basados en el conteo de células sanguíneas y la respuesta al tratamiento de pacientes con tumores de cérvix. Los niveles en sangre previo al tratamiento $<1.6 \cdot 10^3/\mu L$ de linfocitos, y $>0.66 \cdot 10^3/\mu L$ de monocitos se relacionan con una menor estimación de vida general posterior a la radiación definitiva (Singh et al., 2017). En cuanto a los neutrófilos en sangre previo al tratamiento, se ha informado que los niveles $>8.0 \cdot 10^3/\mu L$ se asocian con peores resultados clínicos después de la quimiorradioterapia (Wisdom et al., 2019). Un estudio previo reveló que los niveles en sangre de plaquetas antes del tratamiento se asocian con el fracaso a radioterapia definitiva. Las tasas de fracaso terapéutico fueron del 7.3 % para pacientes con plaquetas $<350.0 \cdot 10^3/\mu L$, y del 25.6 % para pacientes con plaquetas $\geq 350.0 \cdot 10^3/\mu L$ (Kawano et al., 2015). Referente a la relación de los índices de inflamación y la respuesta al tratamiento se destacan unos cuantos reportes para tumores de cérvix. Los bajos niveles de neutrófilos/linfocitos y plaquetas/linfocitos se asociaron con una mejor respuesta a quimioterapia neoadyuvante (Palaia et al., 2021). Existen otros reportes del valor clínico de los índices de inflamación para otros tipos de tumores. Una investigación sobre tumores de esófago tratados con quimioterapia reveló que los pacientes con niveles altos de

linfocitos/monocitos muestran una mejor respuesta terapéutica (X. Liu et al., 2017). Otro informe documentó que los altos niveles en sangre de neutrófilos/plaquetas pueden predecir una mala supervivencia en pacientes sometidos a cirugía potencialmente curativa para el cáncer colorrectal (Watt et al., 2015). Estudios previos arrojaron que los bajos niveles del índice pan-inmuno-inflamatorio se vinculan con una mejor respuesta terapéutica en pacientes con cáncer de mama tratadas con quimioterapia neoadyuvante (Şahin et al., 2021). Qi et al., (2016) informaron que los altos niveles del índice de respuesta a la inflamación sistémica se relacionan con una menor estimación de vida posterior a quimioterapia en pacientes con cáncer pancreático.

VÍAS INMUNOSUPRESORAS DE LOS TUMORES DE CÉRVIX

El sistema inmunológico tiene la capacidad de reconocer a las células tumorales de cérvix como extrañas, y montar mecanismos celulares para eliminarlas. Debido a la presión inmunológica, los tumores cervicales pueden desarrollar estrategias de evasión de la inmunidad antitumoral para favorecer su progresión. Entre estas se encuentra la evasión directa por pérdida de antígeno, producción de citocinas proinflamatorias, reclutamiento de células inmunitarias con propiedades inmunosupresoras, y la disfunción o agotamiento de los linfocitos T (Piersma, 2011).

Con el fin de evitar respuestas exacerbadas derivadas de la autorreactividad de los linfocitos T (De La Fuente et al., 2012), existen receptores de la superficie celular y proteínas solubles que regulan la función de estas células. Estos reciben el nombre de puntos de control inmunitario (De La Fuente et al., 2012; Jain & Pasare, 2017). No obstante, las células tumorales de cérvix pueden utilizar estas moléculas con carácter inmunorregulador para provocar la disfunción de los linfocitos T, y evadir la inmunidad antitumoral (Piersma, 2011). La activación o disfunción de los linfocitos T mediada por pares de control inmunitario a menudo requiere de dos señales. La primera señal consiste en la presentación del antígeno, y dicta la especificidad de la respuesta inmunitaria. La segunda señal es dirigida por la interacción del receptor/ligando. En esta el receptor de control inmunitario puede unirse a un ligando soluble, u otro receptor en la membrana de una célula inmunitaria o tumoral. Ambas señales consensan la activación de la vía donde se encuentran implicados los pares de control inmunitario (Jin Dai et al., 2017; Gu et al., 2018; Sun et al., 2020). En el caso de CaCu, entre las vías más estudiadas se incluye a CTLA-4/CD80, PD-L1/PD-1, y TIM-3/Gal-9 (Chen et al., 2021; Manzo-Merino et al., 2020).

VÍA TIM-3/GAL-9

La vía TIM-3/Gal-9 se vincula con el escape inmunológico del tumor en pacientes con CaCu y VPH positivas. La activación de este eje provoca que los linfocitos T reguladores inhiban la función de los linfocitos T CD4+ y T CD8+, y como resultado debilita la inmunidad antitumoral (Chen et al., 2021). A continuación, se presenta una recopilación de informes para profundizar en el entendimiento de las proteínas implicadas en el mecanismo inmunosupresor de TIM-3/Gal-9. En esta revisión se abordan los aspectos generales, nivel de expresión, mecanismo de secreción, comportamiento sistémico de formas solubles, y potenciales aplicaciones terapéuticas principalmente en CaCu, pero también en algunos otros tipos de tumores.

Los genes y estructuras moleculares de Gal-9 y de TIM-3 se describen a continuación. El gen *LSGAL9* se localiza en el cromosoma 17q11.2 en humanos, y contiene once exones. Los cuales codifican a la proteína de Gal-9. La estructura de esta glectina de tipo quimera se conforma por dos dominios de carbohidratos unidos por un péptido (Fujita et al., 2017). En cambio, el locus del gen *TIMD3* se ubica en 5q33.3 del genoma humano, y posee 7 exones. La traducción de las regiones codificantes da como producto al receptor de TIM-3. Esta proteína se constituye por una secuencia señal que permite su exportación por vías clásicas, un IgV, un dominio de mucina, una región transmembrana, y una cola citoplasmática (Das et al., 2017).

La expresión de TIM-3 y Gal-9 en tumores cervicales se encuentra desregulada, y su función se entiende poco. X. Zhou et al., (2012) informaron que los niveles de TIM-3 en tejido de pacientes con CaCu exhiben un notable incremento en comparación con el tejido de donantes sanos. Estos mismos investigadores demostraron en experimentos *in vitro* que

la regulación a la baja del gen de TIM-3 en las células tumorales de cérvix se relaciona directamente con la inhibición de la migración, y la invasión de estas células (Y. Cao et al., 2013). En cambio, los niveles de Gal-9 disminuyen sustancialmente en tejidos tumorales de cérvix con respecto al tejido sano (Meiyan Liang et al., 2008). Hasta la fecha, la función de Gal-9 en las células del tumor cervical no se ha reportado.

Algunos autores han informado sobre la identificación de formas solubles de TIM-3 y Gal-9. Si bien sus mecanismos de síntesis y secreción han sido pobremente estudiados, se ha propuesto una posible vía que permite la exportación de ambas proteínas al medio extracelular. La proteína de TIM-3 es sintetizada, glicosilada, y exportada por la ruta clásica de retículo endoplásmico-aparato de Golgi. En cambio, Gal-9 se sintetiza en los ribosomas libres en el citosol. Debido a que Gal-9 carece de un péptido señal que permita su secreción, esta requiere a TIM-3 como transportador. La Gal-9 ingresa a las vesículas que contienen a TIM-3 y se trasladan a la membrana. En este compartimento, se transloca el complejo de TIM-3 y Gal-9. Enseguida, se genera un cambio conformacional que permite la disociación y liberación de Gal-9 al medio extracelular (Gonçalves Silva et al., 2017; Kandel et al., 2021; Yasinska et al., 2019). La secreción de TIM-3 soluble no se comprende por completo, pero se sugiere que esta requiere de un mecanismo proteolítico mediado por ADAM 10. Esta enzima provoca la escisión del dominio de mucina de TIM-3 en la membrana, y libera una forma soluble corta que recibe el nombre de TIM-3 soluble (Clayton et al., 2015). La propuesta descrita se ilustra en la **Figura 7**.

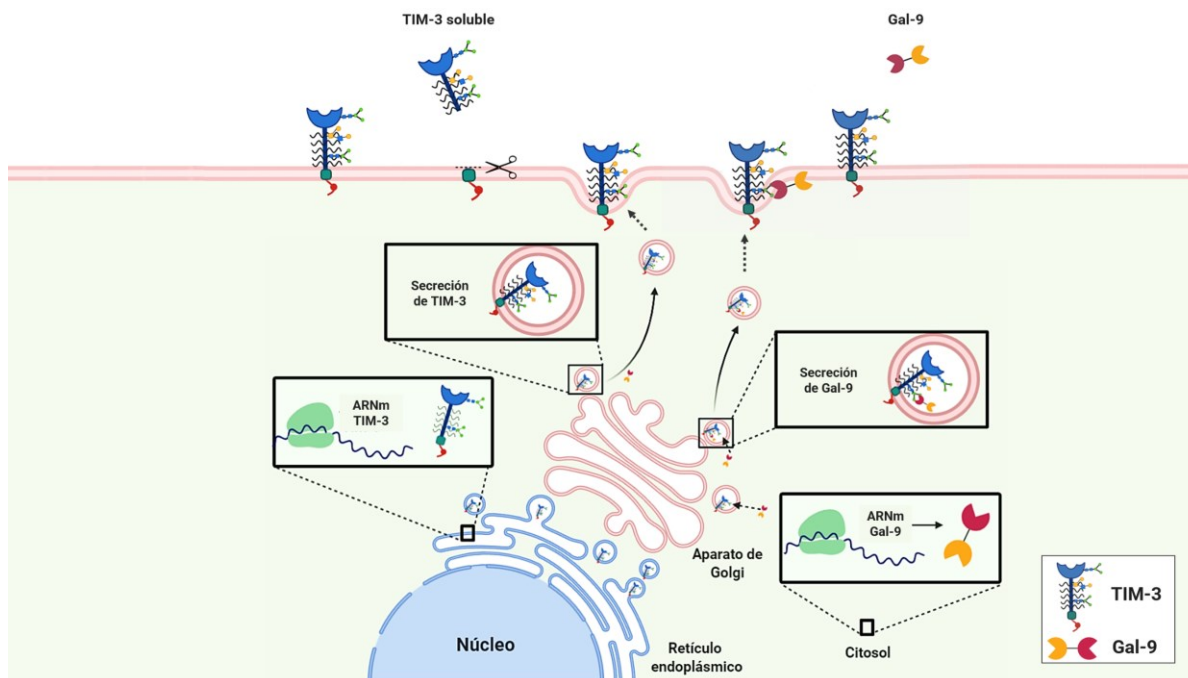


Figura 7. Vía de producción y liberación de TIM-3 soluble y Gal-9

Se muestra una representación gráfica del posible mecanismo de síntesis y secreción de TIM-3 soluble y Gal-9 propuesto por [Gonçalves Silva et al., \(2017\)](#), y [Yasinska et al., \(2019\)](#). La proteína de TIM-3 es codificada, y transportada a la membrana por la ruta clásica de retículo endoplásmico-aparato de Golgi. La Gal-9 sintetizada en el citosol carece de un péptido señal que permita su secreción por vías convencionales. Por lo que TIM-3 es responsable del transporte de Gal-9 desde la región intracelular a la membrana. En este compartimento, el complejo de TIM-3 y Gal-9 se transloca, y sufre un cambio conformacional que genera la exportación de Gal-9. En cambio, TIM-3 transmembrana requiere de la escisión del dominio de mucina para liberar a su forma corta soluble.

La forma soluble de TIM-3 y Gal-9 extracelular ejercen diferentes efectos sobre los linfocitos T. La evidencia reportada sugiere que la función de Gal-9 es inmunosupresora. En estudios *in vitro*, se demostró que Gal-9 induce la muerte celular de los linfocitos Th1 a través de TIM-3 ([C. Zhu et al., 2005](#)). En cuanto a la función de TIM-3 soluble, esta no está clara e incluso existen reportes contradictorios. [Sabatos et al., \(2003\)](#) informaron que la interacción de TIM-3 soluble con TIM-3 en la membrana de los linfocitos Th1 puede reactivar la función y aumentar la producción de citocinas de estas células. En contraste, otros autores divulgaron que la unión de TIM-3 soluble con TIM-3 en la superficie de los linfocitos Th1 disminuye su proliferación ([Geng et al., 2006](#)).

Los niveles en sangre de TIM-3 soluble y Gal-9 se encuentran alterados en distintos tipos de cánceres, incluidos el CaCu. Estudios anteriores revelaron que los niveles de Gal-9 aumentan notoriamente en la sangre de pacientes con cáncer de ovario, leucemia linfática crónica, leucemia mieloide aguda, y CaCu en comparación con la sangre de donantes sanos (Gonçalves Silva et al., 2017; Labrie et al., 2017; Reyes-Vallejo, 2020; Wdowiak et al., 2019). En cambio, los niveles de TIM-3 se encuentran incrementados en la sangre de pacientes con leucemia mieloide aguda, osteosarcoma, y carcinoma hepatocelular con respecto a la sangre de los controles sanos (Fang et al., 2018; Ge et al., 2017; Gonçalves Silva et al., 2017).

El comportamiento que obedecen los niveles de TIM-3 soluble y Gal-9 en el contexto sistémico es desconocido para CaCu. Sin embargo, se ha recopilado evidencia sobre algunas relaciones entre estas dos proteínas solubles en pacientes con cáncer. Los niveles plasmáticos de TIM-3 y Gal-9 se correlacionan de forma positiva en pacientes con leucemia mieloide aguda y donantes sanos (Gonçalves Silva et al., 2017). De manera similar, Gao et al., (2018) informaron que los niveles plasmáticos de TIM-3 y Gal-9 se correlacionan positivamente en pacientes con cáncer de pulmón de células no pequeñas. Los autores también revelaron que hay 3.4 veces más Gal-9 que TIM-3 soluble en plasma de estos mismos pacientes.

Los cambios detectados en los niveles en sangre de TIM-3 y Gal-9 han atraído interés en oncología por su posible valor clínico. A continuación, se destacan algunos reportes sobre la utilidad clínica de estas proteínas solubles en el tamizaje, la estimación de pronóstico, y el diseño de nuevas inmunoterapias.

TIM-3 Y GAL-9 COMO BIOMARCADORES DE TAMIZAJE

Los niveles en sangre de TIM-3 y Gal-9 han mostrado potencial como biomarcadores para el tamizaje de tumores sólidos (Fang et al., 2018; Seifert et al., 2020). No obstante, la posible utilidad clínica de ambas proteínas solubles para la detección de CaCu no se ha informado.

Fang et al., (2018) demostraron la capacidad de TIM-3 sérico para discriminar al cáncer de hígado de otras enfermedades hepáticas. El estudio se conformó por 84 pacientes con carcinoma hepatocelular, y 92 pacientes infectados por el virus de la hepatitis B, con hepatitis crónica, o con cirrosis hepática. Al probar la capacidad discriminativa con un análisis de curva ROC, encontraron que los niveles séricos de TIM-3 mayores o iguales a 3.27 log (pg/mL) muestran una sensibilidad del 94 %, y una especificidad del 54.4 %. Esta evaluación demostró que esta proteína soluble posee una capacidad discriminativa aceptable con un ABC de 0.780. En conjunto, los hallazgos confirmaron el potencial de TIM-3 sérico como biomarcador sensible para el tamizaje de carcinoma hepatocelular.

Otro grupo de investigación evaluó el potencial de Gal-9 sérica como biomarcador para la detección de tumores de adenocarcinoma ductal de páncreas. El análisis incluyó a 28 donantes sanos y 70 casos enfermos. La curva ROC reveló una capacidad discriminativa aceptable con un ABC de 0.776. Los resultados del estudio confirmaron que Gal-9 sérica permite discriminar a los pacientes con adenocarcinoma ductal pancreático de los donantes sanos (Seifert et al., 2020).

En un estudio previo de nuestro grupo de investigación se analizó si existían diferencias en los niveles séricos de Gal-9 de 156 pacientes con CaCu y 34 mujeres sanas. Los resultados indicaron que los niveles de Gal-9 son mayores con significancia estadística en el suero de pacientes con tumores de cérvix con respecto al suero de mujeres con citología normal. Los

niveles medios de Gal-9 sérica fueron de 4.479 ± 0.07358 ng/mL para las pacientes con CaCu, y de 3.754 ± 0.07484 ng/mL para las mujeres sanas (Reyes-Vallejo, 2020). Sin embargo, en este estudio no se evaluó la capacidad de Gal-9 sérica para discriminar entre pacientes con CaCu y mujeres con citología normal.

TIM-3 Y GAL-9 COMO BIOMARCADORES DE PRONÓSTICO

El potencial pronóstico de los niveles en sangre de TIM-3 y Gal-9 en pacientes con CaCu no se ha evidenciado. Sin embargo, existen informes sobre la capacidad de ambas proteínas inmunorreguladoras para predecir los resultados a largo plazo de pacientes con otros tumores sólidos.

En un ensayo clínico en China, se informó que TIM-3 sérico presenta valor pronóstico en pacientes con carcinoma hepatocelular. El seguimiento se realizó para 84 pacientes. Las curvas de supervivencia de Kaplan-Meier demostraron que la supervivencia general es notablemente menor en pacientes con altos niveles séricos de TIM-3. La tasa de supervivencia general a 3 años es del 33.3 % para pacientes con niveles séricos de TIM-3 $\leq 3,000$ pg/mL, y del 17.7 % para pacientes con niveles séricos $> 3,000$ pg/mL (Fang et al., 2018).

La relación de los niveles séricos de TIM-3 con la supervivencia general también se ha demostrado para 120 pacientes con osteosarcoma. En este estudio se llevó a cabo un seguimiento por 70 meses. Los pacientes con mayores niveles séricos de TIM-3 a 14.4 ng/mL se asociaron con una menor supervivencia en comparación con aquellos cuyos niveles séricos de TIM-3 eran menores o iguales a 14.4 ng/mL (Ge et al., 2017).

[Sideras et al., \(2019\)](#) informó sobre la capacidad de Gal-9 circulante en sangre periférica para predecir los resultados clínicos a largo plazo de 80 pacientes con cáncer de hígado. La duración del seguimiento fue de 100 meses. Los autores encontraron que los niveles de Gal-9 circulantes mayores a 42 pg/mL se asociaban con una peor supervivencia específica de carcinoma hepatocelular.

Otro estudio diseñado por investigadores canadienses demostró la utilidad pronóstica de Gal-9 plasmática en carcinoma de ovario seroso de alto grado. En este se realizó un seguimiento de 144 pacientes. Los resultados indicaron que los altos niveles plasmáticos de Gal-9 se asocian con una supervivencia a 5 años más baja ([Labrie et al., 2017](#)).

TIM-3 Y GAL-9 EN EL DISEÑO DE INMUNOTERAPIAS

La vía de TIM-3/Gal-9 permite a las células tumorales de cérvix evadir la vigilancia inmunitaria, y ha atraído gran interés en la inmunoterapia contra el CaCu ([Chen et al., 2021](#)). El receptor TIM-3 se expresa a menudo en la superficie de los linfocitos T. La unión de Gal-9 extracelular con TIM-3 transmembrana de los linfocitos T suprime la inmunidad antitumoral. Debido a que el bloqueo de la interacción de TIM-3/Gal-9 tiene la capacidad de restaurar la función de los linfocitos T del paciente para combatir al tumor, este se considera un potencial objetivo terapéutico. La principal estrategia para la inhibición de la vía TIM-3/Gal-9 consiste en flanquear con anticuerpos monoclonales a TIM-3 transmembrana. No obstante, los esfuerzos para lograr su inhibición completa han sido deficientes ([Kandel et al., 2021](#)). Esto se debe en gran medida a que los aspectos mecanicistas y el contexto sistémico de la vía TIM-3/Gal-9 no se comprenden por completo. Hasta ahora, su estudio se ha enfocado a la forma transmembrana de TIM-3 como receptor de Gal-9. No obstante, se ha reportado que TIM-3 puede desprenderse de la membrana generando una forma corta soluble

bajo condiciones inflamatorias (Gonçalves Silva et al., 2017; Migita et al., 2021; Möller-Hackbarth et al., 2013). El comportamiento que obedecen TIM-3 soluble y Gal-9 a nivel circulatorio no se ha esclarecido, pero su estudio complementaría nuestro entendimiento sobre el eje de TIM-3/Gal-9. Debido a que la respuesta inmune antitumoral localizada no puede existir sin una comunicación continua con la periférica, las nuevas estrategias inmunoterapéuticas requieren una comprensión profunda de la relación del macroambiente sistémico y los mecanismos inmunosupresores (Hiam-Galvez et al., 2021). Estudiar el contexto sistémico asociado con la vía de TIM-3/Gal-9 podría brindar información valiosa para el diseño de nuevas estrategias terapéuticas que permitan impulsar vigorosas respuestas antitumorales con efectos a nivel local, y amplificaciones a nivel sistémico.

Las problemáticas abordadas en la actual investigación se resumen a continuación. El diagnóstico tardío es un problema derivado de la baja capacidad de las pruebas de tamizaje actuales para detectar al CaCu, por lo que se requiere de la incorporación de herramientas más sensibles en los programas de detección rutinaria. Estas permitirían identificar a los posibles casos con CaCu en etapas más tempranas. La estimación del pronóstico en la práctica habitual se realiza con factores basados en las características del tumor, pero esta es imprecisa. Por lo que se necesitan pruebas más confiables que permitan predecir los resultados clínicos a largo plazo de las pacientes con CaCu. La evaluación del riesgo-beneficio de la terapia y vigilancia de respuesta terapéutica es escasa o ineficiente en los programas de manejo del tratamiento de entornos con recursos limitados. De ahí que exista una necesidad por desarrollar ensayos económicos y accesibles que permitan predecir el beneficio terapéutico, y realizar el monitoreo en tiempo real de la respuesta al tratamiento. Los cambios en el panorama inmunológico sistémico impulsados por el tumor de cérvix o su

tratamiento no son tomados en consideración en el manejo terapéutico actual. No obstante, esta información sobre el perfil sanguíneo podría ser útil para el diseño de nuevas estrategias basadas en el sistema inmunitario del paciente para combatir al tumor de cérvix.

Los niveles en sangre de TIM-3, Gal-9, y marcadores de anemia e inflamación poseen valor biomédico en cáncer. Los cambios de los niveles en sangre de TIM-3 y Gal-9 han atraído gran interés por su potencial para detectar tumores sólidos, y estimar el riesgo pronóstico. En cambio, el valor clínico de los niveles en sangre de los marcadores de anemia e inflamación reside en su capacidad para predecir el pronóstico y la respuesta al tratamiento de los pacientes. Por lo que se han sugerido como potenciales biomarcadores para el curso clínico en oncología. Además, el estudio del comportamiento que obedecen los niveles de TIM-3, Gal-9, y marcadores de anemia e inflamación podría proporcionar información elemental sobre los cambios del macroambiente sistémico que ocurren en CaCu.

En la presente tesis se determinó el valor clínico de los niveles en sangre de TIM-3, Gal-9, y marcadores de anemia e inflamación en pacientes con CaCu. Estos ensayos proporcionaron información sobre los cambios en el macroambiente sistémico con potencial utilidad en el diseño de nuevas inmunoterapias contra los tumores de cérvix. Además, posibilitaron el descubrimiento de nuevos candidatos a biomarcadores de tamizaje, estimación de resultados clínicos a largo plazo, predicción de beneficio terapéutico, monitoreo de respuesta al tratamiento, y pronóstico postratamiento para CaCu.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

A medida que los tumores crecen generan cambios en el macroambiente sistémico que debilitan la inmunidad antitumoral. Los cambios en el perfil sanguíneo inducidos por las células tumorales han arrojado luz sobre su potencial para detectar tumores sólidos, estimar el pronóstico, y predecir la respuesta al tratamiento. Además, se ha sugerido que estos también podrían proporcionar información valiosa para el diseño de nuevas inmunoterapias para combatir a los tumores.

Las proteínas solubles de TIM-3 y Gal-9 se encuentran implicadas en procesos que promueven o evaden la inmunidad antitumoral. Además, se ha informado que los niveles de TIM-3 y Gal-9 se encuentran incrementados en la sangre de pacientes con cáncer con respecto a la sangre de los donantes sanos. Estudios previos han demostrado su potencial como biomarcadores de tamizaje en cáncer. Si bien se conoce poco sobre el comportamiento que obedecen TIM-3 y Gal-9 en el macroambiente sistémico, se ha reportado que los niveles de TIM-3 y Gal-9 se correlacionan positivamente en la sangre de pacientes con cáncer de pulmón de células no pequeñas. Además, los autores del estudio informaron que hay 3.4 veces más Gal-9 que TIM-3 soluble en plasma de estos mismos pacientes. Por lo que nuestro grupo de investigación se dio a la tarea de evaluar si los niveles en sangre de Gal-9, TIM-3, y Gal-9/TIM-3 permitían distinguir a las pacientes con CaCu de las mujeres con citología normal. Estos estudios se realizaron con el propósito de identificar nuevos biomarcadores para el tamizaje de CaCu.

Los tumores o su tratamiento inducen alteraciones en la eritropoyesis y en las poblaciones de las células implicadas en la inflamación. De acuerdo con el panorama inmunológico sistémico, estos cambios pueden inhibir o activar la inmunidad antitumoral.

Los mediadores celulares y perturbaciones en la producción de eritrocitos pueden cuantificarse en la sangre, y se denominan marcadores de anemia e inflamación. El interés biomédico de estos marcadores reside en su capacidad de predecir la respuesta terapéutica en pacientes con tumores sólidos. De ahí que nuestro grupo se propusiera indagar si los niveles en sangre de los marcadores de anemia e inflamación previo, durante, o posterior al tratamiento de CaCu localmente avanzado permiten discriminar entre las pacientes respondedoras y no respondedoras. Estos ensayos se ejecutaron con la finalidad de encontrar nuevos candidatos a biomarcadores de predicción de beneficio terapéutico, vigilancia de respuesta terapéutica, y pronóstico postratamiento para CaCu.

Los cambios en el macroambiente sistémico de los pacientes con cáncer pueden proporcionar información pronóstica valiosa. En particular, los niveles de TIM-3, Gal-9, y marcadores de anemia e inflamación han atraído gran interés por su capacidad para predecir los resultados clínicos a largo plazo de los pacientes con cáncer. Por ello nuestro grupo de investigación se propuso determinar las relaciones de 17 nuevos índices basados en TIM-3, Gal-9, y marcadores de anemia e inflamación en relación con cinco factores pronósticos tradicionales de CaCu. Estos análisis buscaban revelar el potencial clínico de los nuevos índices propuestos como posibles candidatos a biomarcadores pronósticos para pacientes con tumores de cérvix.

La vía de TIM-3/Gal-9 es uno de los mecanismos que usan las células tumorales de cérvix para evadir al sistema inmunológico. Actualmente, los enfoques inmunoterapéuticos para esta vía se centran en el bloqueo con anticuerpos monoclonales del receptor de TIM-3 en la membrana de los linfocitos T, pero estos esfuerzos no han logrado la inhibición completa del eje TIM-3/Gal-9. Además, el comportamiento que obedecen TIM-3 soluble y

Gal-9 a nivel circulatorio dentro de esta vía necesita aclararse. El estudio del panorama inmunológico sistémico vinculado con la vía inmunosupresora de TIM-3/Gal-9 podría brindarnos una visión más clara de su funcionamiento, y ampliar sus aplicaciones terapéuticas. Tomando en consideración lo anterior, nuestro grupo de investigación se propuso identificar firmas sanguíneas basadas en TIM-3, Gal-9, y marcadores de anemia e inflamación en relación con los rasgos clínico-histopatológicos del tumor de cérvix. La documentación de los cambios que obedecen TIM-3, Gal-9, y marcadores de anemia e inflamación podría proporcionar información valiosa para el diseño de nuevas estrategias terapéuticas que permitan impulsar vigorosas respuestas antitumorales con efectos a nivel local, y amplificaciones a nivel sistémico.

JUSTIFICACIÓN

El CaCu se ubica en el segundo lugar como causa de muerte por neoplasias malignas en la mujer mexicana. El mal manejo clínico y terapéutico que enfrentan las pacientes con la enfermedad en entornos con recursos limitados a menudo conduce al diagnóstico tardío, el tratamiento inadecuado, y el seguimiento clínico ineficiente. En consecuencia, surge la necesidad de implementar nuevos programas de control más económicos para CaCu enfocados al diagnóstico temprano, la estimación de resultados clínicos a largo plazo, la predicción del beneficio terapéutico, la vigilancia de respuesta terapéutica, y el pronóstico postratamiento. La identificación de biomarcadores como herramientas complementarias con diferentes aplicaciones en el curso clínico de CaCu podría mejorar la atención médica habitual en contextos de bajos recursos. Por otro lado, los cambios en el panorama inmunológico sistémico impulsados por el tumor de cérvix o su tratamiento no son tomados en consideración en el manejo terapéutico actual. No obstante, esta información sobre el perfil sanguíneo podría ser útil para el diseño de nuevas inmunoterapias.

TIM-3 y Gal-9 son dos proteínas solubles que participan en la evasión o estimulación de la inmunidad antitumoral. Los cambios de los niveles en sangre de ambas proteínas con carácter inmunorregulador han atraído gran interés por su potencial para detectar tumores sólidos, y estimar el riesgo pronóstico en cáncer. De manera similar, los mediadores celulares implicados en la inflamación, y las alteraciones de la eritropoyesis influyen en la fuerza de la vigilancia inmunitaria. Estos pueden cuantificarse por análisis de sangre y reciben el nombre de marcadores de anemia e inflamación. El valor clínico de los niveles en sangre de estos marcadores reside en su capacidad para predecir el pronóstico y la respuesta al tratamiento de pacientes con cáncer. Por lo tanto, la determinación del valor clínico de los

niveles de TIM-3, Gal-9, y marcadores de anemia e inflamación podría proporcionar nuevos biomarcadores que permitan aumentar la sensibilidad del tamizaje, mejorar la precisión de la estimación de los resultados clínicos a largo plazo, predecir el beneficio terapéutico, posibilitar el monitoreo de respuesta a tratamiento, y permitir la estimación del pronóstico postratamiento de las pacientes con CaCu. Además, estudiar el comportamiento que obedecen los niveles de TIM-3, Gal-9, y marcadores de anemia e inflamación podría proporcionar información valiosa sobre el macroambiente sistémico con posible utilidad en el diseño de nuevas inmunoterapias contra los tumores de cérvix.

HIPÓTESIS

1. Los niveles de TIM-3, Gal-9, y la proporción de Gal-9/TIM-3 en suero de pacientes con CaCu se encuentran incrementados con respecto al suero de mujeres con citología normal.
2. Los niveles séricos de Gal-9, TIM-3, y la proporción de Gal-9/TIM-3 permiten distinguir a las mujeres con citología normal de las pacientes con CaCu.
3. Existen correlaciones entre los niveles en sangre de Gal-9 y TIM-3, y de los marcadores de anemia e inflamación en pacientes con CaCu.
4. Los niveles en sangre de marcadores de anemia e inflamación se relacionan con las características clínico-histopatológicas de peor pronóstico en pacientes con CaCu.
5. Los altos niveles séricos de TIM-3 y Gal-9 se relacionan con las características clínico-histopatológicas de peor pronóstico en pacientes con CaCu.
6. Existen firmas sanguíneas basadas en TIM-3, Gal-9, y marcadores de anemia e inflamación en relación con las características clínico-histopatológicas de peor pronóstico en pacientes con CaCu.
7. Los niveles en sangre de índices basados en TIM-3, Gal-9, y marcadores de inflamación se encuentran incrementados en las pacientes con características clínico-histopatológicas de peor pronóstico. En cambio, los niveles en sangre de índices basados en TIM-3, Gal-9, y marcadores de anemia se encuentran disminuidos, con respecto a aquellas con características clínico-histopatológicas asociadas con una mayor expectativa de vida.
8. La mala respuesta terapéutica se asocia con los niveles en sangre de marcadores de anemia e inflamación previo, y posterior al tratamiento de pacientes con CaCu

localmente avanzado. En comparación con las pacientes respondedoras, las pacientes no respondedoras exhiben menores cambios de los niveles en sangre de estos marcadores durante el tratamiento.

9. Los niveles en sangre de marcadores de anemia e inflamación previo, durante, y posterior al tratamiento de CaCu localmente avanzado permiten distinguir a las pacientes respondedoras de las no respondedoras.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

- Determinar el valor clínico de los niveles en sangre de TIM-3, Gal-9, y marcadores de anemia e inflamación en pacientes con CaCu.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Cuantificar los niveles séricos de TIM-3 en mujeres con citología normal y pacientes con CaCu.
2. Determinar si existen diferencias entre los niveles séricos de TIM-3, Gal-9, y la proporción de Gal-9/TIM-3 de mujeres con citología normal y pacientes con CaCu.
3. Evaluar si los niveles séricos de TIM-3, Gal-9, y la proporción de Gal-9/TIM-3 permiten discriminar entre mujeres con citología normal y pacientes con CaCu.
4. Determinar las correlaciones entre los niveles en sangre de TIM-3 y Gal-9, y de los marcadores de anemia e inflamación de pacientes con CaCu.
5. Determinar si los niveles en sangre de marcadores de anemia e inflamación se relacionan con las características clínico-histopatológicas de pacientes con CaCu.
6. Evaluar si los niveles séricos de TIM-3 y Gal-9 se relacionan con las características clínico-histopatológicas de pacientes con CaCu.
7. Identificar firmas sanguíneas basadas en TIM-3, Gal-9, y marcadores de anemia e inflamación en relación con las características clínico-histopatológicas de pacientes con CaCu.
8. Evaluar si los niveles en sangre de índices basados en TIM-3, Gal-9, y marcadores de anemia e inflamación se asocian con las características clínico-histopatológicas de pacientes con CaCu.

9. Determinar la relación de la respuesta terapéutica y los niveles en sangre de marcadores de anemia e inflamación previo, durante, y posterior al tratamiento de pacientes con CaCu localmente avanzado.
10. Evaluar si los niveles en sangre de marcadores de anemia e inflamación previo, durante, y posterior al tratamiento de CaCu localmente avanzado permiten discriminar entre las pacientes respondedoras y no respondedoras.

METODOLOGÍA

DISEÑO DE INVESTIGACIÓN

La investigación se conformó por tres ensayos con diferentes diseños clínicos. Todos los estudios fueron analíticos observacionales. Entre éstos se incluyó un estudio de casos y controles, un estudio transversal, y un seguimiento retrospectivo.

ESTUDIO DE CASOS Y CONTROLES

El estudio de casos y controles determinó si existían diferencias entre los niveles séricos de TIM-3, Gal-9, y la proporción de Gal-9/TIM-3 de mujeres con citología normal y pacientes con CaCu. Además, evaluó si los niveles séricos de TIM-3, Gal-9, y la proporción de Gal-9/TIM-3 permiten discriminar entre mujeres con citología normal y pacientes con CaCu. La comparación de los niveles séricos de TIM-3 y Gal-9 en mujeres con citología normal, y pacientes con CaCu permitió conocer las diferencias entre grupos. Los análisis de correlación revelaron el tipo de proporcionalidad que poseen los niveles séricos de TIM-3 y Gal-9 en cada grupo de pacientes. Además, calculamos la proporción sérica de Gal-9/TIM-3 de los casos con CaCu y controles sanos. Esto con el fin de revelar si las proporciones de ambas proteínas séricas diferían entre grupos. La construcción de curvas características de operación del receptor (ROC) se realizó para valorar el potencial de los niveles séricos de TIM-3, Gal-9, y Gal-9/TIM-3 como posibles biomarcadores de tamizaje para CaCu.

ESTUDIO TRASVERSAL

El estudio trasversal se planeó con el propósito de detectar patrones de los niveles en sangre de TIM-3, Gal-9, y marcadores de anemia e inflamación asociados con las características clínico-histopatológicas de pacientes con CaCu. Los rasgos clínico-histopatológicos vinculados con el pronóstico de CaCu incluyeron al estadio FIGO, tamaño, tipo histológico,

grado de diferenciación, y queratinización del tumor. De manera general, el estudio se dividió en 5 partes, y éstas se describen a continuación.

En la primera parte del estudio se determinaron las correlaciones entre los niveles en sangre de TIM-3 y Gal-9 con los niveles de 21 marcadores de anemia e inflamación de pacientes con CaCu. El ensayo se constituyó por 42 análisis de correlación. Los resultados se ilustraron en mapas de calor en función de los valores p, y coeficientes r obtenidos. En la segunda parte del estudio se exploró la relación de los niveles en sangre de los marcadores de anemia e inflamación con las características clínico-histopatológicas de pacientes con CaCu. El análisis consistió en 105 ensayos de comparación entre grupos. Para ello, se llevó a cabo la confrontación de los niveles en sangre de 21 marcadores de anemia e inflamación, y 5 características clínico-histopatológicas de los casos con CaCu. De manera similar, en la tercera parte del estudio se evaluó la relación de los niveles séricos de TIM-3 y Gal-9 con 5 rasgos clínico-histopatológicos. Este ensayo incluyó 10 análisis de comparación entre grupos y 2 de curvas ROC.

Con el fin de evaluar relaciones más complejas para las dos siguientes partes del estudio, seleccionamos solo a las características clínico-histopatológicas que compartían vínculos tanto con los niveles en sangre de TIM-3 y Gal-9 como con los niveles en sangre de marcadores de anemia e inflamación de pacientes con CaCu. Es decir, seleccionamos la queratinización de tumores de cérvix, porque esta característica histopatológica compartía relación con los niveles en sangre de TIM-3, y marcadores de anemia e inflamación. Además, elegimos el tamaño de tumor de cérvix debido a que esta característica clínica guardaba relación con los niveles en sangre de Gal-9, y marcadores de anemia e inflamación.

La cuarta parte del estudio comparativo tuvo como objeto identificar firmas sanguíneas basadas en TIM-3, Gal-9, y marcadores de anemia e inflamación asociadas con el tamaño y queratinización de tumores en las pacientes con CaCu. La evaluación de firmas sanguíneas incluyó 84 análisis. Con el propósito de construir los perfiles sanguíneos, determinamos las correlaciones de los niveles en sangre de TIM-3 y Gal-9, y de 21 marcadores de anemia e inflamación para cada subgrupo de pacientes. Los análisis de relación recíproca de los niveles en sangre de TIM-3, y marcadores de anemia e inflamación se ejecutaron para pacientes con tumores de cérvix queratinizantes, y no queratinizantes. En cambio, los análisis de la relación lineal de los niveles en sangre de Gal-9, y marcadores de anemia e inflamación se efectuaron para pacientes con tumores de cérvix ≤ 6 cm y >6 cm. Los valores p y coeficientes r resultantes se representaron en mapas de calor. La identificación de firmas sanguíneas se realizó con la finalidad de determinar los cambios hematológicos asociados con las características tumorales, y que a perspectiva esta información permita adaptar las estrategias inmunoterapéuticas en CaCu.

Finalmente, en la quinta parte del estudio evaluamos si los niveles en sangre de índices basados en TIM-3, Gal-9, y marcadores de anemia e inflamación se asociaban con las características clínico-histopatológicas de pacientes con CaCu. Para ello, determinamos la relación de las proporciones basadas en los niveles en sangre de TIM-3, Gal-9, y de 14 marcadores de anemia e inflamación con el tamaño, y queratinización de tumores en pacientes con CaCu. La comparación de los índices basados en los niveles en sangre de TIM-3, y marcadores de anemia e inflamación se realizó entre pacientes con tumores de cérvix queratinizantes, y no queratinizantes. En cambio, las comparaciones de los índices basados en los niveles en sangre de Gal-9, y marcadores de anemia e inflamación se efectuaron entre

pacientes con tumores de cérvix ≤ 6 cm y >6 cm. La capacidad discriminativa de los índices propuestos se determinó con análisis de curvas ROC. En conjunto, los análisis se realizaron con la finalidad de que los nuevos índices propuestos brinden potenciales candidatos a biomarcadores de pronóstico para CaCu.

SEGUIMIENTO RETROSPECTIVO

El seguimiento retrospectivo se diseñó para indagar en la asociación de la respuesta terapéutica con los niveles en sangre de marcadores de anemia e inflamación previo, durante, y posterior al tratamiento de pacientes sometidas a quimiorradioterapia concurrente a base de cisplatino para el tratamiento de CaCu localmente avanzado. Además, para evaluar si estos marcadores permiten discriminar entre las pacientes respondedoras y no respondedoras al tratamiento. El motivo del seguimiento fue determinar si los niveles en sangre de marcadores de anemia e inflamación previo, durante, y posterior al tratamiento muestran potencial como posibles biomarcadores de beneficio terapéutico, vigilancia de respuesta terapéutica, y pronóstico de respuesta a tratamiento.

La primera parte del estudio incluyó 54 análisis de comparación. Determinamos la asociación de los niveles en sangre de 18 marcadores de anemia e inflamación con los grupos de pacientes que mostraron buena respuesta, y aquellas que presentaron resistencia. Estos ensayos se realizaron en tres puntos del programa de tratamiento: previo, durante, y posterior al tratamiento. La capacidad de los niveles en sangre de marcadores de anemia e inflamación para discriminar a las pacientes no respondedoras se validó con curvas ROC. Los gráficos se construyeron usando como control a las pacientes con buena respuesta al tratamiento. Además, se determinó el punto de corte, la especificidad, la sensibilidad, y la calidad de modelo predictivo para cada marcador sanguíneo.

POBLACIÓN DE ESTUDIO

UNIVERSO DE ESTUDIO

El universo del estudio se conformó por mujeres diagnosticadas con CaCu en la Unidad Médica de Alta Especialidad (UMAE) Manuel Ávila Camacho del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) en Puebla, Pue.

CRITERIOS EN LA SELECCIÓN DE PACIENTES

CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- Pacientes mayores de 18 años.
- Pacientes diagnosticadas con CaCu por examen clínico, y análisis anatomopatológico.
- Pacientes que contaban con base de datos: personales, antecedentes médicos, características clínico-patológicas, y biometrías hemáticas.
- Pacientes que autorizaron el uso de sus datos relativos a la salud y muestras de sangre periférica.

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- Pacientes con otros tumores, enfermedades hematológicas, disfunción renal o hepática grave.
- Pacientes con alergias o infecciones activas.

CRITERIOS DE ELIMINACIÓN

- Pacientes que decidieron retirarse del estudio en algún momento de la investigación.

CARACTERÍSTICAS DE LA POBLACIÓN

La población de estudio incluyó a 34 mujeres con citología normal, y 50 pacientes recién diagnosticadas con CaCu. El intervalo de edad fue de 26 a 87 años. Las pacientes mostraron una edad media de 51 años en el momento del diagnóstico.

MUESTRAS DE PACIENTES

La toma de muestra sanguínea se llevó a cabo en la UMAE del IMSS. El muestreo se realizó a conveniencia. Las 40 muestras de sangre para la recuperación de suero hemático se tomaron de pacientes con CaCu recién diagnosticadas, y que no habían iniciado tratamiento. Asimismo, se recolectaron 34 muestras sanguíneas de mujeres con citología normal. La donación de sangre con fines de investigación clínica fue autorizada por las participantes en el proceso de consentimiento informado ([Material suplementario 1](#)).

VARIABLES DE ESTUDIO

El proyecto consistió en la evaluación de 57 variables de estudio. Estas incluyeron 2 variables experimentales, 5 características clínico-histopatológicas, 21 marcadores de anemia e inflamación, 1 índice de Gal-9/TIM-3, y 28 índices basados en TIM-3, Gal-9, y marcadores de anemia e inflamación en pacientes con CaCu. Las variables experimentales y clínico-histopatológicas se muestran en la **Tabla 2**. Los niveles séricos de TIM-3 y Gal-9 representaron la concentración dada en nanogramos de proteína por mililitro de suero. Las características clínico-histopatológicas funcionaron como factores pronósticos de la enfermedad. Los marcadores de inflamación incluyeron el conteo de células sanguíneas e índices de inflamación. Los recuentos de células en sangre permitieron conocer el número de leucocitos y plaquetas por microlitro de sangre. Los índices de inflamación determinaron las proporciones del recuento celular de mediadores proinflamatorios y antiinflamatorios. Los marcadores de anemia indicaron el conteo de eritrocitos y propiedades de la sangre. En conjunto, estos marcadores sanguíneos permitieron conocer el grado de anemia e inflamación para cada paciente con CaCu.

Tabla 2. Variables experimentales y clínico-histopatológicas

<i>Categoría</i>	<i>Número de variables (n=28)</i>	<i>Variables de estudio</i>
<i>Niveles séricos</i>	2	Niveles de TIM-3 séricos Niveles de Gal-9 séricos
<i>Características clínico-histopatológicas</i>	5	Características clínicas Estadio FIGO (I, II, III, IV) Tamaño de tumor (≤ 6 cm, >6 cm)
		Características histopatológicas Tipo histológico (CCE, AC, AE) Grado de diferenciación (BD y MD, PD) Queratinización (Q, NQ)
<i>Marcadores</i>	21	Recuento celular Leucocitos Neutrófilos Monocitos Linfocitos Eosinófilos Basófilos Plaquetas
		Índices de inflamación Plaquetas/Linfocitos Neutrófilos/Plaquetas Monocitos/Linfocitos Neutrófilos/Linfocitos Eosinófilos/Linfocitos Índice PIV Índice SIRI
		Parámetros de eritrograma Eritrocitos Hemoglobina Hematocrito RDW VCM HCM CHCM

Abreviaturas. CCE: Carcinoma de células escamosas. AC: Adenocarcinoma. AE: Carcinoma adenoescamoso. BD y MD: Bien y moderadamente diferenciado. PD: Pobremente diferenciado. Q: Queratinizante. NQ: No queratinizante. VCM: Volumen celular medio. CHCM: Concentración de hemoglobina corpuscular media. HCM: Hemoglobina corpuscular media. RDW: Amplitud de distribución eritrocitaria.

Los nuevos índices basados en TIM-3, Gal-9, y marcadores de anemia e inflamación de pacientes con CaCu, se ilustran en la **Tabla 3**. Estos se dividen en dos grupos. El primer grupo representa la relación de los niveles en sangre de TIM-3 y Gal-9 con el conteo de

leucocitos y plaquetas. El segundo grupo exhibe la razón matemática de los niveles en sangre de TIM-3 y Gal-9 con los marcadores de anemia.

Tabla 3. Índices basados en TIM-3, Gal-9, y marcadores de anemia e inflamación

<i>Categoría</i>	<i>Número de variables (n=29)</i>	<i>Variables de estudio</i>
<i>Índice de Gal-9/TIM-3</i>	1	Gal-9/TIM-3
<i>Índices de TIM-3</i>	14	Leucocitos /TIM-3
		Linfocitos/TIM-3
		Monocitos/TIM-3
		Neutrófilos/TIM-3
		Basófilos/TIM-3
		Eosinófilos/TIM-3
		Plaquetas/TIM-3
		Eritrocitos/TIM-3
		Hemoglobina/TIM-3
		Hematocrito/TIM-3
		CHCM/TIM-3
		HCM/TIM-3
		VCM/TIM-3
		RDW/TIM-3
<i>Índices de Gal-9</i>	14	Leucocitos/log(Gal-9)
		Linfocitos/log(Gal-9)
		Monocitos/log(Gal-9)
		Neutrófilos/log(Gal-9)
		Basófilos/log(Gal-9)
		Eosinófilos/log(Gal-9)
		Plaquetas/log(Gal-9)
		Eritrocitos/log(Gal-9)
		Hemoglobina/log(Gal-9)
		Hematocrito/log(Gal-9)
		CHCM/log(Gal-9)
		HCM/log(Gal-9)
		VCM/log(Gal-9)
		RDW/log(Gal-9)

La descripción de cada una de las variables del estudio se presenta en las [Tablas suplementarias S1-11](#).

PROCESO TÉCNICO

RECOLECCIÓN DE SANGRE PERIFÉRICA

La toma de muestras sanguíneas de mujeres con citología normal y pacientes con CaCu para la recuperación de suero hemático se llevó a cabo con tubos BD Vacutainer® sin anticoagulante EDTA. El protocolo de venopunción se efectuó en el Servicio de Radio-Oncología por estudiantes de Servicio Social en Investigación en Salud.

MANEJO DE MUESTRAS DE SUEROS

Los tubos de sangre periférica se centrifugaron a 5000 RPM durante 10 min. Se recuperó la fracción sérica, y se desechó el precipitado con los remanentes. El suero se almacenó a -20°C hasta su uso.

CUANTIFICACIÓN DE LOS NIVELES SÉRICOS DE TIM-3 Y GAL-9

Los niveles séricos de TIM-3 en mujeres con citología normal y pacientes con CaCu se midieron a través de un ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA) durante el desarrollo de la presente tesis. Para el cuál se utilizó el kit *Human TIM-3 SimpleStep ELISA* de *Abcam*. En cambio, en un estudio previo de nuestro grupo de investigación se cuantificaron los niveles séricos de Gal-9 con el kit *Quantikine ELISA Human Gal-9 Immunoassay* de *R&D Systems* (Reyes-Vallejo, 2020), y las concentraciones obtenidas se usaron en el presente proyecto.

El ELISA de tipo sándwich de ambos kits se realizó de acuerdo con las instrucciones sugeridas por el fabricante ([Materiales suplementarios 3-4](#)). Esta técnica requirió de una placa de 96 pozos recubierta con un anticuerpo que permite la retención específica de la proteína de estudio. En los pozos se añadieron por duplicado las muestras de suero diluidas, una serie de concentraciones conocidas de la proteína diana, y un blanco. La placa se llevó a incubación

para permitir la retención de la proteína objetivo por el anticuerpo revestido. Después de la incubación se descartó el sobrenadante con el fin de remover a las moléculas no unidas. A los pozos se les añadió el cóctel de anticuerpos que incluyó al anticuerpo de captura, y al anticuerpo detector acoplado a una enzima, y luego su sustrato. El consumo del sustrato generó una reacción colorimétrica en proporción a la cantidad de proteína de interés detectada en el suero. Esta reacción se detuvo con la solución de paro luego de la incubación. Se midió la absorbancia derivada del cambio de color de los pozos en las muestras de suero con el lector de placas *Synergy* de *Biotech*.

Más adelante, se construyó la curva de referencia de las concentraciones conocidas de las diluciones seriadas de la proteína de interés contra sus valores de absorbancia. Las réplicas de la lectura de absorbancia de las muestras de suero fueron promediadas, y multiplicadas por el factor de dilución. Además, se les restó la media de absorbancia del blanco. Los valores resultantes se sometieron a interpolación lineal dentro del intervalo conocido de la curva de referencia. Este método matemático nos permitió estimar los niveles séricos de la proteína de estudio a partir de los valores de absorbancia obtenidos en el ensayo.

OBTENCIÓN Y RECUPERACIÓN DE DATOS RELATIVOS A LA SALUD

Los estudiantes de Servicio Social en Investigación en Salud del IMSS recopilaron de forma retrospectiva 50 expedientes clínicos de pacientes con CaCu. Estos incluyeron notas médicas, informes anatomopatológicos, y análisis de biometría hemática en formato físico. El periodo de recuperación fue del 2017 al 2021.

DATOS CLÍNICO-HISTOPATOLÓGICOS

Las características clínico-histopatológicas de las pacientes con CaCu se determinaron a través de la examinación clínica por el personal del Servicio de Radio-Oncología. Además, por el estudio histopatológico de una biopsia sólida del tejido de cérvix por el Servicio de Patología del IMSS. El estadio clínico, tamaño de tumor, tipo histológico, grado de diferenciación, y queratinización de las pacientes se extrajo de las notas médicas, e informes anatomopatológicos en formato físico de 50 pacientes. Los datos clínico-histopatológicos se importaron en un expediente clínico electrónico, y se usaron en la actual investigación.

DATOS DE BIOMETRÍAS HEMÁTICAS

Los datos biométricos se determinaron por análisis de sangre total en el Servicio de Hematología del UMAE perteneciente al IMSS. Los niveles en sangre de marcadores de anemia, leucocitos y plaquetas se recuperaron de los análisis biométricos de 50 pacientes pretratamiento. Además, se recopilaron 16 biometrías hemáticas de pacientes postratamiento. Los datos de las variables hematológicas se incorporaron a un registro médico digital para el desarrollo de esta tesis.

DATOS DEL PROGRAMA DE TRATAMIENTO

El tratamiento de las pacientes se dictó de acuerdo con las pautas de práctica clínica en oncología para CaCu de la Red Nacional Integral del Cáncer ([NCCN, 2020](#)). El programa de tratamiento se expidió por el personal médico del Servicio de Radio-Oncología, y Oncología Médica. Los antecedentes del tratamiento se recolectaron de 32 notas médicas en formato físico. Los datos de radioterapia y quimioterapia recopilados incluyeron la dosis de radiación o medicamento, número de tratamientos, y período total de tiempo del tratamiento. La

información del plan gradual del tratamiento de las pacientes se importó en una aplicación de base de datos en línea, y se usó en el presente proyecto.

DATOS DE RESPUESTA AL TRATAMIENTO

La respuesta al tratamiento se determinó de acuerdo con la información disponible en la historia clínica de las pacientes con CaCu localmente avanzado. Las notas médicas expedidas por el Servicio de Radio-Oncología, y Oncología Médica se digitalizaron, y almacenaron en una computadora de acceso restringido.

PROGRAMA DE TRATAMIENTO

Las pacientes con CaCu localmente avanzado se sometieron a quimiorradioterapia concurrente a base de cisplatino. La radioterapia consistió en una dosis total de radiación de 50 Grays en 25 tratamientos. La quimioterapia se realizó con una dosis total de 250 mg de cisplatino por vía intravenosa en 5 ciclos. Ambos procedimientos se llevaron a cabo durante ~5 semanas.

EVALUACIÓN DE RESPUESTA AL TRATAMIENTO

La clasificación de las pacientes respondedoras y no respondedoras se precisó según los informes de las notas de evolución. Las pacientes que respondieron al tratamiento poseían reportes de regresión tumoral, tiempo libre de la enfermedad mayor a ~2 años, o alta. En contraste, las pacientes que presentaron mala respuesta al tratamiento contaron con notificaciones de persistencia de la enfermedad, recurrencia, metástasis, remisión a cuidados paliativos, o muerte.

ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Los análisis estadísticos se realizaron en el programa *Prisma Graphpad* (versión 8.0; Corporación *GraphPad*, EUA), y *IBM SPSS Statistics* (versión 23.0; empresa IBM, EUA). En todos los análisis se consideraron estadísticamente significativos los valores de $p \leq 0.05$. Los datos se muestran como media \pm error estándar de la media (EEM).

El preprocesamiento estadístico se conformó por la verificación de la normalidad, y la comprobación de la homocedasticidad de varianzas para cada grupo de datos. Las pruebas estadísticas utilizadas incluyeron comparaciones de dos muestras independientes, comparaciones de tres o más muestras independientes, análisis de correlaciones, mapas de calor, curvas ROC, y gráficos de calidad del modelo predictivo. Todos estos análisis se describen en las siguientes secciones.

VERIFICACIÓN DE COMPORTAMIENTO NORMAL

La normalidad de los datos se probó por interpretación gráfica de histogramas, y por prueba de normalidad. La normalidad de los datos se verificó con la prueba de Shapiro-Wilk para tamaños de muestras con $n \leq 50$ por grupo. Los datos paramétricos presentaron valores $p > 0.05$. A diferencia de los datos no paramétricos que mostraron valores $p \leq 0.05$.

COMPROBACIÓN DE HOMOCEASTICIDAD DE VARIANZAS

La selección de las pruebas de homogeneidad se basó en el tamaño de muestra por grupo, y su simetría. Los análisis de la homogeneidad de varianzas en grupos de datos con varianzas homogéneas presentaron valores $p > 0.05$. Al contrario, los grupos con varianzas heterogéneas mostraron valores $p \leq 0.05$.

COMPARACIONES DE DOS MUESTRAS INDEPENDIENTES

Las comparaciones de dos muestras independientes de datos paramétricos fueron procesadas por pruebas t de dos colas. Previo al análisis comparativo, se realizó una prueba F de Fisher de análisis de varianzas para dos grupos. Los grupos de dos muestras independientes que cumplían con la condición de homogeneidad de varianzas se compararon con la prueba t Student no pareada. En cambio, para los grupos de dos muestras independientes con varianzas heterogéneas se realizó la prueba t Welcher no pareada. Las comparaciones de dos muestras independientes de datos no paramétricos se sometieron a la prueba U de Mann-Whitney.

COMPARACIONES DE TRES O MÁS MUESTRAS INDEPENDIENTES

Las comparaciones de tres o más muestras independientes de datos paramétricos se realizaron con la prueba ANOVA de una vía. Previo al análisis comparativo, se realizó la prueba de Brown-Forsythe de análisis de varianzas. Las comparaciones entre grupos con homogeneidad de varianzas y tamaños de muestra desiguales se realizaron con la prueba post hoc de Tukey-Kramer. Las comparaciones entre grupos con heterogeneidad de varianzas y tamaños desiguales de muestra se ejecutaron con la prueba post hoc de Dunnett T3 y Fisher LSD. Las comparaciones de tres o más muestras independientes de datos no paramétricos se llevaron a cabo con la prueba de Kruskal-Wallis, y la comparación entre grupos se realizó con la prueba post hoc de Dunn.

ANÁLISIS DE CORRELACIÓN

Antes de los análisis de correlación se verificó la linealidad, y homocedasticidad. La linealidad de las variables de cada análisis de correlación se comprobó mediante gráficos de dispersión. La homocedasticidad de los datos se confirmó con la prueba de Bartlett. La

correlación de datos no paramétricos se ejecutó con la prueba de correlación de Spearman. La correlación de datos paramétricos y homogeneidad de varianzas se realizó mediante la prueba de correlación de Pearson. Además, se calculó la R^2 que nos permitió evaluar la dispersión de los puntos de datos alrededor de la línea de regresión ajustada.

MAPAS DE CALOR

Los mapas de calor partieron de análisis de correlación de las variables de estudio. Los gráficos se construyeron con base en los valores p y los coeficientes r de Spearman y Pearson obtenidos. Los valores de p se representan en un gradiente de color verde. Este ilustra de forma colorimétrica el grado de significancia para cada correlación. Los valores p más pequeños muestran las tonalidades más oscuras, y viceversa (**Figura 8A**). Como se aprecia en la **Figura 8B**, los coeficientes de r dentro del intervalo -1 a $+1$ se exponen con un doble gradiente. Las correlaciones positivas se exhiben en azul, y las negativas en rojo. En ambos casos, las altas intensidades de color indican mayores fuerzas de correlación.

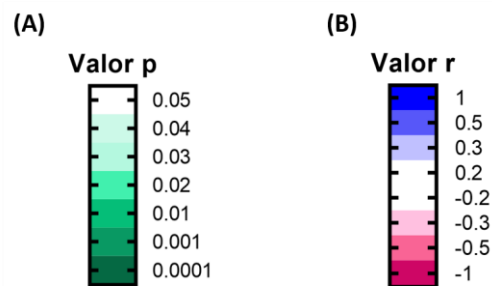


Figura 8. Representación gráfica de los valores p y coeficientes r en mapas de calor

(A) Escala de valores p en un gradiente de color verde desde 0.0001 a 0.05. (B) Escala de los coeficientes de r en un doble gradiente de los colores rojo y azul desde -1 a $+1$.

CURVAS ROC

Las curvas ROC se trazaron con las tasas de verdaderos positivos contra las tasas de falsos negativos. Los parámetros que se calcularon incluyeron el área bajo la curva (ABC), intervalos de confianza (IC) al 95 %, coordenadas, e índice J de Youden. Las curvas ROC con más de un marcador se realizaron con datos pareados. En los gráficos de las curvas ROC, los clasificadores que dan curvas más cercanas a la esquina superior izquierda indican un mejor rendimiento. La línea en diagonal a 45 grados representa el umbral de utilidad discriminatoria. Entre más cerca se encuentre la curva a la línea de referencia, menos sensible, y específico es el marcador.

El ABC señala la capacidad de un clasificador para distinguir entre los individuos con la característica de estudio y los controles. Los valores ≥ 0.7 de ABC indicaron que marcadores poseían una capacidad discriminativa aceptable. El ABC también se utilizó para confrontar el desempeño entre marcadores. En las comparaciones, el marcador con mayor ABC poseía el mejor rendimiento.

El índice J de Youden sirvió para seleccionar el punto de corte óptimo, y medir la eficacia del marcador de estudio. Este se calculó con la diferencia entre la tasa de verdaderos positivos y la tasa de falsos positivos sobre todos los posibles valores de punto de corte (**Ecuación 1**). Los valores del índice $J \geq 0.5$ indican que el punto de corte cumple con la sensibilidad y especificidad para discriminar de manera eficiente.

$$\text{Ec. 1 } J(x) = [(sensibilidad(x)) - (1 - especificidad(x))]$$

El punto de corte nos permitió definir la sensibilidad y especificidad máxima de cada clasificador de estudio. La sensibilidad indica la capacidad de la prueba para detectar

correctamente a los verdaderos positivos. En cambio, la especificidad señala el poder para discriminar a los verdaderos negativos.

GRÁFICOS DE CALIDAD GENERAL DEL MODELO PREDICTIVO

La calidad del modelo predictivo se representa en gráficos de barras horizontales con los valores de ABC del intervalo inferior de confianza al 95 %. Un modelo aceptable posee puntuaciones de ABC superiores a 0.5. Un valor inferior a 0.5 indica que el modelo no es mejor que la predicción aleatoria.

REGISTRO DEL PROYECTO Y APROBACIÓN POR EL COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA

La presente tesis incluyó pacientes que aceptaron participar en el proyecto “Expresión de Galectina 9 en cáncer cervicouterino: marcador predictivo de respuesta al tratamiento y supervivencia”. El estudio fue autorizado por los comités de ética e investigación científica del IMSS, y registrado con el número R-2017-785-119. El proceso de consentimiento informado de las participantes consistió en la firma de un documento con la descripción general de la investigación ([Material suplementario 1](#)), y la explicación del escrito por el personal médico. Durante este procedimiento las pacientes concedieron permiso para que sus muestras de sangre, historia clínica, y datos relativos a la salud se usen con fines de investigación. El proyecto cumplió con las pautas de la Ley Federal de Salud y de Puebla, el reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación, la NOM-012-SSA3-201, la normativa de la Comisión Nacional de Bioética, y la Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial.

RESULTADOS

ESTUDIO DE CASOS Y CONTROLES

DETERMINACIÓN DE LAS DIFERENCIAS ENTRE LOS NIVELES SÉRICOS DE TIM-3, GAL-9, Y LA PROPORCIÓN DE GAL-9/TIM-3 DE MUJERES CON CITOLOGÍA NORMAL Y PACIENTES CON CaCu

La primera parte del estudio buscó determinar las diferencias entre los niveles séricos de TIM-3 y Gal-9 de 7 mujeres con citología normal, y 26 pacientes con CaCu. La comparación de los niveles séricos de TIM-3 y Gal-9 cuantificados por ELISA se realizó entre mujeres con citología normal, y pacientes con CaCu recién diagnosticadas. Los resultados mostraron que los niveles séricos de TIM-3 y Gal-9 son mayores en pacientes con CaCu en comparación con el grupo control (**Figuras 9A-B**). Encontramos diferencias significativas para los niveles séricos de Gal-9 entre pacientes con CaCu, y mujeres con citología normal ($p < 0.001$) (**Figura 9A**). Sin embargo, no se identificaron diferencias estadísticas para los niveles séricos de TIM-3 entre los casos con CaCu y controles sanos (**Figura 9B**).

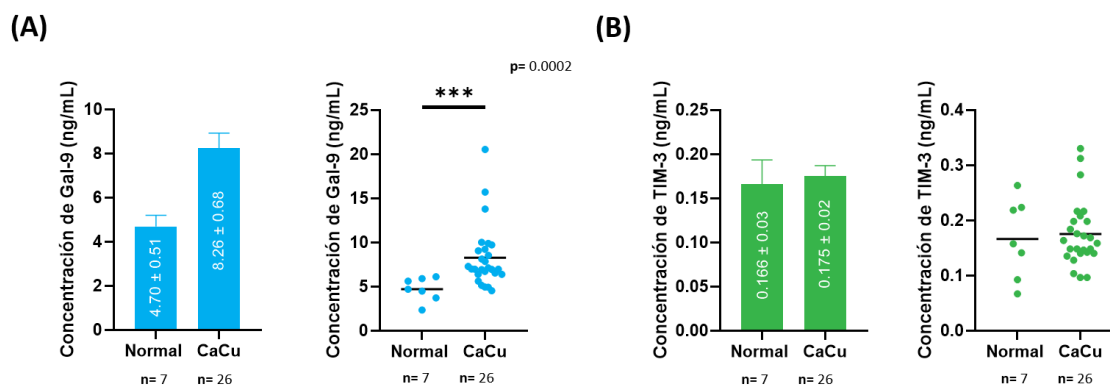


Figura 9. Niveles séricos de Gal-9 y TIM-3 en mujeres con citología normal y pacientes con CaCu

Comparación de los niveles séricos de **(A)** Gal-9, y **(B)** TIM-3 entre mujeres con citología normal (n=7), y pacientes con CaCu (n=26). Las comparaciones entre grupos se realizaron con la prueba U de Mann-Whitney no pareada. Cada punto representa el dato de una paciente. Las barras verticales se muestran como media \pm EEM. **Abreviaturas.** Normal: Mujeres con citología normal. CaCu: Pacientes con cáncer cervicouterino.

Más adelante, nos interesó determinar si existían diferencias en el tipo de proporcionalidad de los niveles séricos de TIM-3 y Gal-9 en mujeres con citología normal, y pacientes con CaCu. Los análisis de relación lineal entre los niveles séricos de TIM-3 y Gal-9 se ejecutaron para mujeres con citología normal (n=7), pacientes con CaCu (n=26), y ambos (n=33). La evaluación conjunta de las mujeres que pertenecían a los dos grupos de estudio exhibió una correlación positiva y débil entre los niveles séricos de TIM-3 y Gal-9 ($r=0.3965$, $p<0.05$) (**Figura 10A**). Cuando se evaluó por grupo de estudio, en las mujeres con citología normal, los niveles séricos de TIM-3 y Gal-9 presentaron una correlación positiva y fuerte ($r=0.8571$, $p<0.05$) (**Figura 10B**). En cambio, en el grupo de pacientes con CaCu los niveles séricos de TIM-3 y Gal-9 mostraron una relación recíproca positiva y media ($r=0.4121$, $p<0.05$) (**Figura 10C**). Los tres análisis de correlación fueron significativos.

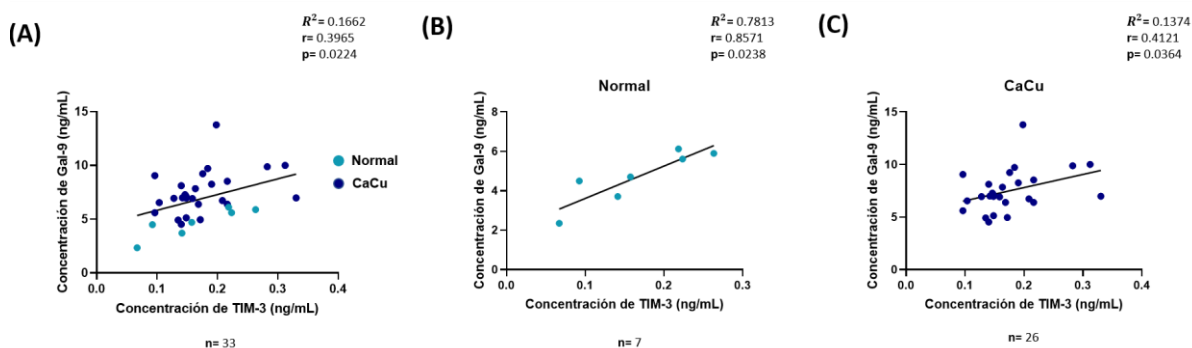


Figura 10. Correlación de los niveles séricos de Gal-9 y TIM-3 en mujeres con citología normal y pacientes con CaCu

(A) Relación lineal positiva entre los niveles séricos de TIM-3 y Gal-9 de mujeres con citología normal y pacientes con CaCu (n=33). Relación recíproca positiva entre los niveles séricos de TIM-3 y Gal-9 en (B) mujeres con citología normal (n=7), y (C) pacientes con CaCu (n=26). Los análisis de correlación se realizaron con la prueba de Spearman. **Abreviaturas.** Normal: Mujeres con citología normal. CaCu: Pacientes con cáncer cervicouterino.

Como se presenta en la **Figura 10C**, notamos un menor ajuste de los datos con la línea de regresión con valores de R^2 de 0.1374 para el grupo de CaCu. En comparación con los

controles sanos que exhibieron valores de R^2 de 0.7813 (**Figura 10B**). Estos resultados nos llevaron a sugerir que podría existir un desbalance en la relación entre los niveles séricos de Gal-9 y TIM-3 en los individuos con CaCu. Para abordar esta posibilidad, realizamos una comparación de la proporción de Gal-9/TIM-3 en suero entre los grupos de estudio. Las mujeres con citología normal presentaron una proporción media de Gal-9/TIM-3 de 31:1. Las pacientes con CaCu mostraron una proporción promedio de 46:1. Este último grupo exhibió significativamente mayores niveles séricos del índice de Gal-9/TIM-3 con un valor $p < 0.05$ (**Figura 11**).

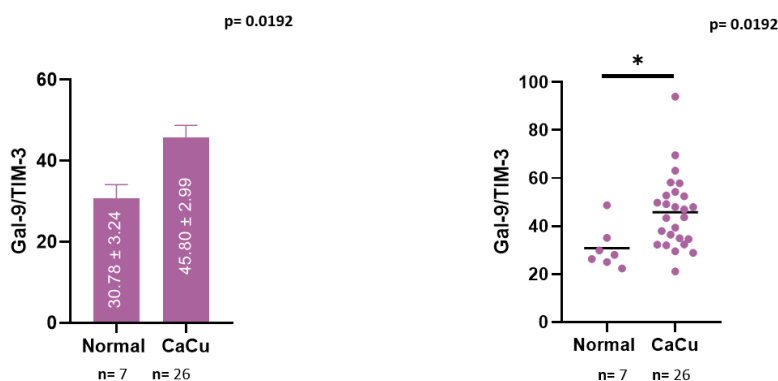


Figura 11. Niveles séricos del índice de Gal-9/TIM-3 de mujeres con citología normal y pacientes con CaCu

Comparación de los niveles séricos del índice de Gal-9/TIM-3 entre mujeres con citología normal (n=7), y pacientes con CaCu (n=26). Las comparaciones entre grupos se realizaron con la prueba t Student no pareada. Cada punto representa el dato de una paciente. Las barras verticales se muestran como media \pm EEM. **Abreviaturas.** Normal: Mujeres con citología normal. CaCu: Pacientes con cáncer cervicouterino.

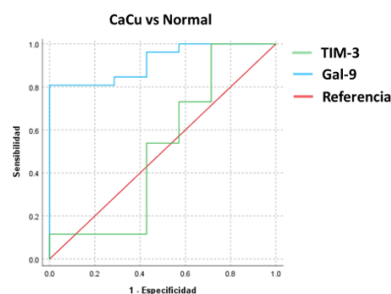
EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD DE LOS NIVELES SÉRICOS DE TIM-3, GAL-9, Y GAL-9/TIM-3 PARA DISCRIMINAR ENTRE MUJERES CON CITOLOGÍA NORMAL Y PACIENTES CON CACU

La segunda parte del estudio de casos y controles pretendió evaluar si los niveles séricos de TIM-3 y Gal-9, y Gal-9/TIM-3 permitían discriminar entre mujeres con citología normal, y pacientes con CaCu. Para ello, realizamos análisis de curvas ROC, y usamos como control a las mujeres con citología normal. En conjunto, estos ensayos nos permitieron conocer el

potencial de TIM-3 sérico, Gal-9 sérica, e índice sérico de Gal-9/TIM-3 como posibles biomarcadores en el tamizaje de la enfermedad.

Con el propósito de evaluar si los niveles séricos de TIM-3 y Gal-9 permiten distinguir entre mujeres con citología normal y pacientes con CaCu, se realizó un análisis de curva ROC múltiple con datos pareados. Como se muestra en las **Figuras 12A-B**, determinamos que los niveles séricos de TIM-3 poseen una pobre capacidad discriminativa con un ABC de 0.52, y la calidad del modelo es deficiente. En cambio, los niveles séricos de Gal-9 mostraron una buena capacidad discriminativa con valores de ABC de 0.91, y una calidad de modelo predictivo aceptable.

(A)



	n	ABC	IC al 95%	
Gal-9	26/7	0.91	0.82	1.00
TIM-3	26/7	0.52	0.22	0.81

(B)

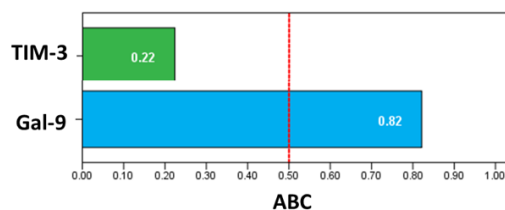


Figura 12. Capacidad de los niveles séricos de TIM-3 y Gal-9 para discriminar entre mujeres con citología normal y pacientes con CaCu

(A) Curva ROC múltiple de los niveles séricos de TIM-3 y Gal-9 en mujeres con citología normal (n=7), y pacientes con CaCu (n=26). (B) Gráfico de calidad de modelo predictivo. Las barras horizontales representan los valores de ABC del límite inferior de confianza al 95 %, y la línea roja indica el umbral de referencia. **Abreviaturas.** ABC: Área bajo la curva. IC: Intervalo de confianza. Normal: Mujeres con citología normal. CaCu: Pacientes con cáncer cervicouterino.

A continuación, realizamos un análisis de curva ROC para evaluar la capacidad de los niveles séricos del índice de Gal-9/TIM-3 para discriminar entre mujeres con citología

normal y pacientes con CaCu. Los niveles séricos del índice de Gal-9/TIM-3 indicaron una capacidad discriminativa satisfactoria con un valor de ABC de 0.83. El intervalo inferior de confianza al 95 % reveló una calidad de modelo admisible con una cifra de ABC de 0.65. Estos resultados se pueden apreciar en las **Figuras 13A-B**.

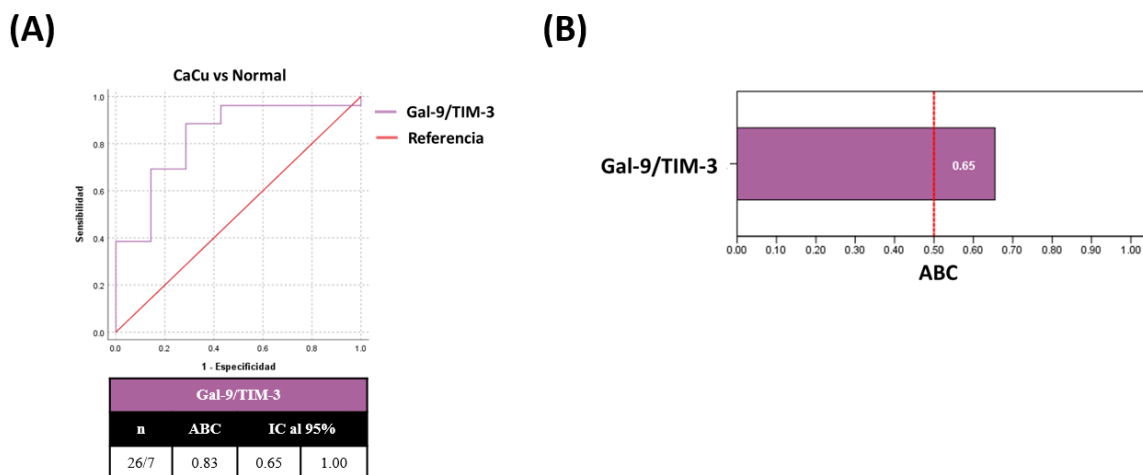


Figura 13. Capacidad de los niveles séricos del índice de Gal-9/TIM-3 para discriminar entre mujeres con citología normal y pacientes con CaCu

(A) Curva ROC de los niveles séricos del índice de Gal-9/TIM-3 en mujeres con citología normal (n=7), y pacientes con CaCu (n=26). **(B)** Gráfico de calidad de modelo predictivo. Las barras horizontales representan los valores de ABC del límite inferior de confianza al 95 % y la línea roja indica el umbral de referencia. **Abreviaturas.** Normal: Mujeres con citología normal. CaCu: Pacientes con cáncer cervicouterino. ABC: Área bajo la curva. IC: Intervalo de confianza.

El cálculo del índice J de Youden de los niveles séricos de TIM-3, Gal-9, y Gal-9/TIM-3 arrojó valores de 0.808, 0.286, y 0.599 respectivamente. Estos índices determinaron el punto de corte y eficiencia para cada marcador sérico. El valor de corte igual o mayor a 0.094 $\frac{ng}{mL}$ de TIM-3 sérico presentó una sensibilidad del 100 %, y una especificidad del 28.6 %. En cuanto a Gal-9 sérica, encontramos un valor óptimo de corte igual o mayor a 6.25 $\frac{ng}{mL}$ con una sensibilidad del 80.8 %, y una especificidad del 100 %. El índice sérico de Gal-9/TIM-3 arrojó un punto umbral mayor o igual de 30.98 con una sensibilidad del 88.5 %, y una

especificidad del 71.4 %. Todos estos resultados pueden apreciarse en la **Tabla 4**. En conjunto, los ensayos revelaron que solo Gal-9, y el índice de Gal-9/TIM-3 en suero exhiben potencial como biomarcadores en el tamizaje de CaCu.

Tabla 4. *Parámetros de las curvas ROC de los niveles séricos de TIM-3, Gal-9, y Gal-9/TIM-3 de mujeres con citología normal y pacientes con CaCu*

Variable	Índice J	Punto de corte	Sensibilidad	Especificidad
<i>TIM-3 sérico</i>	0.286	$\geq 0.094 \frac{ng}{mL}$	100 %	28.6 %
<i>Gal-9 sérica</i>	0.808	$\geq 6.25 \frac{ng}{mL}$	80.8 %	100 %
<i>Índice sérico de Gal-9/TIM-3</i>	0.599	≥ 30.98	88.5 %	71.4 %

ESTUDIO TRANSVERSAL

DETERMINACIÓN DE LAS CORRELACIONES DE LOS NIVELES EN SANGRE DE TIM-3 Y GAL-9, Y DE LOS MARCADORES DE ANEMIA E INFLAMACIÓN DE PACIENTES CON CaCu

El presente estudio exploró las relaciones lineales de los niveles en sangre de TIM-3 y Gal-9, y de los marcadores de anemia e inflamación de pacientes con CaCu. Para demostrarlo se realizaron 42 análisis de correlación de los niveles en sangre de TIM-3 y Gal-9 con los niveles en sangre de 21 marcadores obtenidos de las biometrías pretratamiento. Los datos de r y p obtenidos de las correlaciones se representaron en mapas de calor. Los análisis de los niveles en sangre de TIM-3 incluyeron a 31 pacientes con CaCu. En cambio, las pruebas de los niveles en sangre de Gal-9 se conformaron por 40 pacientes con CaCu.

Los resultados presentaron que en pacientes con CaCu, los niveles en sangre de TIM-3 muestran correlaciones positivas y significativas con el recuento celular de leucocitos ($r=0.389$, $p < 0.05$), neutrófilos ($r=0.481$, $p < 0.01$), y monocitos ($r=0.445$, $p < 0.05$). Además,

se observaron correlaciones positivas con significancia entre los niveles en sangre de TIM-3, y los índices de inflamación de neutrófilos/plaquetas ($r= 0.472$, $p <0.001$), neutrófilos/linfocitos ($r= 0.365$, $p <0.05$), monocitos/linfocitos ($r= 0.422$, $p <0.05$), y PIV ($r= 0.400$, $p <0.05$). Todos estos resultados se ilustran en las **Figuras 14A-B**. No se observaron correlaciones estadísticamente significativas de los niveles en sangre de TIM-3 con el resto de los marcadores evaluados ([Tabla suplementaria S12](#)).

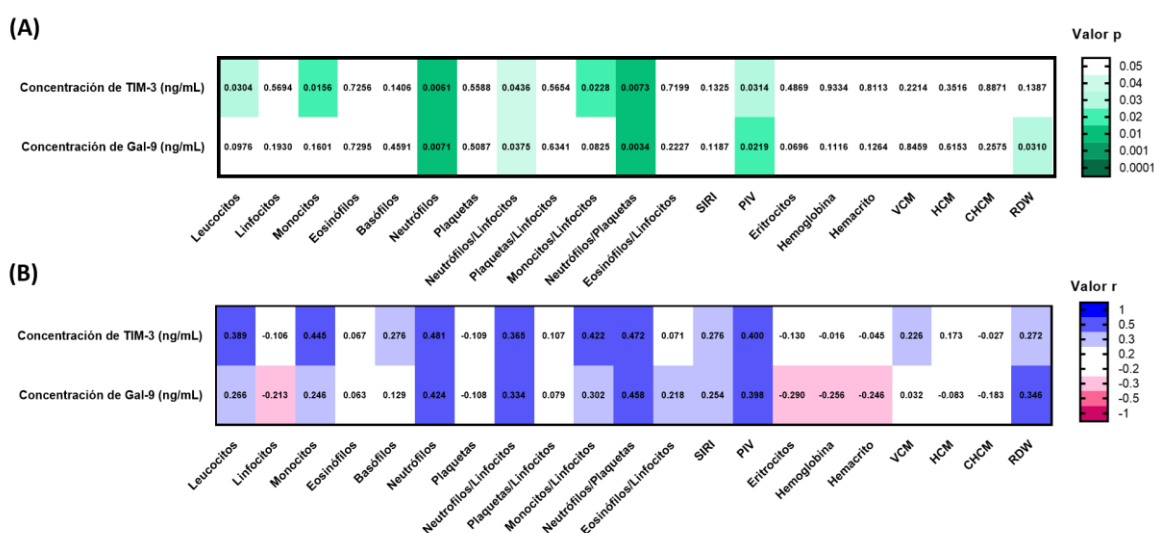


Figura 14. Correlaciones de los niveles en sangre de TIM-3 y Gal-9, y de los marcadores de anemia e inflamación en pacientes con CaCu

Mapas de calor de los valores (A) p y (B) r de las correlaciones de los niveles en sangre de Gal-9 y TIM-3, y de los marcadores de anemia e inflamación en pacientes con CaCu. Los análisis de correlación se realizaron con la prueba de Spearman. Los valores de p se representan en un gradiente de color verde. Los coeficientes de r dentro del intervalo -1 a +1 se exponen con un doble gradiente. Las correlaciones positivas se exhiben en azul, y las negativas en rojo. **Abreviaturas.** RDW: Amplitud de distribución eritrocitaria. VCM: Volumen celular medio. HCM: Hemoglobina corpuscular media. CHCM: Concentración de hemoglobina corpuscular media. PIV: Índice Pan-Inmuno-Inflamatorio [(Neutrófilos · Plaquetas · Monocitos) / (Linfocitos)]. SIRI: Índice de Respuesta a la Inflamación sistémica [(Neutrófilos · Plaquetas) / (Linfocitos)].

Como se expone en las **Figuras 14A-B**, se produjo una correlación positiva con significancia entre los niveles en sangre de Gal-9 con el recuento de neutrófilos ($r= 0.424$, $p <0.01$). Nuestro análisis también reveló que los niveles en sangre de Gal-9 exhibieron

correlaciones positivas y significativas con los índices de neutrófilos/plaquetas ($r= 0.458$, $p < 0.01$), neutrófilos/linfocitos ($r= 0.334$, $p < 0.05$), y PIV ($r= 0.398$, $p < 0.05$). Curiosamente, encontramos una correlación positiva con significancia entre los niveles en sangre de Gal-9, y la RDW ($r= 0.346$, $p < 0.05$). Este último parámetro hematológico representa la variación del volumen de los eritrocitos. No se detectó significancia de correlación lineal entre los niveles en sangre de Gal-9, y los 16 marcadores restantes ([Tabla suplementaria S13](#)).

DETERMINACIÓN DE LA RELACIÓN DE LOS NIVELES EN SANGRE DE MARCADORES DE ANEMIA E INFLAMACIÓN CON LAS CARACTERÍSTICAS CLÍNICO-HISTOPATOLÓGICAS DE PACIENTES CON CaCu

El ensayo buscó determinar la relación de los niveles en sangre de marcadores de anemia e inflamación con las características clínico-histopatológicas de 50 pacientes con CaCu. Este consistió en 105 análisis de comparación. Comenzamos determinando si existían asociaciones significativas entre los niveles en sangre de 21 marcadores de anemia e inflamación, y 5 características clínico-histopatológicas asociadas con el pronóstico en CaCu. Las cuáles incluyeron al estadio FIGO, tamaño, tipo histológico, grado de diferenciación, y queratinización del tumor. La prevalencia de las características clínico-histopatológicas de la población de estudio se ilustra en la [Tabla P1](#). En cambio, las características hematológicas pueden apreciarse en las [Tablas P2-3](#).

La primera característica clínica evaluada en el estudio fue el estadio FIGO, y este es considerado el principal factor pronóstico en pacientes con CaCu. La supervivencia es menor conforme progresan los estadios clínicos de las pacientes, y el estadio IV posee el peor pronóstico ([Grigsby et al., 2020](#)). Las pacientes del estudio se clasificaron de acuerdo con la etapa tumoral en estadio FIGO I, II, III, y IV. La determinación de la relación del recuento celular en sangre, y los estadios clínicos reveló que el recuento de plaquetas ($p < 0.01$) es

mayor de manera significativa en el estadio FIGO IV con respecto a pacientes con etapas más tempranas (**Figura 15A**).

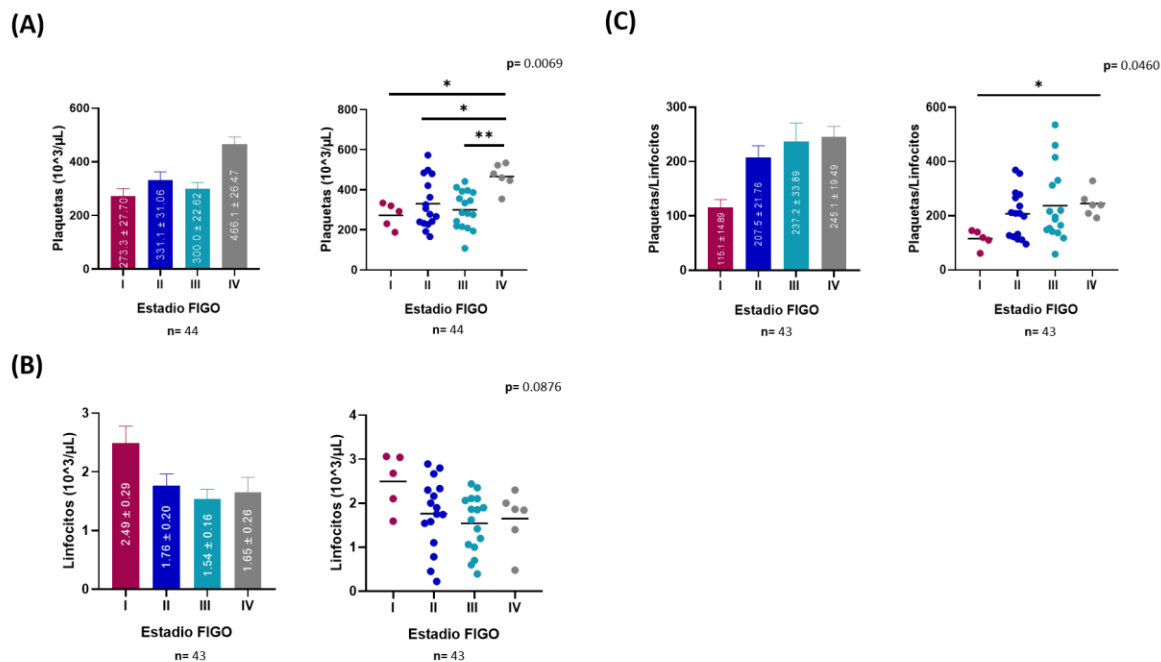


Figura 15. Relación de los niveles en sangre de plaquetas y linfocitos con los estadios FIGO de pacientes con CaCu

Evaluación de la asociación de los niveles en sangre de (A) plaquetas, (B) linfocitos, y (C) plaquetas/linfocitos con los estadios FIGO de pacientes con CaCu. Las comparaciones entre cuatro grupos de datos paramétricos se ejecutaron con la prueba de ANOVA de una vía con post hoc de Tukey-Kramer, y las de datos no paramétricos se realizaron con la prueba de Kruskal Wallis con post hoc de Dunn. Cada punto representa el dato de una paciente. Las barras se muestran como media \pm EEM.

En comparación con la etapa clínica I, los cambios del recuento de linfocitos de las etapas clínicas II, III, y IV mostraron una tendencia a la baja, pero no fueron significativos (**Figura 15B**). Los niveles en sangre de plaquetas/linfocitos son superiores y con significancia en pacientes con estadio IV en comparación con pacientes con estadio I ($p < 0.05$) (**Figura 15C**). No encontramos vínculos significantes de los estadios FIGO con el recuento de células sanguíneas e índices de inflamación restantes ([Tabla suplementaria S14](#)).

Después se decidió determinar si existía diferencia de los niveles en sangre de marcadores de anemia en relación con el estadio FIGO de pacientes con CaCu. En la **Figura 16A**, podemos apreciar que no se identificaron diferencias significativas entre el conteo de eritrocitos, y los estadios FIGO.

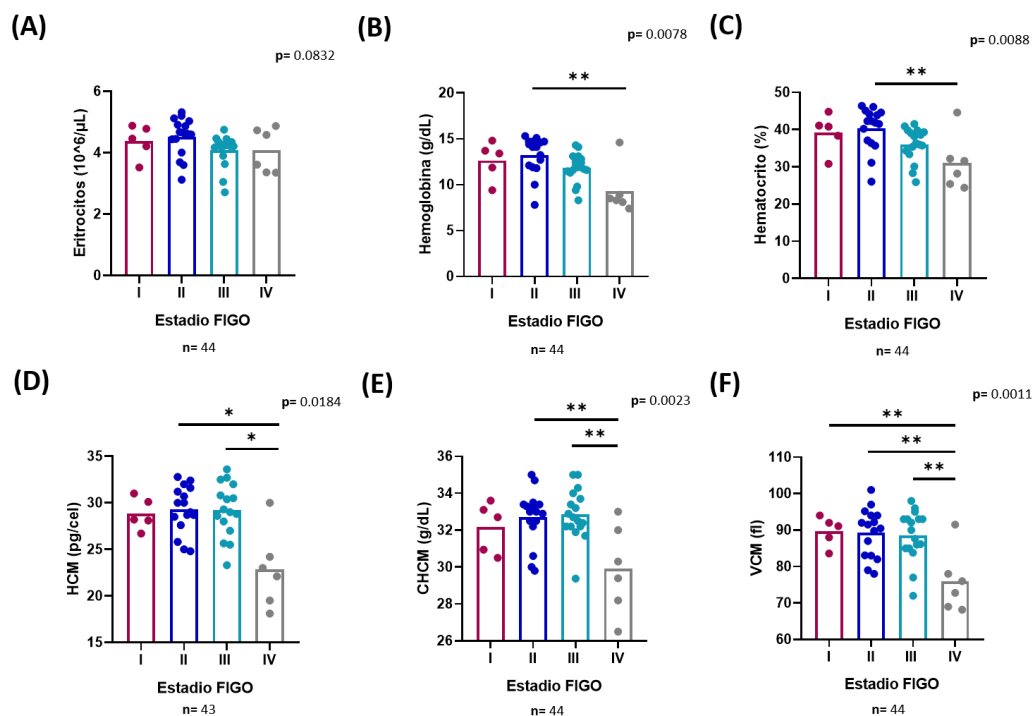


Figura 16. Relación de los niveles en sangre de marcadores de anemia con los estadios FIGO de pacientes con CaCu

Determinación de la asociación de los niveles en sangre de (A) eritrocitos, (B) hemoglobina, (C) hematocrito, (D) HCM, (E) CHCM, y (F) VCM con los estadios FIGO de pacientes con CaCu. Las comparaciones entre cuatro grupos de datos paramétricos se ejecutaron con la prueba de ANOVA de una vía con post hoc de Tukey-Kramer, y las de datos no paramétricos se realizaron con la prueba de Kruskal Wallis con post hoc de Dunn. Cada punto representa el dato de una paciente. **Abreviaturas.** VCM: Volumen celular medio. CHCM: Concentración de hemoglobina corpuscular media. HCM: Hemoglobina corpuscular media. RDW: Amplitud de distribución eritrocitaria.

La evaluación del resto de marcadores de anemia con el estadio FIGO reveló que existe un descenso significativo de los niveles de hemoglobina y hematocrito en pacientes estadio IV en comparación con pacientes estadio II ($p < 0,01$) (**Figuras 16B-C**). Como se muestra en

las **Figuras 16D-E**, se encontraron significativamente mayores niveles de HCM ($p < 0.05$), y CHCM ($p < 0.01$) en pacientes estadio IV que en pacientes con estadio II y III. Además, las pacientes estadio IV presentaron altos niveles de VCM con respecto a pacientes con etapas tumorales más tempranas ($p < 0.01$) (**Figura 16F**). No hallamos relaciones significantes entre la RDW y los estadios FIGO de las pacientes con CaCu ([Tabla suplementaria S14](#)).

Otra característica clínica de interés a valorar fue el tamaño tumoral, tomando en cuenta que las pacientes con tumores de cérvix >6 cm tienen una pobre supervivencia ([Kyung et al., 2015](#)). Las pacientes de este ensayo se dividieron en dos grupos de acuerdo con la dimensión mayor del tumor en el momento del diagnóstico, y utilizamos como punto de corte el valor de 6 cm. Luego exploramos si el número de células sanguíneas a nivel sistémico se asociaba con el tamaño de tumor de cérvix en las pacientes. Como se muestra en las **Figuras 17A-D**, los niveles en sangre de leucocitos, neutrófilos, monocitos, y eosinófilos son significativamente mayores en las pacientes con tumores de cérvix >6 cm en comparación con las pacientes con tumores de menor tamaño ($p < 0.05$).

En las **Figuras 17E-F**, se puede observar una tendencia al incremento de los valores medios de plaquetas ($375.6 \pm 47.65 \frac{\text{células} \cdot 10^3}{\mu\text{L}}$), y linfocitos ($2.12 \pm 0.33 \frac{\text{células} \cdot 10^3}{\mu\text{L}}$) en el grupo con tumores de cérvix >6 cm, con respecto a las pacientes con tumores ≤ 6 cm que presentaron menores valores promedio de plaquetas ($301.7 \pm 20.28 \frac{\text{células} \cdot 10^3}{\mu\text{L}}$), y linfocitos ($1.57 \pm 0.13 \frac{\text{células} \cdot 10^3}{\mu\text{L}}$). Sin embargo, no se apreció diferencia significativa entre ambos grupos.

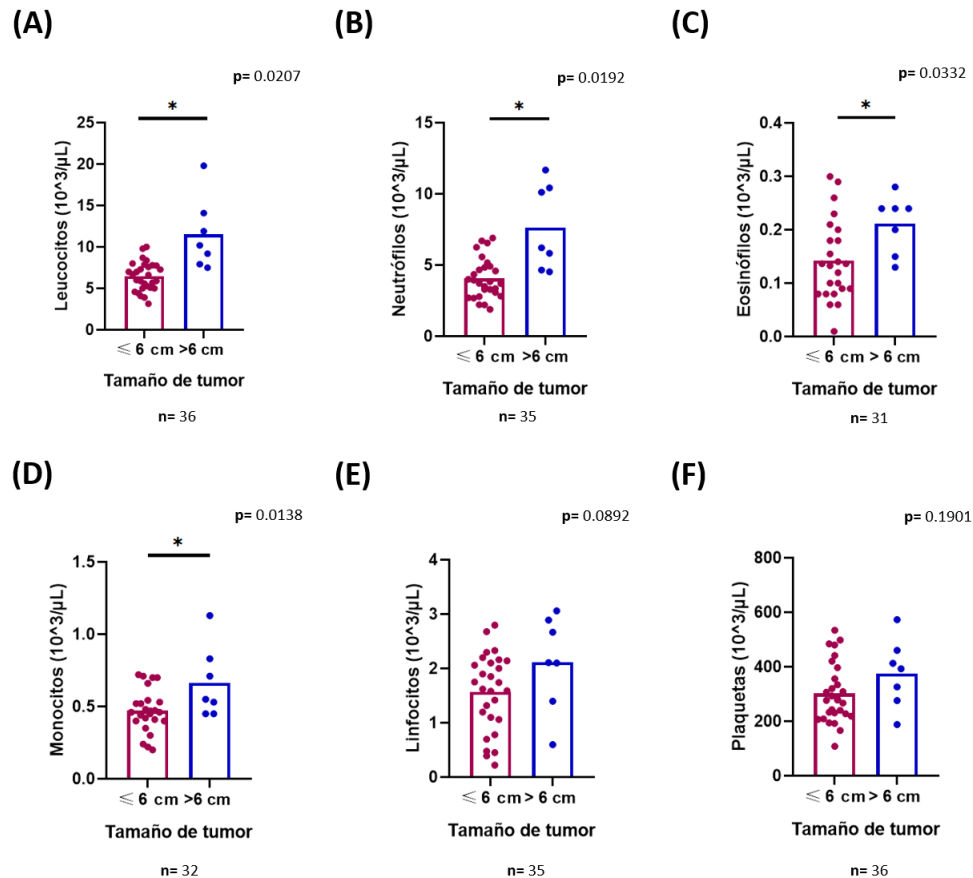


Figura 17. Relación de los niveles en sangre de leucocitos y plaquetas con el tamaño tumoral de pacientes con CaCu

Comparación de los niveles en sangre de (A) leucocitos, (B) neutrófilos, (C) eosinófilos, (D) monocitos, (E) linfocitos, y (F) plaquetas de pacientes con tumores de cérvix ≤ 6 cm y >6 cm. Los análisis comparativos de dos grupos de datos paramétricos para varianzas homogéneas se llevaron a cabo con la prueba t Student no pareada, y para varianzas heterogéneas con la prueba de t de Welch no pareada. Cada punto representa el dato de una paciente. **Abreviaturas.** ≤ 6 cm: Pacientes con tumores de cérvix ≤ 6 cm. >6 cm: Pacientes con tumores de cérvix >6 cm.

Posteriormente, se analizó si existían diferencias en los niveles de índices de inflamación con respecto al tamaño del tumor en pacientes con CaCu. Observamos un aumento significativo de los valores del índice de neutrófilos/plaquetas, y PIV en pacientes con tumores de cérvix >6 cm ($p < 0.05$) en comparación con el grupo de pacientes con tumores de cérvix ≤ 6 cm. Estos resultados se ilustran en las **Figuras 18A-B**.

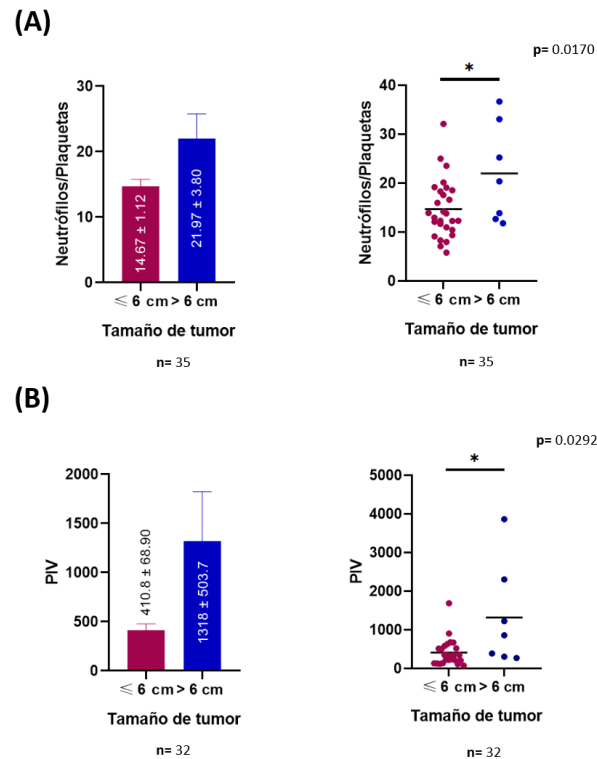


Figura 18. Relación de los niveles en sangre de neutrófilos/plaquetas, y PIV con el tamaño de tumor de pacientes con CaCu

Comparaciones de los niveles en sangre de **(A)** neutrófilos/plaquetas, y **(B)** PIV de pacientes con tumores de cérvix ≤ 6 cm y > 6 cm. Los análisis comparativos de los niveles en sangre de neutrófilos/plaquetas con varianzas homogéneas se llevaron a cabo con la prueba t Student no pareada. La comparación de los niveles en sangre de PIV entre los dos grupos se analizó con la prueba de U de Mann-Whitney no pareada. Cada punto representa el dato de una paciente. Las barras se muestran como media \pm EEM. **Abreviaturas.** ≤ 6 cm: Pacientes con tumores de cérvix ≤ 6 cm. > 6 cm: Pacientes con tumores de cérvix > 6 cm. PIV: Índice Pan-Inmuno-Inflamatorio [(Neutrófilos \cdot Plaquetas \cdot Monocitos) / (Linfocitos)].

Más adelante, buscamos dilucidar si los niveles en sangre de marcadores de anemia se asociaban con el tamaño del tumor de cérvix. Encontramos que el recuento de eritrocitos es menor en pacientes con tumores > 6 cm en comparación con los pacientes con tumores más pequeños. A pesar de esto, la relación entre las variables no alcanzó significación estadística **(Figura 19A)**. Como se ilustra en la **Figura 19B-C**, los niveles de hemoglobina ($p < 0.05$), y hematocrito ($p < 0.01$) son menores de manera estadísticamente significativa en pacientes con tumores > 6 cm con respecto a las pacientes con tumores de menor dimensión. No se

detectaron diferencias estadísticas de los marcadores restantes en relación con el tamaño tumoral en pacientes con CaCu ([Tabla suplementaria S15](#)).

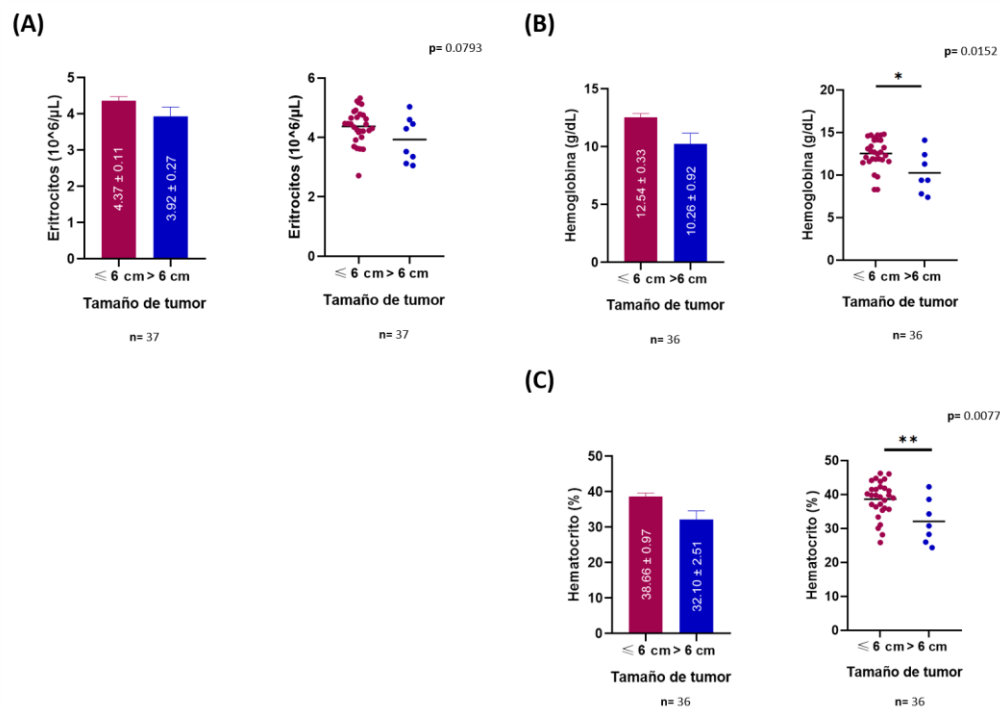


Figura 19. Relación de los niveles en sangre de eritrocitos, hemoglobina, y hematocrito con el tamaño tumoral de pacientes con CaCu

Comparación de los niveles en sangre de (A) eritrocitos, (B) hemoglobina, y (C) hematocrito de pacientes con tumores de cérvix ≤ 6 cm y > 6 cm. Los análisis comparativos de dos grupos de datos paramétricos para varianzas homogéneas se llevaron a cabo con la prueba t Student no pareada, y para varianzas heterogéneas con la prueba de t de Welch no pareada. Cada punto representa el dato de una paciente. Las barras se muestran como media \pm EEM. **Abreviaturas.** ≤ 6 cm: Pacientes con tumores de cérvix ≤ 6 cm. > 6 cm: Pacientes con tumores de cérvix > 6 cm.

Para el siguiente conjunto de análisis, evaluamos las características histopatológicas de tipo histológico, grado de diferenciación, y queratinización de tumores de cérvix. Para empezar, se examinó la relación entre los niveles en sangre de marcadores de anemia e inflamación, y el tipo histológico en pacientes con CaCu. Los tres tipos histológicos más frecuentes en CaCu son el carcinoma de células escamosas, adenocarcinoma, y adenoescamoso. La agresividad aumenta en orden secuencial, siendo el adenoescamoso el

tipo histológico de peor pronóstico (L. Cao et al., 2019). Las pacientes del ensayo se dividieron en estos tres grupos de acuerdo con el tipo histológico dictado en el diagnóstico. Es importante mencionar que el tipo histológico más frecuente es el carcinoma de células escamosas, y representa alrededor del 87 % de los casos diagnosticados en CaCu, por tal motivo en nuestra población se tuvo un mayor número de pacientes con este tipo tumoral.

Como se muestra en la **Figura 20A**, el recuento de eosinófilos en sangre es mayor con significancia en pacientes con carcinomas de células escamosas en comparación con pacientes con adenocarcinomas ($p < 0.05$). En la **Figura 20B** se puede apreciar una tendencia al alza del número de monocitos a través de los grupos de pacientes con tejidos de carcinomas de células escamosas (0.43 ± 0.04), adenocarcinomas ($0.50 \pm 0.08 \frac{\text{células} \cdot 10^3}{\mu\text{L}}$), y carcinomas adenoescamosos ($0.52 \pm 0.03 \frac{\text{células} \cdot 10^3}{\mu\text{L}}$). Los niveles en sangre de linfocitos muestran una tendencia a la disminución en el grupo de pacientes con carcinomas adenoescamosos ($2.25 \pm 0.25 \frac{\text{células} \cdot 10^3}{\mu\text{L}}$), seguido de pacientes con carcinomas de células escamosas ($1.77 \pm 0.12 \frac{\text{células} \cdot 10^3}{\mu\text{L}}$), y de pacientes con adenocarcinomas ($1.62 \pm 0.39 \frac{\text{células} \cdot 10^3}{\mu\text{L}}$) (**Figura 20C**). No obstante, en ambos análisis no hubo una diferencia significativa entre grupos.

Además, encontramos que las pacientes con carcinomas de células escamosas presentan mayores niveles del índice de monocitos/linfocitos con respecto a las pacientes con adenocarcinomas. Este análisis estadístico arrojó diferencia significativa con un valor $p < 0.01$ entre ambos grupos de pacientes (**Figura 20D**). No identificamos diferencias estadísticas de la relación entre los niveles en sangre de los marcadores restantes, y el tipo histológico en pacientes con CaCu ([Tabla suplementaria S16](#)).

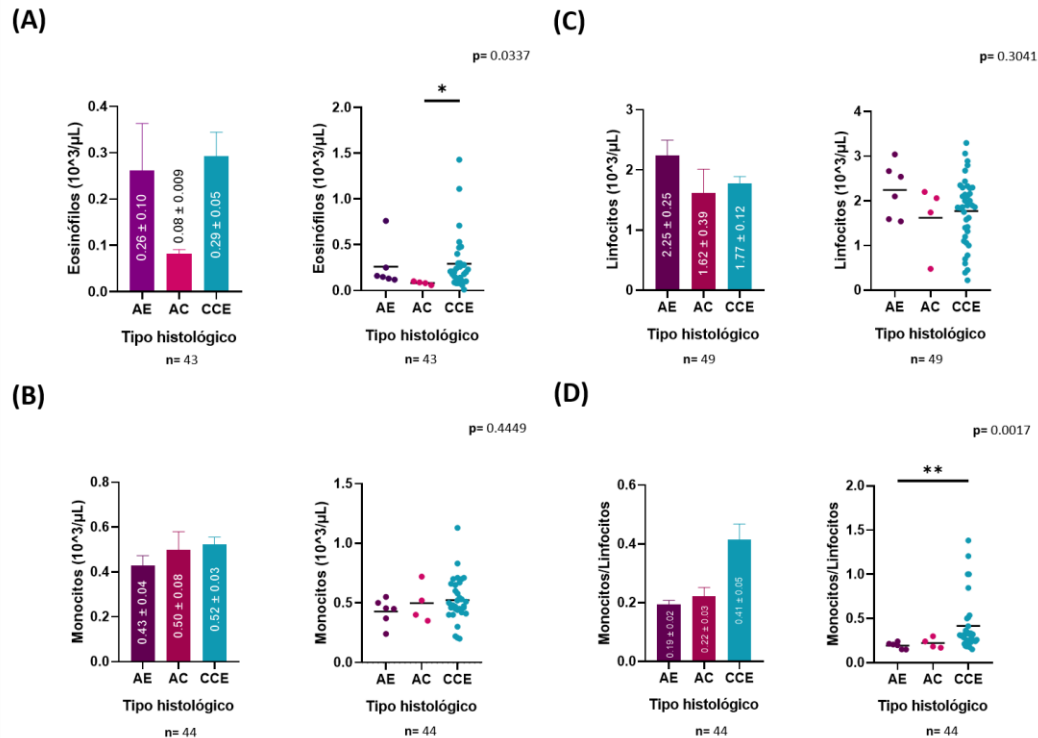


Figura 20. Relación de los niveles en sangre de eosinófilos, monocitos, y linfocitos con el tipo histológico de tumores en pacientes con CaCu

Determinación de la relación de los niveles en sangre de (A) eosinófilos, (B) monocitos, (C) linfocitos, y (D) monocitos/linfocitos con el tipo histológico en pacientes con CaCu. Las comparaciones entre tres grupos de datos paramétricos se ejecutaron con la prueba de ANOVA de una vía con post hoc de Tukey-Kramer, y las de datos no paramétricos se realizaron con la prueba de Kruskal Wallis con post hoc de Dunn. Las barras se muestran como media \pm EEM. Cada punto representa el dato de una paciente. **Abreviaturas.** AE: Pacientes con carcinoma adenoescamoso. AC: Pacientes con adenocarcinoma. CCE: Pacientes con carcinoma de células escamosas.

Luego nos interesó evaluar la asociación de los niveles en sangre de marcadores de anemia e inflamación con respecto al grado de diferenciación, considerando que la supervivencia de las pacientes es menor conforme disminuye la diferenciación del tumor de cérvix (Matsuo et al., 2018). En este análisis se incluyeron pacientes de los tres tipos histológicos evaluados. Las pacientes se dividieron en dos grupos según el grado de diferenciación tumoral en bien y moderadamente diferenciado, y pobremente diferenciado. Como se observa en la **Figura 21A**, las pacientes con tejidos tumorales de cérvix poco

diferenciados poseen mayores niveles con significancia del conteo de eosinófilos en sangre periférica con respecto a las pacientes con tejidos tumorales de cérvix con grados de diferenciación superiores ($p < 0.01$). Los resultados señalaron que los recuentos de linfocitos fueron más altos para el grupo de pacientes con tumores poco diferenciados en comparación con el grupo con tumores más diferenciados, pero no se encontraron diferencias estadísticas entre los grupos (**Figura 21B**).

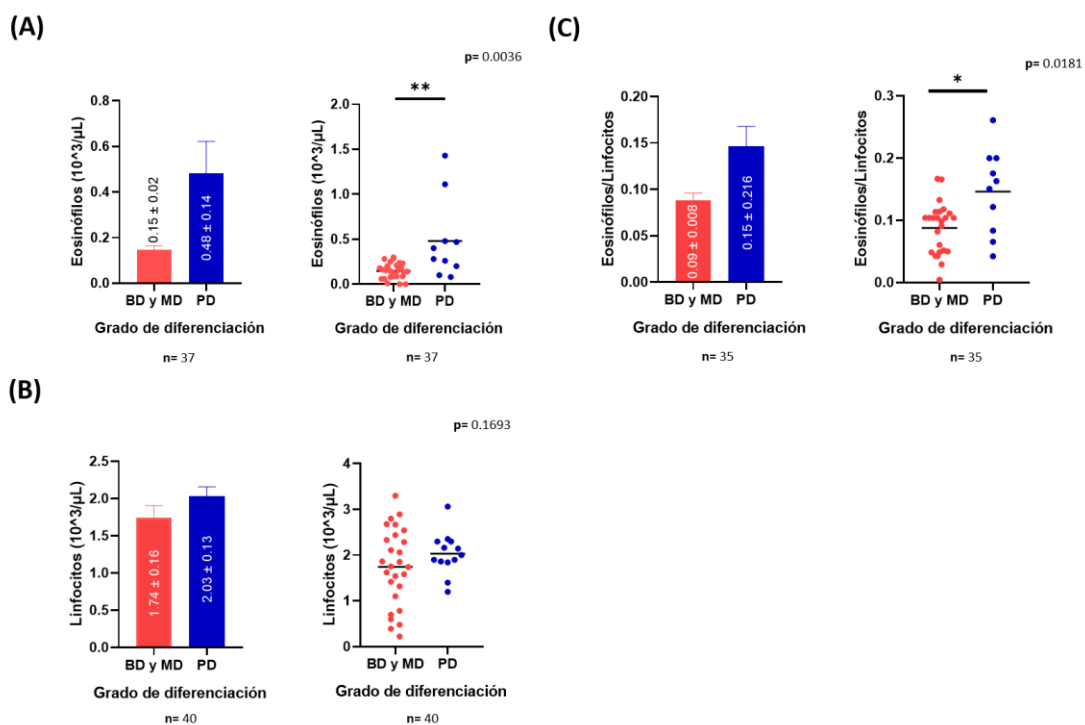


Figura 21. Relación de los niveles en sangre de eosinófilos y linfocitos con el grado de diferenciación tumoral en pacientes con CaCu

Asociación de los niveles en sangre de (A) eosinófilos, (B) linfocitos, y (C) eosinófilos/linfocitos con el grado de diferenciación de tumores en pacientes con CaCu. Las comparaciones entre dos grupos de datos paramétricos para varianzas homogéneas se llevaron a cabo con la prueba t Student no pareada, y para varianzas heterogéneas con la prueba de t de Welch no pareada. Las comparaciones de dos grupos de datos no paramétricos se analizaron con la prueba de U de Mann-Whitney no pareada. Cada punto representa el dato de una paciente. Las barras se muestran como media \pm EEM. **Abreviaturas.** BD y MD: Pacientes con tumores de cérvix bien y moderadamente diferenciados. PD: Pacientes con tejidos de cérvix pobremente diferenciados.

Las pacientes con tumores pobremente diferenciados mostraron significativamente mayores niveles de la relación de eosinófilos/linfocitos que las pacientes con tumores bien y moderadamente diferenciados ($p < 0.05$). El resultado de este análisis se ilustra en la **Figura 21C**. No se detectaron diferencias estadísticas en la evaluación de los 18 marcadores restantes con el grado de diferenciación tumoral en pacientes con CaCu ([Tabla suplementaria S17](#)).

A continuación, seleccionamos solo a las pacientes con tejidos de carcinoma de células escamosas para evaluar la queratinización, y los niveles en sangre de marcadores de anemia e inflamación. Este es otro factor histopatológico asociado con el pronóstico en CaCu. Las pacientes con tejidos tumorales queratinizantes se asocian con tasas más bajas de supervivencia en comparación con el grupo con tejidos tumorales no queratinizantes ([Sanjeev Kumar et al., 2009](#)). En este ensayo, las pacientes se dividieron en dos grupos de acuerdo con el grado de queratinización tumoral determinado en la evaluación anatomopatológica.

Los resultados manifiestan que los conteos de eosinófilos son mayores con significancia en pacientes con tumores queratinizantes que en pacientes con tumores no queratinizantes con un valor $p < 0.01$ (**Figura 22A**). Los niveles en sangre de linfocitos son más bajos en pacientes con tejidos tumorales queratinizantes con respecto a las pacientes con tejidos tumorales no queratinizantes. No obstante, la comparación no arrojó significancia estadística (**Figura 22B**). Como se muestra en la **Figura 22C**, existen diferencias estadísticas entre los niveles del índice de eosinófilos/linfocitos de pacientes con tumores no queratinizantes y queratinizantes. Las pacientes con tumores queratinizantes mostraron los niveles más altos de eosinófilos/linfocitos ($p < 0.001$). No se observaron diferencias

significativas entre los niveles en sangre de los marcadores restantes con el grado de queratinización de tumores de cérvix en pacientes ([Tabla suplementaria S18](#)).

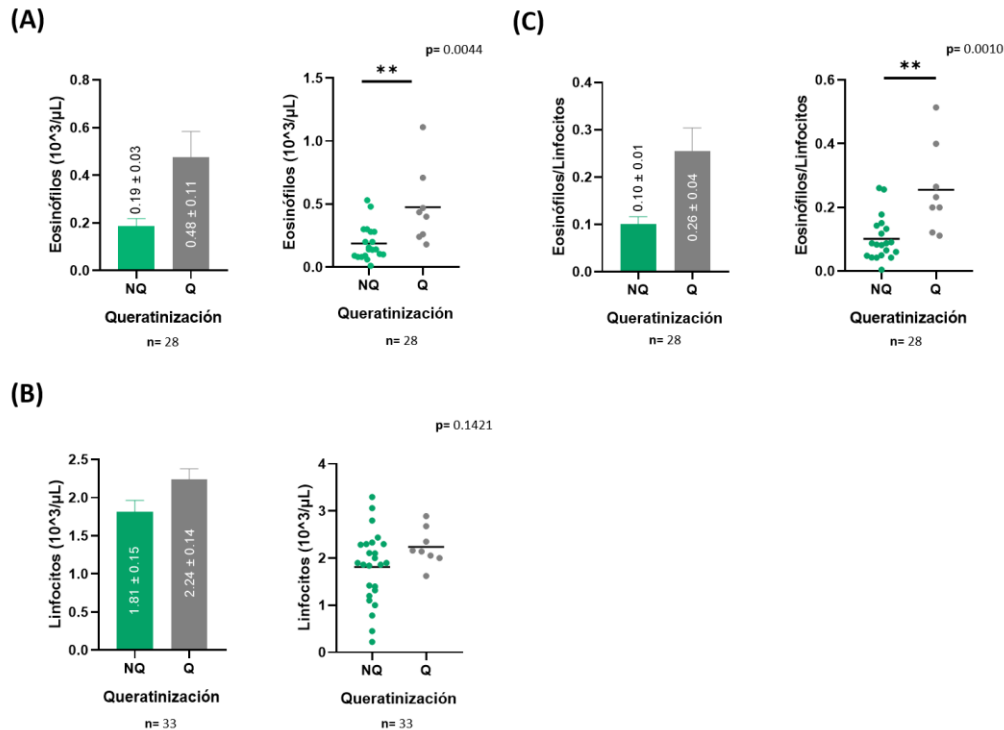


Figura 22. Relación de los niveles en sangre de eosinófilos y linfocitos con la queratinización tumoral en pacientes con CaCu

Evaluación de los niveles en sangre de (A) eosinófilos, (B) linfocitos, y (C) eosinófilos/linfocitos con la queratinización de tumores en pacientes con CaCu. Las comparaciones entre dos grupos de datos paramétricos para varianzas homogéneas se llevaron a cabo con la prueba t Student no pareada. Las comparaciones de dos grupos de datos no paramétricos se analizaron con la prueba de U de Mann-Whitney no pareada. Cada punto representa el dato de una paciente. Las barras se muestran como media \pm EEM. **Abreviaturas.** NQ: Pacientes con tumores de cérvix no queratinizantes. Q: Pacientes con tumores de cérvix queratinizantes.

EVALUACIÓN DE LA RELACIÓN DE LOS NIVELES SÉRICOS DE TIM-3 Y GAL-9 CON LAS CARACTERÍSTICAS CLÍNICO-HISTOPATOLÓGICAS DE PACIENTES CON CaCu

El ensayo pretendía comprobar si los niveles séricos de TIM-3 y Gal-9 se relacionaban con el estadio FIGO, tamaño de tumor, tipo histológico, grado de diferenciación, y queratinización en pacientes con CaCu. Para ello, realizamos 10 análisis de comparación. De estos, se seleccionaron las relaciones que mostraron diferencias significativas, y se sometieron a análisis de curvas ROC para valorar la especificidad de las relaciones identificadas entre los niveles de ambas proteínas séricas con los rasgos clínico-histopatológicos.

Primero probamos si los niveles séricos de Gal-9 se relacionaban con las características clínico-histopatológicas en pacientes con CaCu. Es importante mencionar que los niveles séricos de Gal-9 se transformaron logarítmicamente para cumplir con la distribución normal. Los resultados indicaron que los valores de $\log(\text{Gal-9})$ son mayores con significancia estadística en pacientes con tumores de cérvix >6 cm con respecto a pacientes con tumores de menor dimensión. Este análisis estadístico fue significativo con un valor $p < 0.01$ (**Figura 23A**). Las relaciones de los valores de $\log(\text{Gal-9})$ con las otras cuatro características clínico-histopatológicas no mostraron diferencias estadísticas con significancia ([Tabla suplementaria S19](#)).

Tras la confirmación de la relación de los valores de $\log(\text{Gal-9})$ y el tamaño de tumor en pacientes con CaCu, nos dimos a la tarea de evaluar la especificidad de esta asociación. El análisis de curva ROC de los valores de $\log(\text{Gal-9})$ se realizó utilizando como control a las pacientes con tumores ≤ 6 cm. Los resultados indicaron que los niveles séricos de Gal-9 muestran una buena capacidad discriminativa con valores de ABC de 0.87. Asimismo,

encontramos un intervalo de confianza al 95 % entre 0.71 a 1.00. Este estadístico reveló una calidad de modelo predictivo permisible (**Figura 23B**).

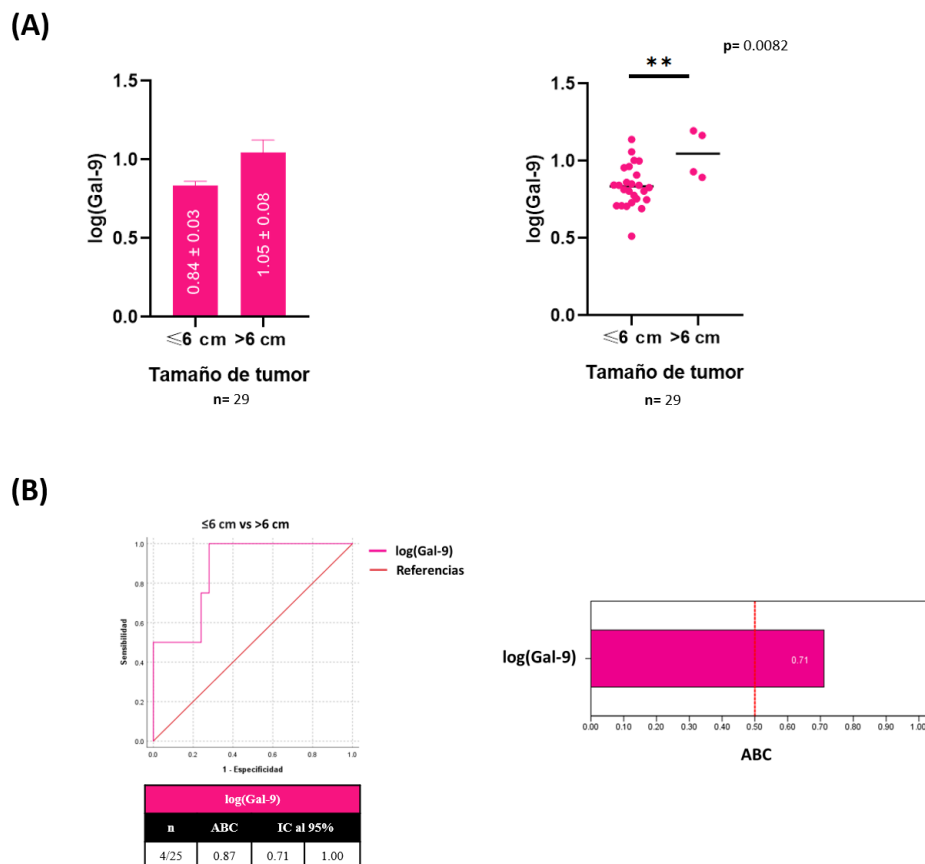


Figura 23. Niveles séricos de Gal-9 y su capacidad para discriminar entre pacientes con tumores de cérvix ≤ 6 cm y >6 cm

(A) Comparación de los niveles séricos de Gal-9 entre pacientes con tumores de cérvix ≤ 6 cm y >6 cm. **(B)** Curva ROC de los niveles séricos de Gal-9 de ambos grupos de pacientes, y gráfico de calidad de modelo predictivo. Este último, representa el valor de ABC del límite inferior de confianza al 95 % en la barra horizontal, y la línea roja indica el umbral de referencia. Las comparaciones entre grupos se realizaron con la prueba t de *Student* no pareada. Cada punto representa el dato de una paciente. Las barras verticales se muestran como media \pm EEM. **Abreviaturas.** ABC: Área bajo la curva. IC: Intervalo de confianza. ≤ 6 cm: Pacientes con tumores de cérvix ≤ 6 cm. >6 cm: Pacientes con tumores de cérvix. >6 cm. log(Gal-9): El logaritmo de los niveles séricos de Gal-9 en ng/mL.

El cálculo del índice J de Youden nos permitió conocer el valor umbral para distinguir entre ambos grupos de pacientes. Con un índice J de Youden de 0.720, el valor de corte fue ≥ 0.88 para log(Gal-9). Bajo este umbral de corte encontramos una sensibilidad del 100 %, y

una especificidad del 72 % (**Tabla 5**). Tomados en conjunto, los análisis demostraron que los niveles séricos de Gal-9 están elevados de manera significativa y específica en las pacientes con tumores de cérvix >6 cm.

Tabla 5. Parámetros de la curva ROC de los niveles séricos de Gal-9 en pacientes con tumores de cérvix ≤ 6 cm y >6 cm

Variable	Índice J	Punto de corte	Sensibilidad	Especificidad
<i>log(Gal-9)</i>	0.720	≥ 0.88	100 %	72 %

Luego probamos si existían asociaciones de los niveles séricos de TIM-3 con las características clínico-histopatológicas de los individuos con CaCu. Como se muestra en la **Figura 24A**, los niveles séricos de TIM-3 fueron menores de manera significativa en pacientes con tumores de cérvix queratinizantes con respecto a las pacientes con tumores de cérvix no queratinizantes ($p < 0.05$). Sin embargo, no encontramos diferencias con significancia en las relaciones entre los niveles séricos de TIM-3, y los valores de marcadores restantes en pacientes con CaCu ([Tabla suplementaria S20](#)).

Con el fin de evaluar la especificidad de la relación entre los niveles séricos de TIM-3 y la queratinización, se realizó un análisis de curva ROC utilizando como control a las pacientes con tumores de cérvix no queratinizantes. Este enfoque reveló una buena capacidad discriminativa con un valor de ABC de 0.87. Además, encontramos un intervalo de confianza al 95 % entre 0.68 a 1.00, que demuestra una calidad de modelo predictivo aceptable (**Figura 24B**).

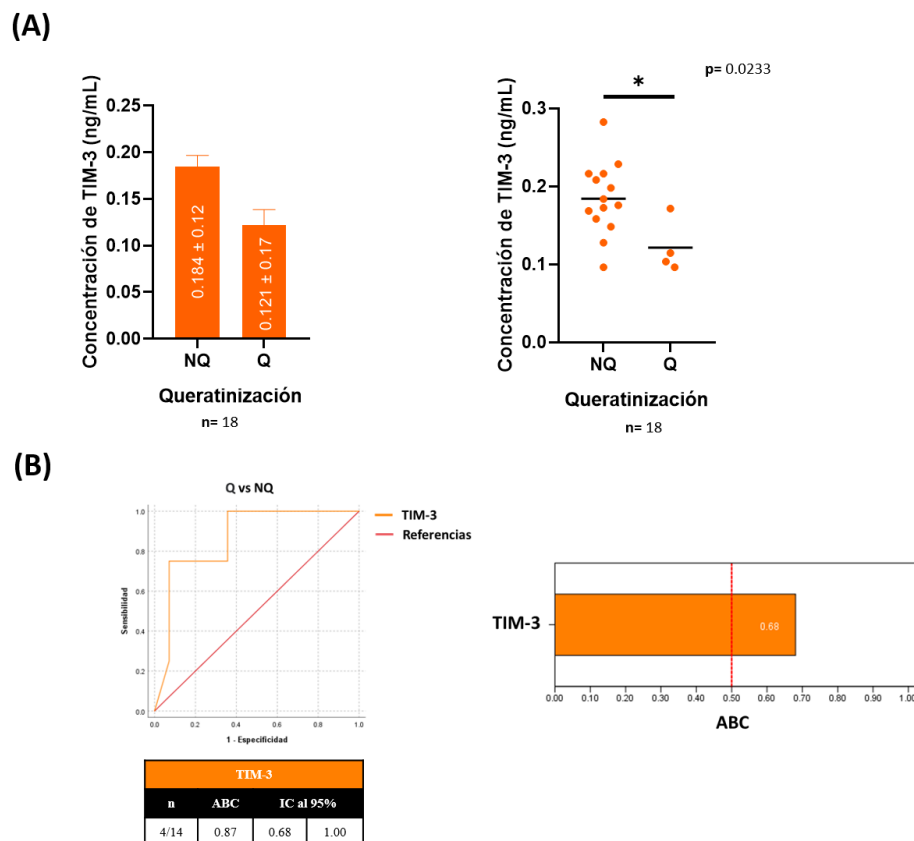


Figura 24. Niveles séricos de TIM-3 y su capacidad para discriminar entre pacientes con tumores de cérvix queratinizantes y no queratinizantes

(A) Comparación de los niveles séricos de TIM-3 entre pacientes con tumores de cérvix queratinizantes y no queratinizantes. (B) Curva ROC de los niveles séricos de TIM-3 entre pacientes con tumores de cérvix queratinizantes y no queratinizantes, y gráfico de calidad de modelo predictivo. Este último, representa el valor de ABC del límite inferior de confianza al 95 % en la barra horizontal, y la línea roja indica el umbral de referencia. Las comparaciones entre grupos se realizaron con la prueba U de Mann–Whitney no pareada. Cada punto representa el dato de una paciente. Las barras verticales se muestran como media \pm EEM. **Abreviaturas.** ABC: Área bajo la curva. IC: Intervalo de confianza. NQ: Pacientes con tumores de cérvix no queratinizantes. Q: Pacientes con tumores de cérvix queratinizantes.

Con el método J de Youden se obtuvo un valor de 0.679, y este permitió determinar el valor umbral entre grupos. Encontramos un valor de corte de $\leq 0.12 \frac{ng}{mL}$ de TIM-3 sérico con una sensibilidad del 75 %, y una especificidad del 92.9 % (Tabla 6). El análisis de curva ROC y sus parámetros revelaron que los niveles séricos de TIM-3 se encuentran incrementados de manera específica en pacientes con tumores de cérvix queratinizantes.

Tabla 6. Parámetros de la curva ROC de los niveles séricos de TIM-3 en pacientes con tumores de cérvix queratinizantes y no queratinizantes

Variable	Índice J	Punto de corte	Sensibilidad	Especificidad
<i>TIM-3 sérico</i>	0.679	$\leq 0.12 \frac{ng}{mL}$	75 %	92.9 %

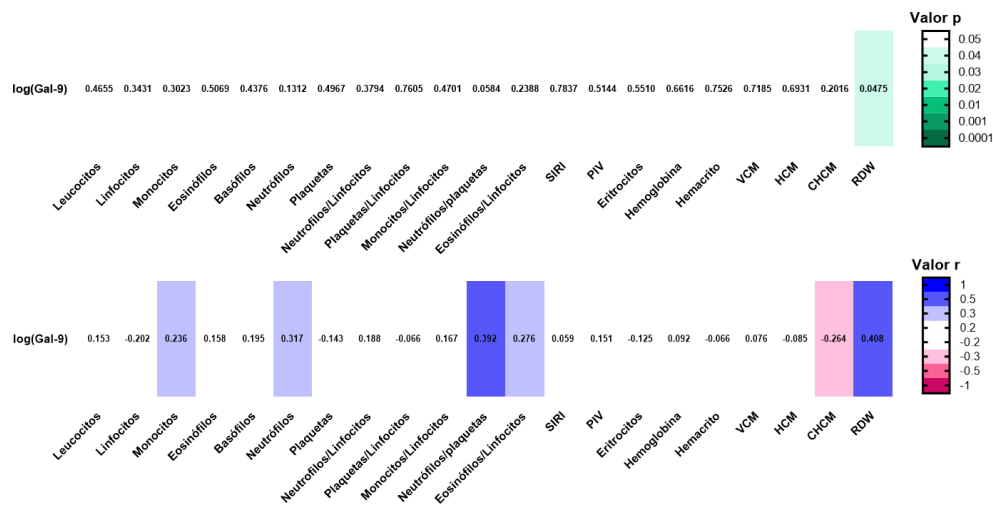
IDENTIFICACIÓN DE FIRMAS SANGUÍNEAS BASADAS EN TIM-3, GAL-9, Y MARCADORES DE ANEMIA E INFLAMACIÓN EN RELACIÓN CON LAS CARACTERÍSTICAS CLÍNICO-HISTOPATOLÓGICAS DE PACIENTES CON CaCu

El ensayo tuvo como objetivo identificar firmas sanguíneas basadas en TIM-3, Gal-9, y marcadores de anemia e inflamación en relación con las características clínico-histopatológicas de pacientes con CaCu. Para identificar las firmas sanguíneas se realizaron 84 análisis de correlación. Las relaciones recíprocas lineales de los niveles en sangre de marcadores de anemia e inflamación, y de Gal-9 se ejecutaron para cada subgrupo de acuerdo con el tamaño de tumor de cérvix. De manera similar, las correlaciones de los niveles de marcadores de anemia e inflamación, y de TIM-3 se llevaron a cabo para cada subgrupo según la queratinización del tejido tumoral de cérvix. La identificación de firmas sanguíneas se realizó con la finalidad de determinar los cambios hematológicos asociados con las características tumorales, y que a perspectiva esta información permita el diseño de nuevas estrategias inmunoterapéuticas para CaCu.

Comenzamos identificando las firmas sanguíneas basadas en las correlaciones entre los niveles en sangre de Gal-9, y de 21 marcadores de anemia e inflamación en pacientes según el tamaño del tumor de cérvix. Como se muestra en las **Figuras 25A-B**, en las pacientes con tumores ≤ 6 cm notamos una correlación positiva y media con significancia entre los valores

de $\log(\text{Gal-9})$, y la RDW ($r= 0.408$, $p < 0.05$). A diferencia de las pacientes con tumores de mayor tamaño cuya correlación no es significativa ($r= -0.236$, $p \geq 0.05$).

(A) ≤ 6 cm



(B) > 6 cm

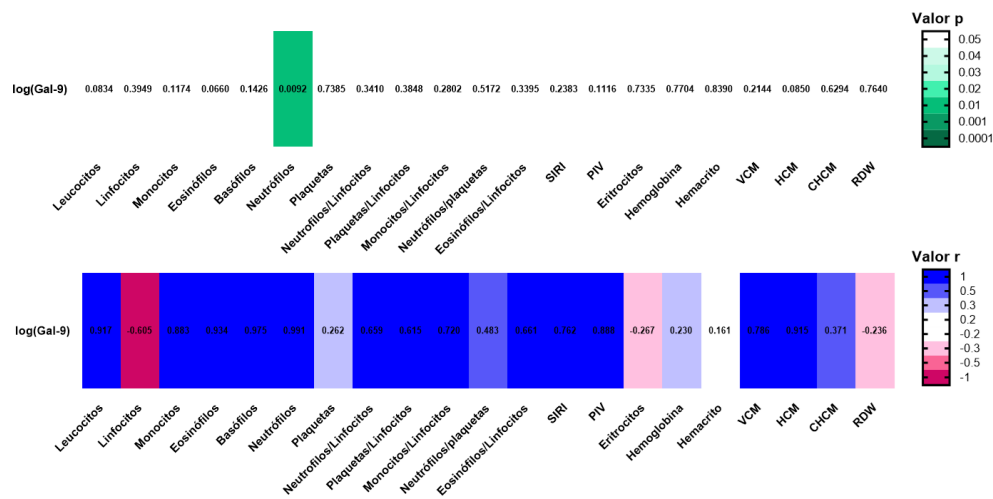


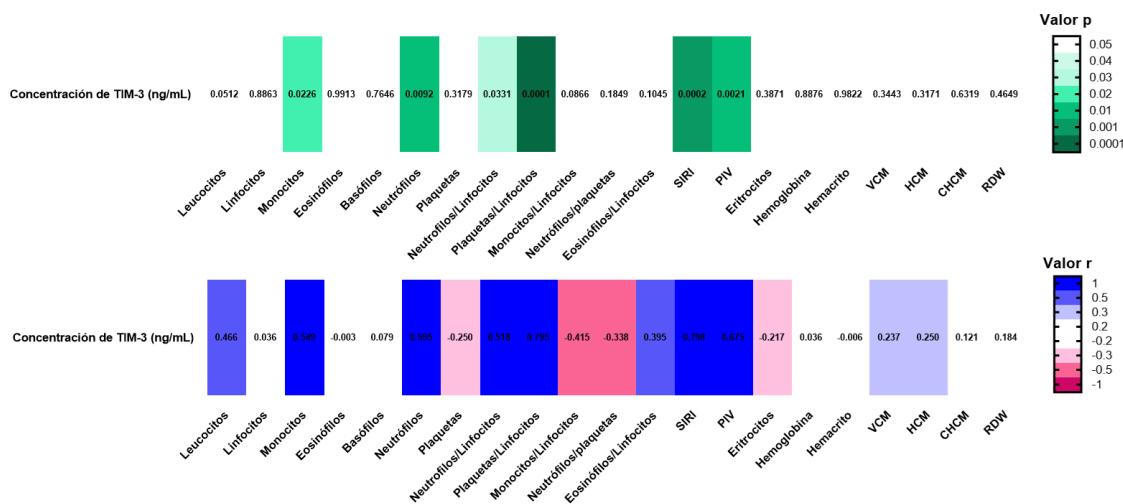
Figura 25. Firmas sanguíneas basadas en Gal-9, y marcadores de anemia e inflamación de pacientes con tumores de cervix ≤ 6 cm y > 6 cm

Mapas de calor de los valores de p y r resultantes de las correlaciones de los niveles en sangre de Gal-9, y de los marcadores de anemia e inflamación en pacientes con **(A)** tumores de cervix ≤ 6 cm, y **(B)** > 6 cm. Las correlaciones de datos paramétricos se realizaron con la prueba de Pearson, y los datos no paramétricos se procesaron con la prueba de Spearman. Los valores de p se representan en un gradiente de color verde. Los coeficientes de r dentro del intervalo -1 a +1 se exponen en un doble gradiente. Las correlaciones positivas se exhiben en azul, y las negativas en rojo. **Abreviaturas.** $\log(\text{Gal-9})$: El logaritmo de los niveles de Gal-9 séricos en ng/mL. ≤ 6 cm: Pacientes con tumores de cervix ≤ 6 cm. > 6 cm: Pacientes con tumores de cervix > 6 cm. RDW: Amplitud de distribución eritrocitaria. VCM: Volumen celular medio. HCM: Hemoglobina corpuscular media. CHCM: Concentración de hemoglobina corpuscular media. PIV: Índice Pan-Inmuno-Inflamatorio [(Neutrófilos \cdot Plaquetas \cdot Monocitos) / (Linfocitos)]. SIRI: Índice de Respuesta a la Inflamación sistémica [(Neutrófilos \cdot Plaquetas) / (Linfocitos)].

Como se muestra en las **Figuras 25A-B**, observamos que las pacientes con tumores >6 cm exhiben una relación lineal positiva y fuerte con significancia entre los valores de $\log(\text{Gal-9})$, y el número de neutrófilos ($r= 0.991$, $p < 0.01$). Por el contrario, las pacientes con tumores de menor tamaño no presentaron una correlación significativa de estas variables ($r= 0.317$, $p < 0.05$). No encontramos correlaciones con significancia de los niveles en sangre de Gal-9 con el resto de marcadores en pacientes con tumores ≤ 6 cm y > 6 cm ([Tablas suplementaria S21-22](#)).

Después exploramos si existían firmas sanguíneas basadas en los niveles en sangre de TIM-3, y de 21 marcadores de anemia e inflamación en relación con la queratinización de tumores en pacientes con CaCu. Como se aprecia en las **Figuras 26A-B**, las pacientes con tumores de cérvix no queratinizantes muestran un perfil sanguíneo conformado por correlaciones positivas y medias de los niveles de TIM-3 con los neutrófilos ($r= 0.595$, $p < 0.01$), y neutrófilos/linfocitos ($r= 0.518$, $p < 0.05$). Además, de correlaciones positivas y fuertes de los niveles de plaquetas/linfocitos ($r= 0.795$, $p < 0.0001$), y SIRI ($r= 0.798$, $p < 0.001$). En cambio, las pacientes con tumores de cérvix queratinizantes exhiben un perfil sanguíneo muy diferente al grupo con tumores de cérvix no queratinizantes. Detectamos correlaciones negativas y fuertes de los niveles de TIM-3, y de neutrófilos/plaquetas ($r= -0.976$, $p < 0.05$), hemoglobina ($r= -0.966$, $p < 0.05$), hematocrito ($r= -0.989$, $p < 0.05$), y HCM ($r= -0.998$, $p < 0.01$). En conjunto, estos hallazgos indican que existen perfiles sanguíneos diferenciales asociados con la queratinización de tumores de cérvix en las pacientes.

(A) NQ



(B) Q

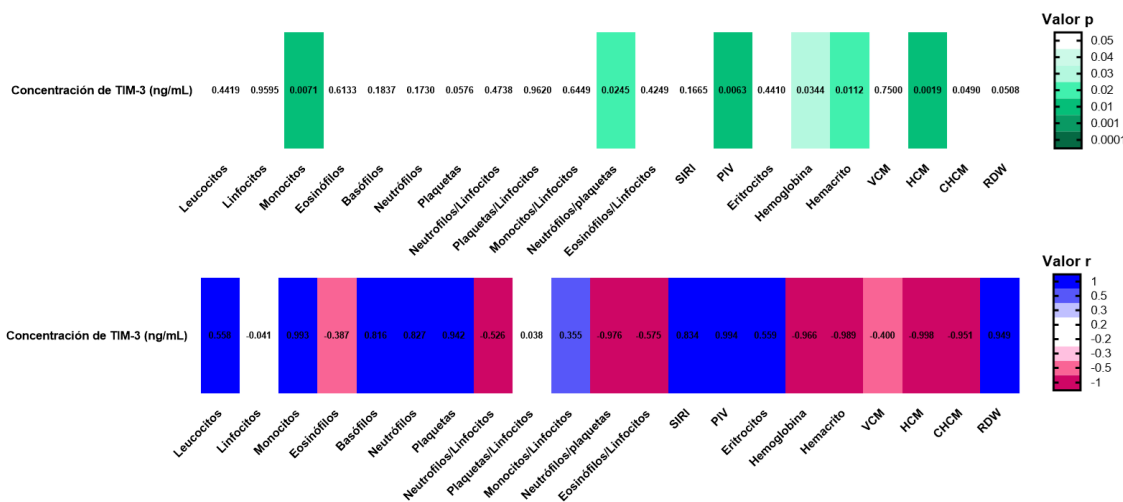


Figura 26. Firmas sanguíneas basadas en TIM-3 y marcadores de anemia e inflamación de pacientes con tumores de cérvix no queratinizantes y queratinizantes

Mapas de calor de los valores de p y r resultantes de las correlaciones de los niveles en sangre de TIM-3, y de los marcadores de anemia e inflamación de pacientes con tumores de cérvix (A) no queratinizantes, y (B) queratinizantes. Las correlaciones de datos paramétricos se realizaron con la prueba de Pearson, y los datos no paramétricos se procesaron con la prueba de Spearman. Los valores de p se representan en un gradiente de color verde. Los coeficientes de r dentro del intervalo -1 a +1 se exponen con un doble gradiente. Las correlaciones positivas se exhiben en azul, y las negativas en rojo. **Abreviaturas.** NQ: Pacientes con tumores de cérvix no queratinizantes. Q: Pacientes con tumores de cérvix queratinizantes. RDW: Amplitud de distribución eritrocitaria. VCM: Volumen celular medio. HCM: Hemoglobina corpuscular media. CHCM: Concentración de hemoglobina corpuscular media. PIV: Índice Pan-Inmuno-Inflamatorio [(Neutrófilos · Plaquetas · Monocitos) / (Linfocitos)]. SIRI: Índice de Respuesta a la Inflamación sistémica [(Neutrófilos · Plaquetas) / (Linfocitos)].

Interesantemente, nos percatamos que había correlaciones compartidas entre las pacientes con tumores de cérvix queratinizantes, y no queratinizantes. Al comparar las relaciones lineales entre los niveles en sangre de TIM-3, y monocitos notamos que las pacientes con tejidos tumorales no queratinizantes exhiben una correlación positiva y moderada con significancia ($r= 0.549$, $p <0.05$), y las pacientes con tejidos tumorales queratinizantes también muestran una correlación positiva, pero fuerte entre las variables ($r= 0.993$, $p <0.01$). De manera similar, encontramos correlaciones positivas entre los niveles en sangre de TIM-3, e índice de PIV en los grupos con tumores de cérvix no queratinizantes ($r= 0.675$, $p <0.01$) con fuerza media, y queratinizantes ($r= 0.994$, $p <0.01$) con fuerza alta. Todos estos resultados se muestran en las **Figuras 26A-B**. No se observaron correlaciones significativas entre los niveles en sangre de TIM-3, y los marcadores restantes ([Tablas suplementaria S23-24](#)).

EVALUACIÓN DE LA ASOCIACIÓN DE LOS NIVELES EN SANGRE DE ÍNDICES BASADOS EN TIM-3, GAL-9, Y MARCADORES DE ANEMIA E INFLAMACIÓN CON LAS CARACTERÍSTICAS CLÍNICO-HISTOPATOLÓGICAS DE PACIENTES CON CaCu

El ensayo tuvo como finalidad evaluar si los niveles en sangre de índices basados en TIM-3, Gal-9, y marcadores de anemia e inflamación se asocian con las características clínico-histopatológicas de pacientes con CaCu. Las proporciones se calcularon con la razón matemática entre los niveles en sangre de Gal-9, y de marcadores de anemia e inflamación para cada paciente. Los índices de Gal-9 resultantes se compararon entre los grupos con tumores de cérvix ≤ 6 cm y >6 cm. De manera similar, determinamos el cociente entre los niveles en sangre de TIM-3, y de marcadores de anemia e inflamación por individuo. Luego realizamos comparaciones de los índices de TIM-3 obtenidos entre las pacientes con tumores de cérvix queratinizantes y no queratinizantes. En ambos casos, ejecutamos análisis de curva ROC para valorar su especificidad. En conjunto, los 47 análisis se realizaron con la finalidad de que los nuevos índices propuestos brinden potenciales candidatos a biomarcadores de pronóstico para CaCu.

Primero intentamos comprender si los niveles en sangre de índices basados en Gal-9, y marcadores de inflamación se asociaban con el tamaño de tumor en pacientes con CaCu. La evaluación comparativa de los valores de $\log(\text{Gal-9})$ expuso mayores niveles con significancia en pacientes con tumores >6 cm en comparación con pacientes con tumores ≤ 6 cm ($p < 0.05$). Este resultado se ilustra en la **Figura 27A**. No hubo diferencias significativas de los niveles en sangre de índices basados en Gal-9, y los marcadores de inflamación restantes entre los dos grupos de pacientes ([Tabla suplementaria S25](#)).

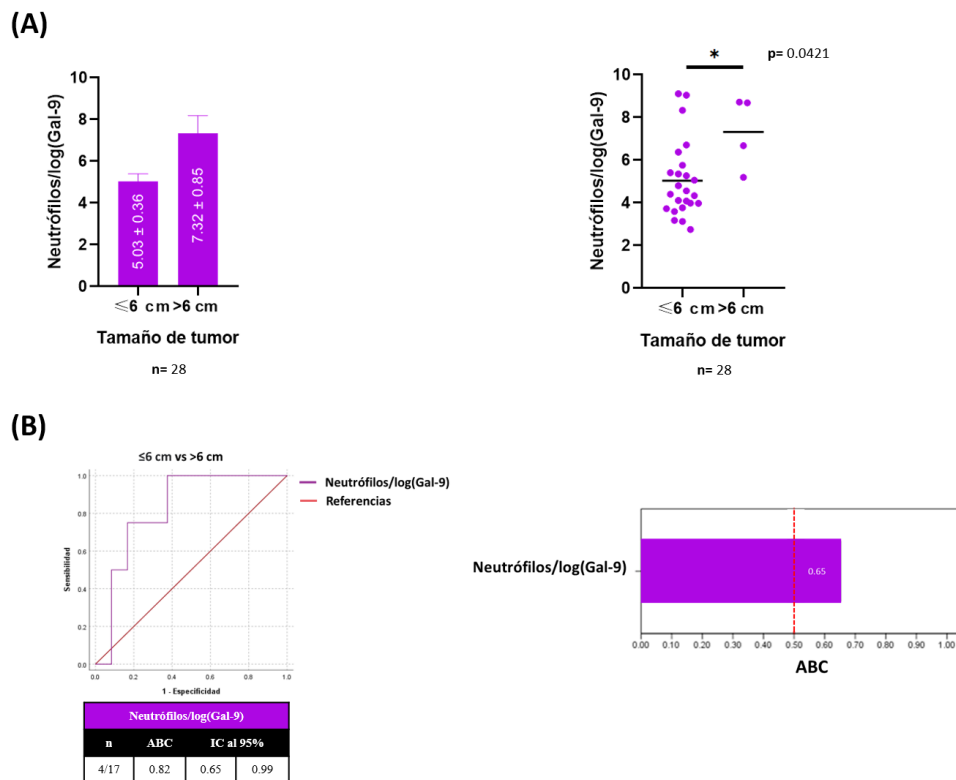


Figura 27. Niveles en sangre de neutrófilos/log(Gal-9), y su capacidad para discriminar entre pacientes con tumores de cérvix ≤ 6 cm y >6 cm

(A) Comparación de los niveles en sangre de neutrófilos/log(Gal-9) entre las pacientes con tumores de cérvix ≤ 6 cm y >6 cm. **(B)** Curva ROC de los niveles de neutrófilos/log(Gal-9) de ambos grupos de pacientes, y gráfico de calidad de modelo predictivo. Este último, representa el valor de ABC del límite inferior de confianza al 95 % en la barra horizontal, y la línea roja indica el umbral de referencia. Las comparaciones entre grupos se realizaron con la prueba U de *Mann-Whitney* no pareada. Cada punto representa el dato de una paciente. Las barras verticales se muestran como media \pm EEM. **Abreviaturas.** ABC: Área bajo la curva. IC: Intervalo de confianza. ≤ 6 cm: Pacientes con tumores de cérvix ≤ 6 cm. >6 cm: Pacientes con tumores de cérvix >6 cm.

Con el fin de validar la capacidad de discriminación de los niveles en sangre de neutrófilos/log(Gal-9), realizamos un análisis de curva ROC usando como grupo control a las pacientes con tumores ≤ 6 cm. El cálculo del ABC arrojó un valor de 0.82, y un intervalo inferior de confianza al 95 % de 0.65. Estos hallazgos confirman que el índice de neutrófilos/log(Gal-9) tiene un buen rendimiento discriminativo, y una calidad general de modelo admisible (**Figura 27B**).

Como se muestra en la **Tabla 7**, el índice J de Youden de 0.625 exhibió un punto de corte mayor o igual a $5.13 \frac{\text{células} \cdot 10^3}{\text{ng}}$ de neutrófilos/log(Gal-9). Bajo este umbral encontramos una sensibilidad del 100 %, y una especificidad del 62.5 %. Lo que comprueba que la eficacia del marcador es aceptable.

Tabla 7. Parámetros de la curva ROC de los niveles en sangre de neutrófilos/log(Gal-9) de pacientes con tumores de cérvix ≤ 6 cm y >6 cm

Variable	Índice J	Punto de corte	Sensibilidad	Especificidad
Neutrófilos/log(Gal-9)	0.625	$\geq 5.13 \frac{\text{células} \cdot 10^3}{\text{ng}}$	100 %	62.5 %

A continuación, pretendíamos hallar diferencias en los niveles en sangre de los índices basados en Gal-9, y marcadores de anemia entre pacientes con tumores de cérvix ≤ 6 cm y >6 cm. Encontramos que los niveles en sangre de eritrocitos/log(Gal-9) ($p < 0.05$), VCM/log(Gal-9) ($p < 0.05$), HCM/log(Gal-9) ($p < 0.05$), hemoglobina/log(Gal-9) ($p < 0.01$), hematocrito/log(Gal-9) ($p < 0.01$), y CHCM/log(Gal-9) ($p < 0.05$) fueron significativamente más bajos en pacientes con tumores de cérvix >6 cm que en individuos con tumores de menor dimensión (**Figuras 28A-F**). Por el contrario, los niveles en sangre de RDW/log(Gal-9) entre pacientes con tumores ≤ 6 cm y >6 cm no difieren de manera significativa ([Tabla suplementaria S25](#)).

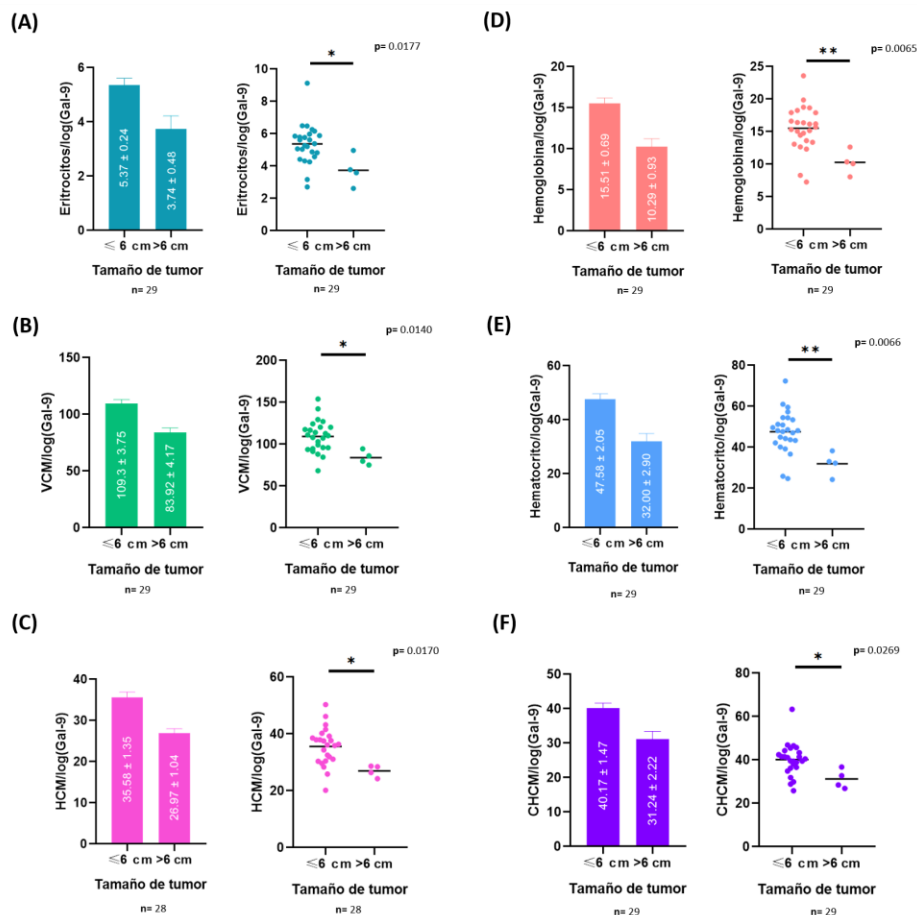


Figura 28. Niveles en sangre de los índices basados en Gal-9 y marcadores de anemia de pacientes con tumores de cérvix ≤ 6 cm y > 6 cm

Relación de los niveles en sangre de (A) eritrocitos/log(Gal-9), (B) VCM/log(Gal-9), (C) HCM/log(Gal-9), (D) hemoglobina/log(Gal-9), (E) hematocrito/log(Gal-9), y (F) CHCM/log(Gal-9) con el tamaño de tumor en pacientes con CaCu. Las comparaciones entre dos grupos de datos paramétricos para varianzas homogéneas se llevaron a cabo con la prueba t Student no pareada. Las comparaciones de dos grupos de datos no paramétricos se analizaron con la prueba de U de Mann-Whitney no pareada. Cada punto representa el dato de una paciente. Las barras se muestran como media \pm EEM. **Abreviaturas.** log(Gal-9): El logaritmo de los niveles de Gal-9 séricos en ng/mL. ≤ 6 cm: Pacientes con tumores de cérvix ≤ 6 cm. > 6 cm: Pacientes con tumores de cérvix > 6 cm. VCM: Volumen celular medio. HCM: Hemoglobina corpuscular media. CHCM: Concentración de hemoglobina corpuscular media.

El beneficio neto de los seis nuevos índices basados en Gal-9, y marcadores de anemia se determinó con un análisis de curva ROC. Para todos los casos del estudio, los valores de ABC de los índices de eritrocitos/log(Gal-9), VCM/log(Gal-9), HCM/log(Gal-9), hemoglobina/log(Gal-9), hematocrito/log(Gal-9), y CHCM/log(Gal-9) fueron 0.82, 0.86, 0.90, 0.88, 0.88, y 0.82, secuencialmente. Todos los índices evaluados mostraron una buena

capacidad discriminativa, y una calidad general de modelo predictivo permisible (**Figura 29A-B**). La vista individual de las curvas ROC de cada marcador se muestra en la [Figura S1](#).

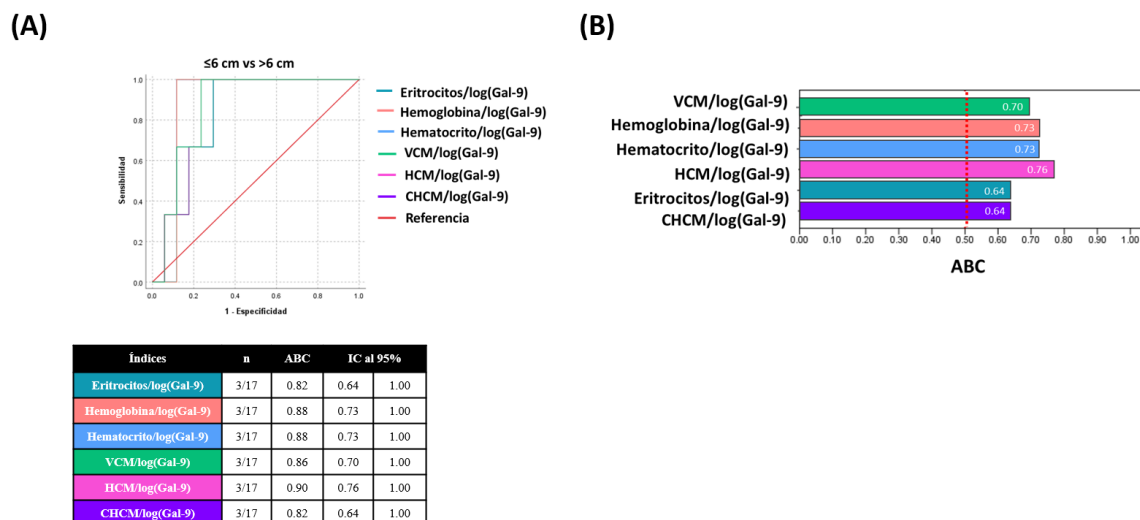


Figura 29. Capacidad de los niveles en sangre de eritrocitos/log(Gal-9), hemoglobina/log(Gal-9), hematocrito/log(Gal-9), VCM/log(Gal-9), HCM/log(Gal-9), y CHCM/log(Gal-9) para discriminar entre pacientes con tumores de cérvix ≤ 6 cm y > 6 cm

(A) Curva ROC múltiple de datos pareados basada en los niveles en sangre de eritrocitos/log(Gal-9), hemoglobina/log(Gal-9), hematocrito/log(Gal-9), VCM/log(Gal-9), HCM/log(Gal-9), y CHCM/log(Gal-9) de pacientes con tumores de cérvix ≤ 6 cm y > 6 cm. (B) Gráfico de la calidad de los modelos predictivos. Estos representan los valores de ABC del límite inferior de confianza al 95 % en las barras horizontales, y la línea roja indica el umbral de referencia. **Abreviaturas.** ABC: Área bajo la curva. IC: Intervalo de confianza. log(Gal-9): El logaritmo de los niveles de Gal-9 séricos en ng/mL. ≤ 6 cm: Pacientes con tumores de cérvix ≤ 6 cm. > 6 cm: Pacientes con tumores de cérvix > 6 cm. VCM: Volumen celular medio. HCM: Hemoglobina corpuscular media. CHCM: Concentración de hemoglobina corpuscular media.

Como se muestra en la **Tabla 8**, calculamos el índice J de Youden para determinar la capacidad total y puntos de corte de los índices basados en Gal-9, y de los marcadores de anemia. Es importante recordar que entre mayor sea el valor del estadístico J, mejor será el poder predictivo del marcador. Los índices J de Youden de HCM/log(Gal-9), hematocrito/log(Gal-9), y hemoglobina/log(Gal-9) fueron los más altos, con valores de 0.882. En cambio, los índices de eritrocitos/log(Gal-9), y CHCM/log(Gal-9) arrojaron los más bajos, con cifras de 0.706. No obstante, los seis índices basados en Gal-9, y marcadores de anemia mostraron una buena eficiencia. De este grupo, los índices de HCM/log(Gal-9),

hematocrito/log(Gal-9), y hemoglobina/log(Gal-9) poseen los mejores rendimientos predictivos. Bajo los puntos de corte mostrados en la **Tabla 8**, estos tres índices arrojaron una sensibilidad del 100 %, y una especificidad del 88.2 %.

Tabla 8. *Parámetros de las curvas ROC de los niveles en sangre de índices basados en Gal-9 y marcadores de anemia de pacientes con tumores de cérvix ≤6 cm y >6 cm*

Índices de Gal-9	Índice J	Punto de corte	Sensibilidad	Especificidad
<i>Eritrocitos/log(Gal-9)</i>	0.706	$\leq 5.01 \frac{\text{Células} \cdot 10^6}{\text{ng}}$	100 %	70.6 %
<i>Hemoglobina/log(Gal-9)</i>	0.882	$\leq 12.86 \frac{\text{(g/dL)}}{\text{(ng/mL)}}$	100 %	88.2 %
<i>Hematocrito/log(Gal-9)</i>	0.882	$\leq 39.26 \frac{\%}{\text{(ng/mL)}}$	100 %	88.2 %
<i>VCM/log(Gal-9)</i>	0.765	$\leq 95.27 \frac{\text{ft}}{\text{(ng/mL)}}$	100 %	76.5 %
<i>HCM/log(Gal-9)</i>	0.882	$\leq 29.52 \frac{\text{pg}}{\text{(ng/mL)}}$	100 %	88.2 %
<i>CHCM/log(Gal-9)</i>	0.706	$\leq 37.82 \frac{\text{g}}{\text{(ng/mL)}}$	100 %	70.6 %

Posteriormente, queríamos entender si los niveles en sangre de índices basados en TIM-3 y marcadores de inflamación se asociaban con la queratinización de tumores de cérvix. Es de destacar que los niveles en sangre de leucocitos/TIM-3 ($p < 0.001$), linfocitos/TIM-3 ($p < 0.01$), neutrófilos/TIM-3 ($p < 0.01$), basófilos/TIM-3 ($p < 0.01$), monocitos/TIM-3 ($p < 0.01$), y plaquetas/TIM-3 ($p < 0.05$) en pacientes con tejidos tumorales de cérvix queratinizantes fueron comparativamente mayores que en el grupo con tejidos tumorales no queratinizantes (**Figuras 30A-F**). El cotejo de los niveles en sangre de eosinófilos/TIM-3 no mostró diferencia estadísticamente significativa entre grupos ([Tabla suplementaria S26](#)).

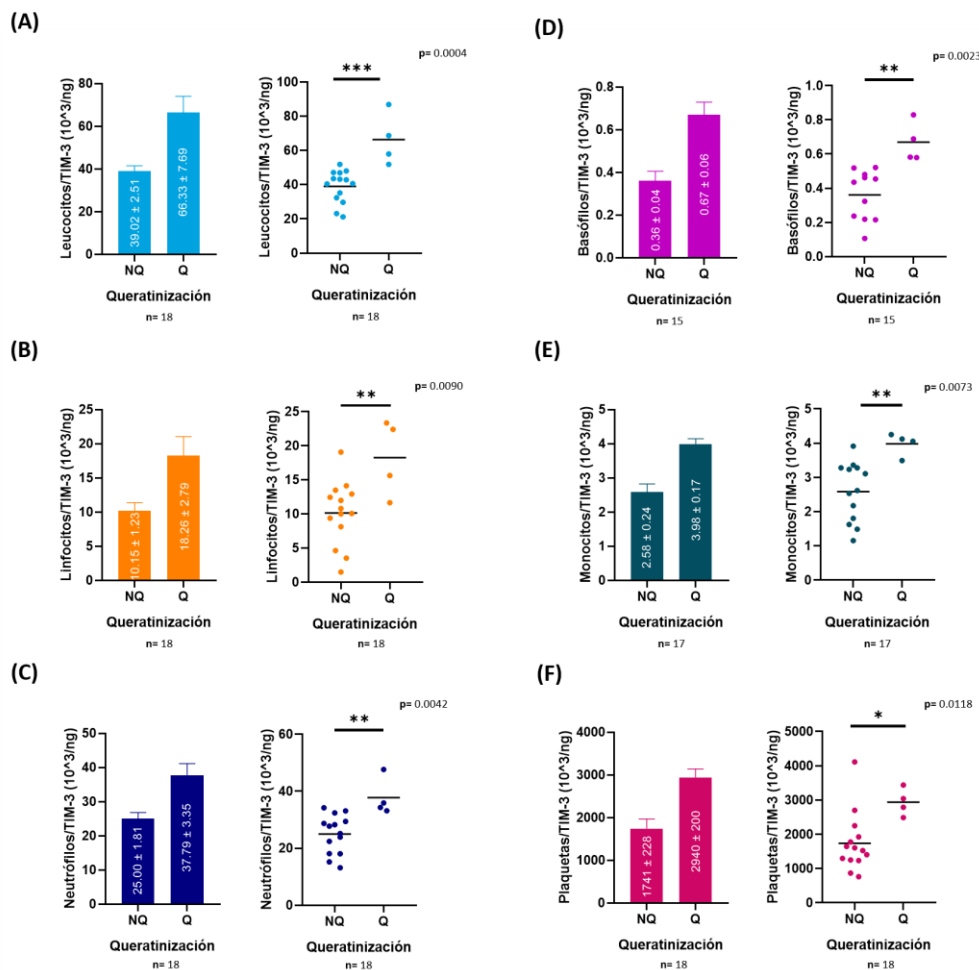


Figura 30. Niveles en sangre de los índices basados en TIM-3 y marcadores de inflamación de pacientes con tumores de cérvix queratinizantes, y no queratinizantes

Relación de los niveles en sangre de (A) leucocitos/TIM-3, (B) linfocitos/TIM-3, (C) neutrófilos/TIM-3, (D) basófilos/TIM-3, (E) monocitos/TIM-3, y (F) plaquetas/TIM-3 con la queratinización de tumores en pacientes con CaCu. Las comparaciones entre dos grupos de datos paramétricos para varianzas homogéneas se llevaron a cabo con la prueba t Student no pareada. Las comparaciones de dos grupos de datos no paramétricos se analizaron con la prueba de U de Mann-Whitney no pareada. Cada punto representa el dato de una paciente. Las barras se muestran como media ± EEM. **Abreviaturas.** NQ: Pacientes con tumores de cérvix no queratinizantes. Q: Pacientes con tumores de cérvix queratinizantes.

Para evaluar el rendimiento discriminativo entre grupos de los índices basados en TIM-3, y marcadores de inflamación empleamos análisis de curva ROC usando como control a las pacientes con tumores de cérvix no queratinizantes. Los niveles en sangre de leucocitos/TIM-3, linfocitos/TIM-3, monocitos/TIM-3, neutrófilos/TIM-3, basófilos/TIM-3, y plaquetas/TIM-3 presentaron respectivamente valores de ABC de 0.98, 0.91, 0.98, 0.98, 1.00,

y 0.91. Esto reveló que los seis marcadores examinados poseen un buen poder discriminativo, y una calidad óptima de modelo predictivo (**Figuras 31A-B**). La vista individual de las curvas ROC de cada marcador se muestra en la [Figura S2](#).

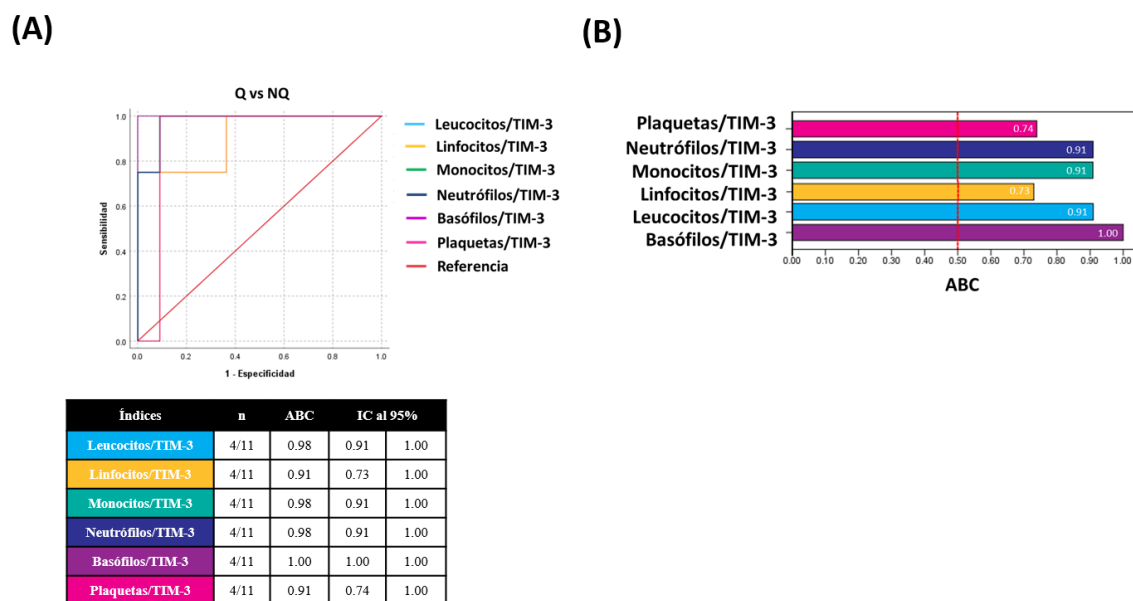


Figura 31. Capacidad de los niveles en sangre de leucocitos/TIM-3, linfocitos/TIM-3, neutrófilos/TIM-3, basófilos/TIM-3, monocitos/TIM-3, y plaquetas/TIM-3 para discriminar entre pacientes con tumores de cérvix queratinizantes y no queratinizantes

(A) Curva ROC múltiple de datos pareados basada en los niveles en sangre de leucocitos/TIM-3, linfocitos/TIM-3, neutrófilos/TIM-3, basófilos/TIM-3, monocitos/TIM-3, y plaquetas/TIM-3 de pacientes con tumores de cérvix queratinizantes y no queratinizantes. (B) Gráfico de la calidad de los modelos predictivos. Estos representan los valores de ABC del límite inferior de confianza al 95 % en las barras horizontales, y la línea roja indica el umbral de referencia. **Abreviaturas.** ABC: Área bajo la curva. IC: Intervalo de confianza. NQ: Pacientes con tumores de cérvix no queratinizantes. Q: Pacientes con tumores de cérvix queratinizantes.

Con el fin de determinar la eficiencia y punto de corte de los índices basados en los niveles en sangre de TIM-3 y células circulatorias se utilizó el método de J de Youden. Los estadísticos J, puntos de corte, sensibilidad, y especificidad de los niveles en sangre de leucocitos/TIM-3, linfocitos/TIM-3, monocitos/TIM-3, neutrófilos/TIM-3, basófilos/TIM-3, y plaquetas/TIM-3, se muestran en la **Tabla 9**. Los seis marcadores mostraron un buen rendimiento. Sin embargo, el índice de basófilos/TIM-3 devolvió la mejor capacidad

discriminativa de este conjunto. El valor umbral igual o mayor a $0.55 \frac{\text{células} \cdot 10^3}{\text{ng}}$ de basófilos/TIM-3 manifiesta una sensibilidad, y especificidad del 100 %.

Tabla 9. Parámetros de las curvas ROC de los niveles en sangre de índices basados en TIM-3, y marcadores de inflamación de pacientes con tumores de cérvix queratinizantes y no queratinizantes

Índices de TIM-3	Índice J	Punto de corte	Sensibilidad	Especificidad
<i>Leucocitos/TIM-3</i>	0.909	$\geq 49.92 \frac{\text{células} \cdot 10^3}{\text{ng}}$	100 %	90.9 %
<i>Linfocitos/TIM-3</i>	0.750	$\geq 14.89 \frac{\text{células} \cdot 10^3}{\text{ng}}$	75 %	100 %
<i>Monocitos/TIM-3</i>	0.909	$\geq 3.43 \frac{\text{células} \cdot 10^3}{\text{ng}}$	100 %	90.9 %
<i>Neutrófilos/TIM-3</i>	0.909	$\geq 33.16 \frac{\text{células} \cdot 10^3}{\text{ng}}$	100 %	90.9 %
<i>Basófilos/TIM-3</i>	1.00	$\geq 0.55 \frac{\text{células} \cdot 10^3}{\text{ng}}$	100 %	100 %
<i>Plaquetas/TIM-3</i>	0.909	$\geq 2369.80 \frac{\text{células} \cdot 10^3}{\text{ng}}$	100 %	90.9 %

En seguida, nos interesó demostrar si los índices basados en TIM-3, y marcadores de anemia se vinculaban con la queratinización de tumores en pacientes con CaCu. En comparación con las pacientes con tumores no queratinizantes, las pacientes con tumores queratinizantes exhiben significativamente más altos niveles en sangre de los índices de eritrocitos/TIM-3 ($p < 0.01$), hemoglobina/TIM-3 ($p < 0.05$), hematocrito/TIM-3 ($p < 0.01$), VCM/TIM-3 ($p < 0.01$), CHCM/TIM-3 ($p < 0.05$), y RDW/TIM-3 ($p < 0.01$) (**Figuras 32A-F**). Entre los índices evaluados, solo los niveles en sangre de HCM/TIM-3 no arrojaron una asociación significativa con la queratinización de tumores de cérvix en las pacientes ([Tabla suplementaria S26](#)).

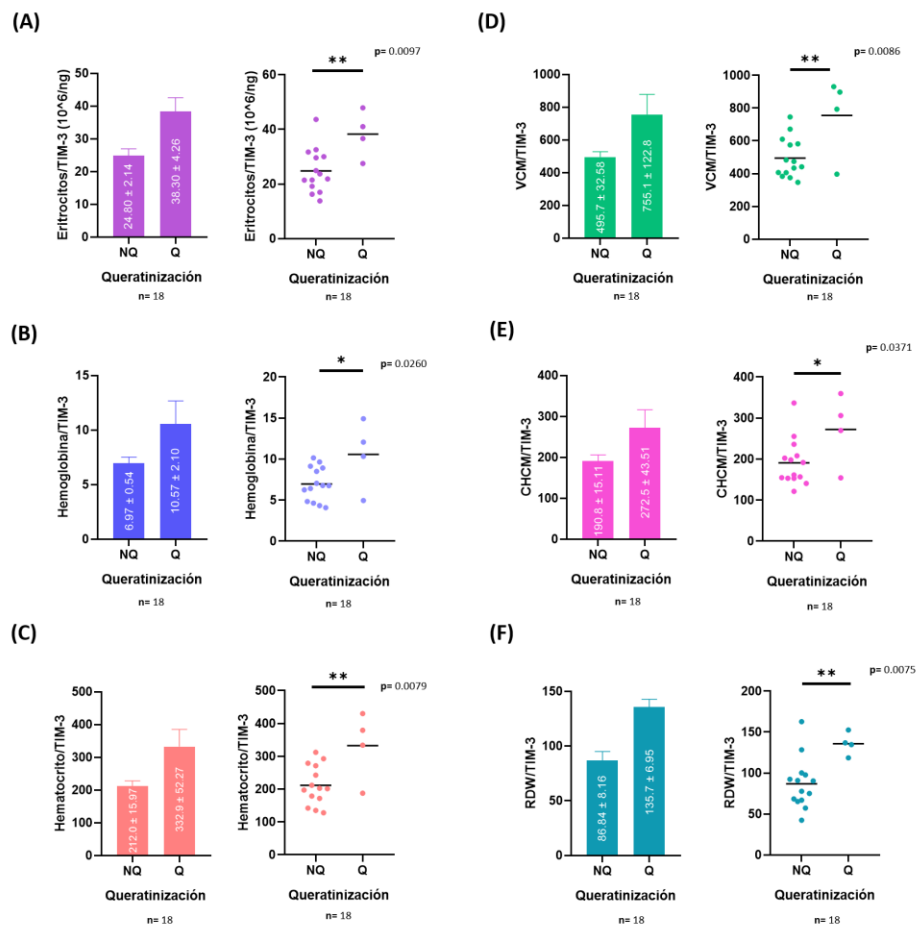


Figura 32. Niveles en sangre de índices basados en TIM-3 y marcadores de anemia de pacientes con tumores de cérvix queratinizantes y no queratinizantes

Relación de los niveles en sangre de (A) eritrocitos/TIM-3, (B) hemoglobina/TIM-3, (C) hematocrito/TIM-3, (D) VCM/TIM-3, (E) CHCM/TIM-3, y (F) RDW/TIM-3 con la queratinización de tumores en pacientes con CaCu. Las comparaciones entre dos grupos de datos paramétricos para varianzas homogéneas se llevaron a cabo con la prueba t Student no pareada. Cada punto representa el dato de una paciente. Las barras se muestran como media \pm EEM. **Abreviaturas.** NQ: Pacientes con tumores de cérvix no queratinizantes. Q: Pacientes con tumores de cérvix queratinizantes. VCM: Volumen celular medio. CHCM: Concentración de hemoglobina corpuscular media.

A fin de evaluar la capacidad discriminativa trazamos curvas ROC de los índices basados en TIM-3, y marcadores de anemia. Los resultados arrojaron valores de ABC de 0.88, 0.82, 0.84, 0.80, 0.79, y 0.91 para los índices de eritrocitos/TIM-3, hemoglobina/TIM-3, hematocrito/TIM-3, VCM/TIM-3, CHCM/TIM-3, y VCM/TIM-3, respectivamente. Los seis índices mostraron un buen rendimiento para discriminar entre grupos. En cuanto a la

calidad del modelo predictivo, la mayoría de los marcadores mostraron una calidad aceptable, pero los índices VCM/TIM-3, y CHCM/TIM-3 exhiben una calidad deficiente (**Figuras 33A-B**). La vista individual de las curvas ROC de cada marcador se muestra en la [Figura S3](#).

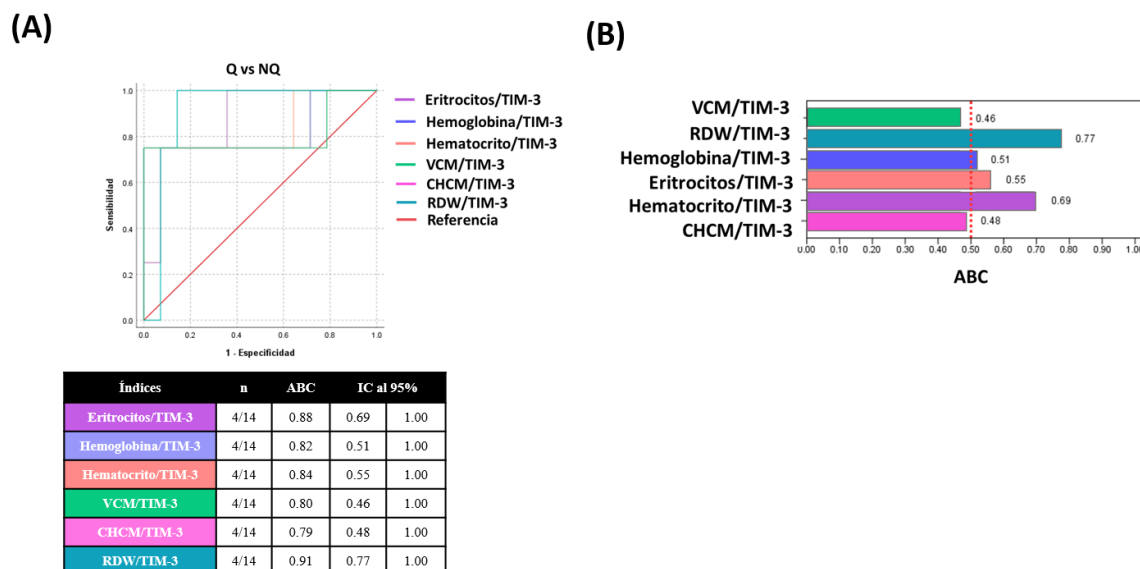


Figura 33. Capacidad de los niveles en sangre de eritrocitos/TIM-3, hemoglobina/TIM-3, hematocrito/TIM-3, VCM/TIM-3, CHCM/TIM-3, y RDW/TIM-3 para discriminar entre pacientes con tumores de cérvix queratinizantes y no queratinizantes

(A) Curva ROC múltiple de datos pareados basada en los niveles en sangre de eritrocitos/TIM-3, hemoglobina/TIM-3, hematocrito/TIM-3, VCM/TIM-3, CHCM/TIM-3, y RDW/TIM-3 de pacientes con tumores de cérvix queratinizantes y no queratinizantes. (B) Gráfico de la calidad de los modelos predictivos. Estos representan los valores de ABC del límite inferior de confianza al 95 % en las barras horizontales, y la línea roja indica el umbral de referencia. **Abreviaturas.** ABC: Área bajo la curva. IC: Intervalo de confianza. NQ: Pacientes con tumores de cérvix no queratinizantes. Q: Pacientes con tumores de cérvix queratinizantes. VCM: Volumen celular medio. CHCM: Concentración de hemoglobina corpuscular media.

Con la intención de determinar la eficiencia y puntos de corte se calcularon los índices J de Youden para cada índice basado en TIM-3, y marcadores de anemia. Los parámetros obtenidos para cada marcador se muestran en la **Tabla 10**. Respecto a los estadísticos J de Youden, encontramos cifras de 0.679, 0.750, 0.750, 0.750, 0.67, y 0.857 para los índices de eritrocitos/TIM-3, hemoglobina/TIM-3, hematocrito/TIM-3, VCM/TIM-3, CHCM/TIM-3, y VCM/TIM-3, respectivamente. Los seis marcadores muestran eficiencias aceptables. Ahora

bien, notamos que los niveles en sangre de RDW/TIM-3 exhiben el mejor poder discriminativo de este grupo de marcadores. El valor umbral igual o mayor a $109.39 \frac{\%}{(ng/mL)}$ de RDW/TIM-3 mostró una sensibilidad del 100 %, y una especificidad del 85.7 %. Al contrario, los niveles en sangre de eritrocitos/TIM-3 presentaron la menor eficiencia. El valor de corte de los niveles mayores o iguales a $34.64 \frac{Células \cdot 10^6}{ng}$ de eritrocitos/TIM-3 arrojó una sensibilidad del 75 %, y una especificidad del 92.9 %.

Tabla 10. Parámetros de las curvas ROC de los niveles en sangre de índices basados en TIM-3 y marcadores de anemia de pacientes con tumores queratinizantes y no queratinizantes

Índices de TIM-3	Índice J	Punto de corte	Sensibilidad	Especificidad
<i>Eritrocitos/TIM-3</i>	0.679	$\geq 34.64 \frac{Células \cdot 10^6}{ng}$	75 %	92.9 %
<i>Hemoglobina/TIM-3</i>	0.750	$\geq 10.25 \frac{(g/dL)}{(ng/mL)}$	75 %	100 %
<i>Hematocrito/TIM-3</i>	0.750	$\geq 323.12 \frac{\%}{(ng/mL)}$	75 %	100 %
<i>CHCM/TIM-3</i>	0.750	$\geq 770.2415 \frac{g}{(ng/mL)}$	75 %	100 %
<i>VCM/TIM-3</i>	0.679	$\geq 262.63 \frac{ft}{(ng/mL)}$	75 %	92.9 %
<i>RDW/TIM-3</i>	0.857	$\geq 109.39 \frac{\%}{(ng/mL)}$	100 %	85.7 %

SEGUIMIENTO RETROSPECTIVO

DETERMINACIÓN DE LA RELACIÓN DE LA RESPUESTA TERAPÉUTICA Y LOS NIVELES EN SANGRE DE MARCADORES DE ANEMIA E INFLAMACIÓN PREVIO, DURANTE, Y POSTERIOR AL TRATAMIENTO DE PACIENTES CON CaCu LOCALMENTE AVANZADO

El seguimiento retrospectivo se diseñó para investigar si existían asociaciones de la respuesta terapéutica con los niveles en sangre de marcadores de anemia e inflamación previo, durante, y posterior al tratamiento. El ensayo clínico incluyó a dieciséis pacientes con CaCu localmente avanzado. Estas se dividieron en dos grupos de acuerdo con su respuesta a tratamiento. El [programa de tratamiento](#), y [la evaluación de respuesta a tratamiento](#) se describen a detalle en la metodología. El rango de edad fue de 39 a 72 años para las pacientes respondedoras, y de 36 a 61 años para las pacientes no respondedoras a tratamiento. Las [Tablas P4-5](#) muestran las características clínico-histopatológicas de los dos subgrupos de pacientes.

El ensayo se constituyó por 54 análisis de comparación de los niveles en sangre de 18 marcadores de anemia e inflamación en pacientes respondedoras y no respondedoras. Estos se evaluaron en tres momentos del programa de tratamiento: antes, durante, y después de quimiorradioterapia concurrente a base de cisplatino. Los niveles en sangre de marcadores de anemia e inflamación fueron recopilados de dos biometrías hemáticas por paciente. La primera biometría se obtuvo dentro de los 120 días previo al tratamiento, y la segunda biometría dentro de los 120 días posterior al tratamiento. Los cambios en los niveles de marcadores de anemia e inflamación durante el tratamiento (Δ) se calcularon con la diferencia entre el valor del marcador hematológico posterior, y previo al tratamiento. Esto nos permitió obtener el cambio total de los niveles durante el tratamiento de cada marcador por paciente.

Primero indagamos si la respuesta terapéutica se relacionaba con los niveles en sangre de marcadores de anemia e inflamación previo al tratamiento de pacientes con CaCu localmente avanzado. Los resultados señalaron que las pacientes no respondedoras mostraron niveles en sangre más bajos con significancia de linfocitos previo al tratamiento en comparación con las pacientes respondedoras con un valor $p < 0.01$ (**Figura 34A**).

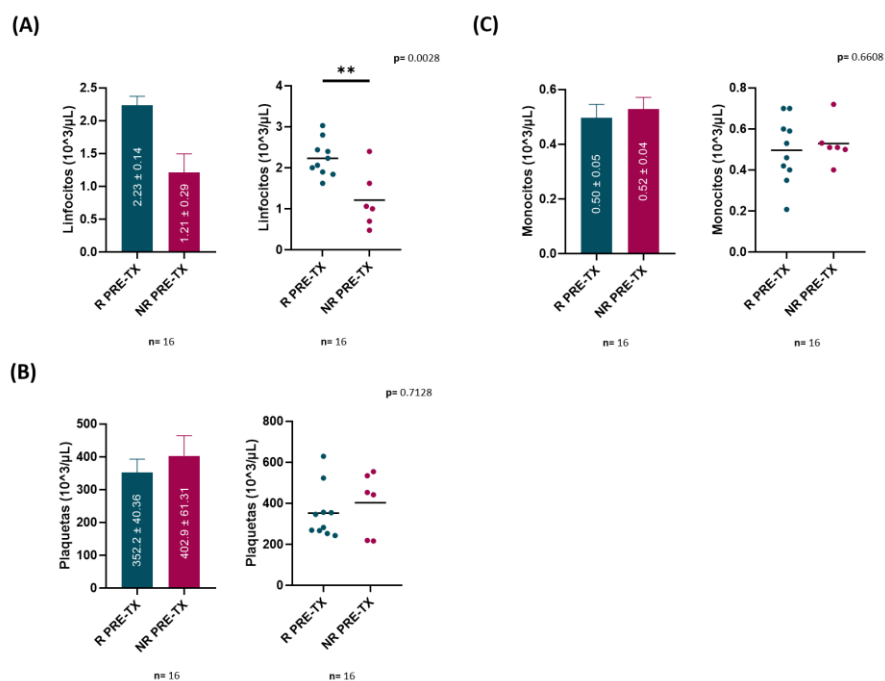


Figura 34. Niveles en sangre de linfocitos, plaquetas, y monocitos previo al tratamiento de pacientes respondedoras y no respondedoras

Asociación de los niveles en sangre de **(A)** linfocitos, **(B)** plaquetas, **(C)** monocitos previo al tratamiento de pacientes respondedoras, y no respondedoras. Las comparaciones entre dos grupos de datos paramétricos para varianzas homogéneas se llevaron a cabo con la prueba t Student no pareada. Las comparaciones de dos grupos de datos no paramétricos se analizaron con la prueba de U de Mann-Whitney no pareada. Cada punto representa el dato de una paciente. Las barras se muestran como media \pm EEM. **Abreviaturas.** R: Pacientes respondedoras. NR: Pacientes no respondedoras. PRE-TX: Pretratamiento.

Como se puede observar en las **Figuras 34B-C**, aunque las pacientes no respondedoras mostraron mayores niveles en sangre de plaquetas y monocitos previos al tratamiento, no alcanzaron el nivel de significación con respecto al grupo de pacientes respondedoras.

Los datos también evidenciaron que las pacientes no respondedoras tenían altos niveles en sangre de plaquetas/linfocitos, y monocitos/linfocitos en comparación con el grupo de respondedoras. Ambos análisis arrojaron diferencias significativas entre grupos con valores $p < 0.05$ (**Figura 35A-B**). No hubo diferencias con significancia de los niveles de los marcadores en sangre restantes previos al tratamiento entre pacientes respondedoras y no respondedoras ([Tabla suplementaria S27](#)).

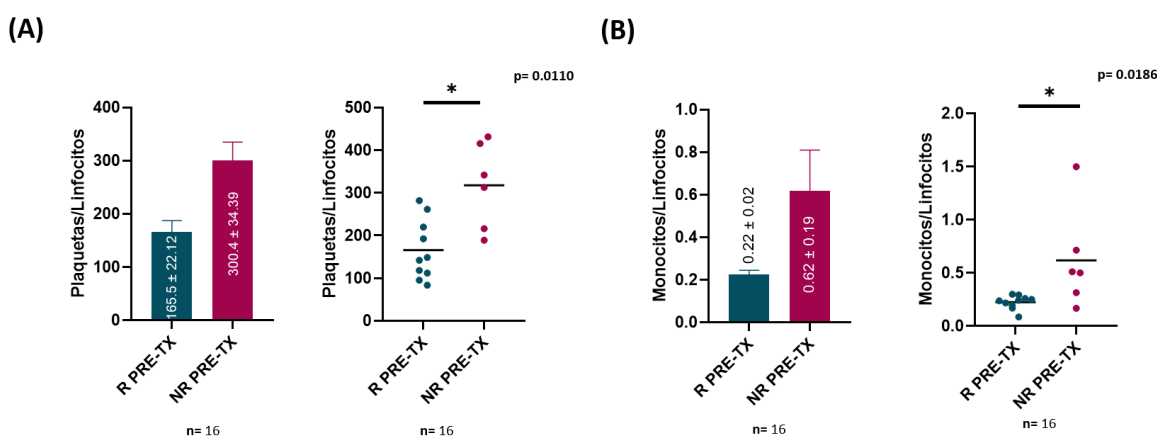


Figura 35. Niveles en sangre de plaquetas/linfocitos, y monocitos/linfocitos previo al tratamiento de pacientes respondedoras y no respondedoras

Asociación de los niveles en sangre de **(A)** plaquetas/linfocitos, y **(B)** monocitos/linfocitos previo al tratamiento de pacientes respondedoras y no respondedoras. Las comparaciones entre dos grupos de datos paramétricos para varianzas homogéneas se llevaron a cabo con la prueba t Student no pareada. Las comparaciones de dos grupos de datos no paramétricos se analizaron con la prueba de U de Mann-Whitney no pareada. Cada punto representa el dato de una paciente. Las barras se muestran como media ± EEM. **Abreviaturas.** R: Pacientes respondedoras. NR: Pacientes no respondedoras. PRE-TX: Pretratamiento.

A continuación, exploramos si la respuesta terapéutica se asociaba con los niveles en sangre de marcadores de anemia e inflamación durante el tratamiento de pacientes con CaCu localmente avanzado. Las pacientes no respondedoras exhibieron significativamente menores niveles en sangre de Δ leucocitos ($p < 0.01$), y Δ linfocitos ($p < 0.05$) que las pacientes respondedoras (**Figura 36A-B**).

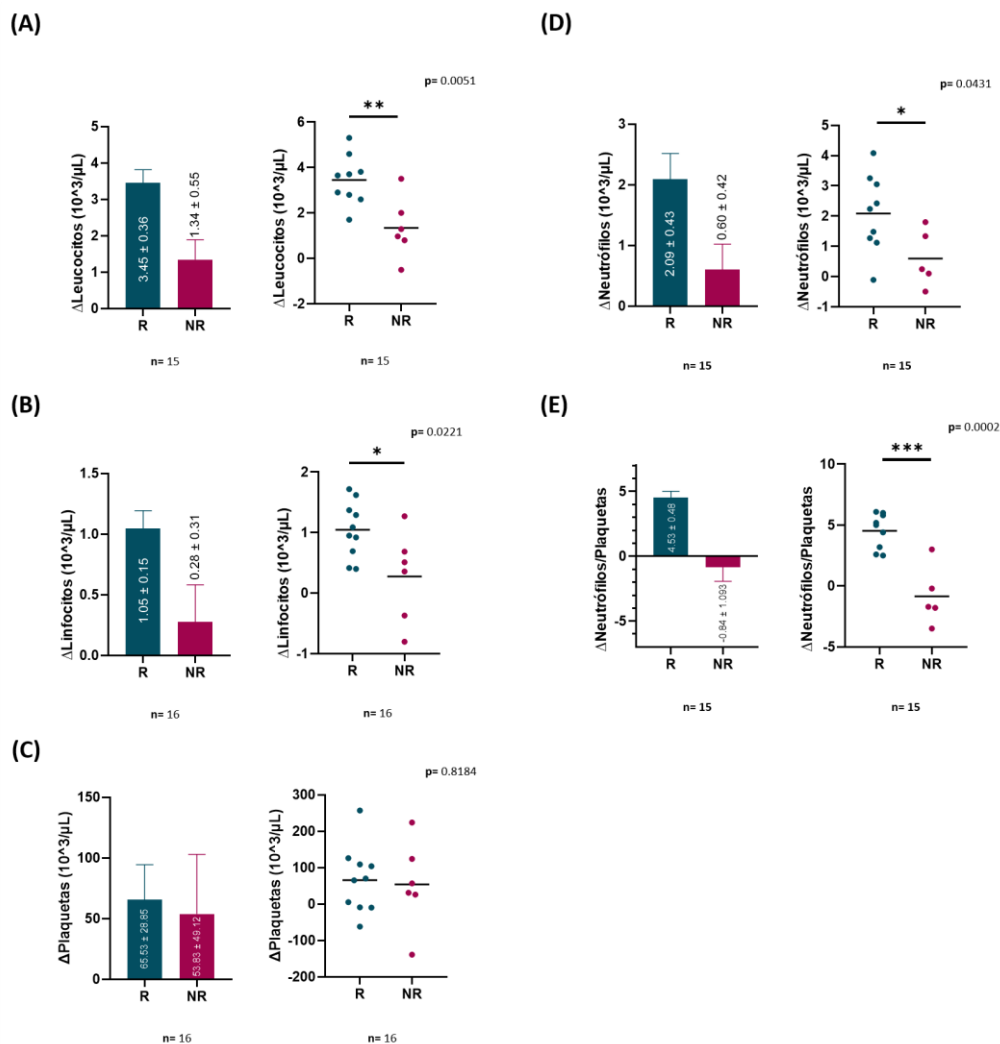


Figura 36. Los niveles en sangre de Δ leucocitos, Δ linfocitos, Δ plaquetas, Δ neutrófilos, y Δ (neutrófilos/plaquetas) de pacientes respondedoras y no respondedoras

Relación de los niveles en sangre de (A) Δ leucocitos, (B) Δ linfocitos, (C) Δ plaquetas, (D) Δ neutrófilos, y (E) Δ (neutrófilos/plaquetas) de pacientes respondedoras y no respondedoras. Las comparaciones entre dos grupos de datos paramétricos para varianzas homogéneas se llevaron a cabo con la prueba t Student no pareada. Las comparaciones de dos grupos de datos no paramétricos se analizaron con la prueba de U de Mann-Whitney no pareada. Cada punto representa el dato de una paciente. Las barras se muestran como media \pm EEM. **Abreviaturas.** R: Pacientes respondedoras. NR: Pacientes no respondedoras. Δ : Cambio total de los niveles del marcador hematológico durante el tratamiento.

Los análisis señalaron que las pacientes no respondedoras muestran menores niveles en sangre de Δ plaquetas con respecto a las pacientes respondedoras, pero no presentaron diferencias significativas entre grupos (Figura 36C). La evaluación también arrojó que los niveles en sangre de Δ neutrófilos son menores con significancia en el grupo de no

respondedoras que en las pacientes respondedoras ($p < 0.05$). Este resultado se puede apreciar en la **Figura 36D**. En cuanto los niveles en sangre de Δ (neutrófilos/plaquetas) observamos que son sustancialmente menores en pacientes no respondedoras con respecto a las pacientes respondedoras. Este análisis estadístico mostró un valor $p < 0.001$ (**Figura 36E**). Esto quiere decir que los valores medios obtenidos de la diferencia entre el valor posterior y previo al tratamiento de los cuatro marcadores son menores en pacientes no respondedoras que en pacientes respondedoras. Otra forma de interpretar el fenómeno observado es que en pacientes respondedoras los cuatro marcadores de inflamación manifiestan diferencias significativas entre los niveles en sangre previo, y posterior al tratamiento. En cambio, en pacientes no respondedoras no se aprecian cambios significativos. Esta forma alternativa de exponer el resultado puede visualizarse en la [Figura S4](#). Los niveles en sangre del cambio total durante el tratamiento de los marcadores restantes no mostraron diferencias significativas entre grupos ([Tabla suplementaria S28](#)).

Más adelante, determinamos si la respuesta terapéutica se vinculaba con los niveles en sangre de marcadores de anemia e inflamación posterior al tratamiento en pacientes con CaCu localmente avanzado. Encontramos que los niveles en sangre de las plaquetas posterior al tratamiento son mayores en pacientes no respondedoras en comparación con las pacientes respondedoras. No obstante, no hubo diferencia estadística entre grupos (**Figura 37A**). Como se aprecia en la **Figura 37B**, las pacientes no respondedoras presentan bajos niveles en sangre de linfocitos posterior al tratamiento con respecto a las pacientes respondedoras, pero no observamos diferencias estadísticas entre los grupos. A diferencia de las pacientes respondedoras, las pacientes no respondedoras al tratamiento exhiben significativamente

mayores niveles en sangre de plaquetas/linfocitos posterior al tratamiento con un valor $p < 0.05$ (**Figura 37C**).

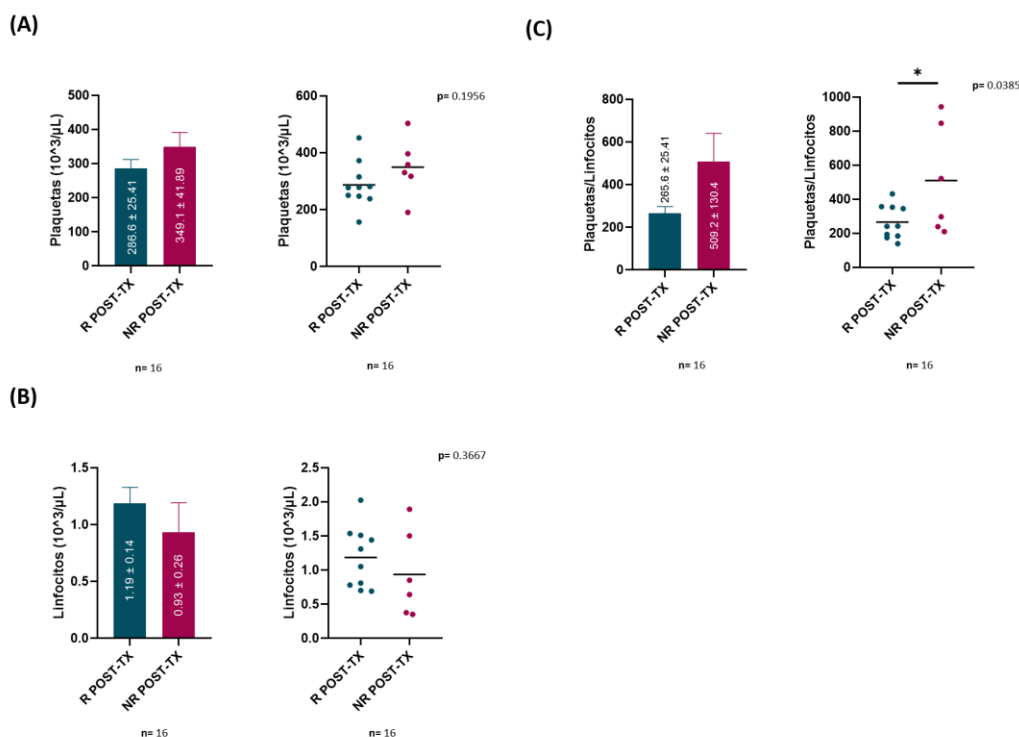


Figura 37. Niveles en sangre de plaquetas, linfocitos, y plaquetas/linfocitos posterior al tratamiento de pacientes respondedoras y no respondedoras

Relación de los niveles en sangre de (A) plaquetas, (B) linfocitos, y (C) plaquetas/linfocitos posterior al tratamiento de pacientes respondedoras y no respondedoras. Las comparaciones entre dos grupos de datos paramétricos para varianzas homogéneas se llevaron a cabo con la prueba t Student no pareada, y para varianzas heterogéneas con la prueba de t de Welch no pareada. Las comparaciones de dos grupos de datos no paramétricos se analizaron con la prueba de U de Mann-Whitney no pareada. Cada punto representa el dato de una paciente. Las barras se muestran como media \pm EEM. **Abreviaturas.** R: Pacientes respondedoras. NR: Pacientes no respondedoras. POST-TX: Postratamiento.

Luego buscamos probar la relación de la respuesta terapéutica con los niveles en sangre de marcadores de anemia posterior al tratamiento en pacientes con CaCu localmente avanzado. Los datos presentaron que los niveles en sangre de eritrocitos posterior al tratamiento fueron menores en pacientes no respondedoras en comparación con las pacientes respondedoras ($p < 0.05$). Este resultado se ilustra en la **Figura 38A**.

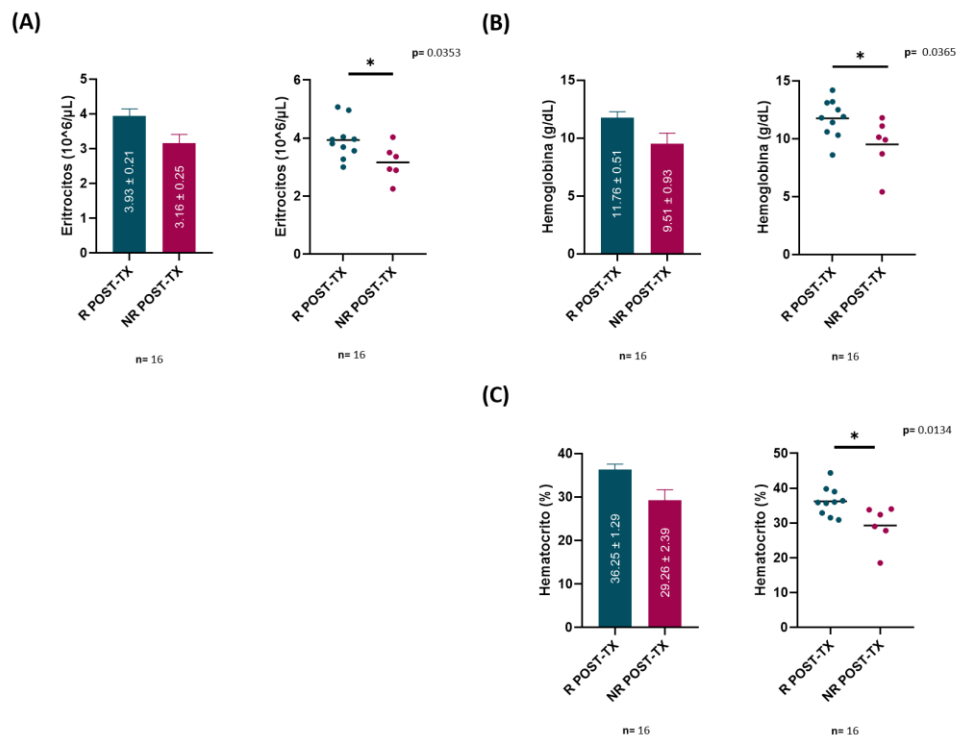


Figura 38. Niveles en sangre de eritrocitos, hemoglobina, y hematocrito posterior al tratamiento de pacientes respondedoras y no respondedoras

Relación de los niveles en sangre de **(A)** eritrocitos, **(B)** hemoglobina, y **(C)** hematocrito posterior al tratamiento en pacientes respondedoras y no respondedoras. Las comparaciones entre dos grupos de datos paramétricos para varianzas homogéneas se llevaron a cabo con la prueba t Student no pareada, y para varianzas heterogéneas con la prueba de t de Welch no pareada. Las comparaciones de dos grupos de datos no paramétricos se analizaron con la prueba de U de Mann-Whitney no pareada. Cada punto representa el dato de una paciente. Las barras se muestran como media \pm EEM. **Abreviaturas.** R: Pacientes respondedoras. NR: Pacientes no respondedoras. POST-TX: Postratamiento.

Referente al resto de marcadores de anemia, hallamos que los niveles en sangre de la hemoglobina posterior al tratamiento son más bajos de manera significativa en pacientes no respondedoras con respecto a las pacientes respondedoras **(Figura 38B)**. Además, notamos que los niveles en sangre de hematocrito posterior al tratamiento son menores con significancia en pacientes no respondedoras en comparación con las pacientes respondedoras **(Figura 38C)**. Ambos análisis presentaron diferencias significativas entre grupos con valores $p < 0.05$. No se apreciaron diferencias estadísticas de los niveles en sangre del resto de

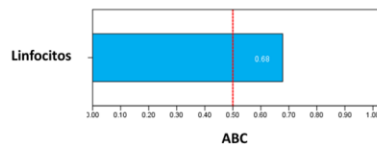
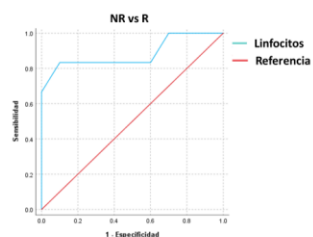
marcadores posteriores al tratamiento en relación con la respuesta terapéutica ([Tabla suplementaria S29](#)).

EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD DE LOS NIVELES EN SANGRE DE MARCADORES DE ANEMIA E INFLAMACIÓN PREVIO, DURANTE Y POSTERIOR AL TRATAMIENTO DE CaCu LOCALMENTE AVANZADO PARA DISCRIMINAR ENTRE PACIENTES RESPONDEDORAS Y NO RESPONDEDORAS

El ensayo pretendió evaluar si los niveles en sangre de los marcadores de anemia e inflamación previo, durante, y posterior al tratamiento permiten discriminar entre pacientes respondedoras y no respondedoras a quimiorradioterapia concurrente a base de cisplatino para el tratamiento de CaCu localmente avanzado. Este se conformó por análisis de curva ROC individual, y múltiple utilizando como control a las pacientes que presentaron buena respuesta terapéutica. Tomados en conjunto, estos análisis buscaron revelar el potencial de los niveles de marcadores de anemia e inflamación como posibles biomarcadores de beneficio terapéutico, vigilancia de respuesta terapéutica, y pronóstico postratamiento.

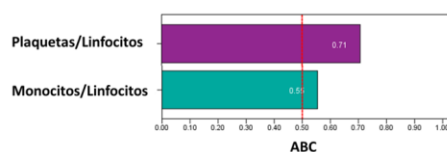
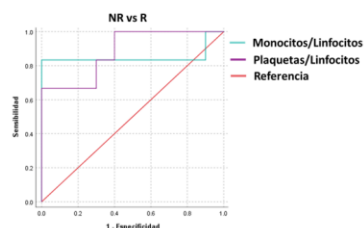
Iniciamos evaluando la capacidad discriminativa de los niveles en sangre de los linfocitos, plaquetas/linfocitos, y monocitos/linfocitos previo al tratamiento que presentaron diferencias significativas entre pacientes respondedoras y no respondedoras. Como se muestra en la **Figura 39A**, los niveles en sangre de los linfocitos previo al tratamiento exhibieron una buena capacidad predictiva con un ABC de 0.88, y una calidad general de modelo aceptable. Los resultados de la curva ROC múltiple señalaron que los niveles en sangre de plaquetas/linfocitos, y monocitos/linfocitos previo al tratamiento poseen una capacidad discriminativa óptima. Estos marcadores arrojaron valores de ABC de 0.88 y 0.85, respectivamente. La calidad general de modelo predictivo es permisible en ambos casos (**Figura 39B**).

(A)



Linfocitos			
n	ABC	IC al 95%	
6/10	0.88	0.678	1.00

(B)



	n	ABC	IC al 95%	
Paquetas/Linfocitos	6/10	0.88	0.71	1.00
Monocitos/Linfocitos	6/10	0.85	0.55	1.00

Figura 39. Capacidad de los niveles en sangre de linfocitos, monocitos/linfocitos, y plaquetas/linfocitos previos al tratamiento para discriminar entre pacientes respondedoras y no respondedoras

(A) Curva ROC de los niveles en sangre de los linfocitos previo al tratamiento de pacientes respondedoras y no respondedoras. (B) Curva ROC múltiple de datos pareados de los niveles en sangre de plaquetas/linfocitos, y monocitos/linfocitos previos al tratamiento de pacientes respondedoras y no respondedoras. El gráfico de calidad de los modelos predictivos representa los valores de ABC del límite inferior de confianza al 95 % en las barras horizontales, y la línea roja indica el umbral de referencia. **Abreviaturas.** ABC: Área bajo la curva. IC: Intervalo de confianza. R: Pacientes respondedoras. NR: Pacientes no respondedoras.

Con el propósito de determinar la eficacia potencial máxima y punto de corte óptimo para cada marcador hematológico previo al tratamiento, utilizamos el método J de Youden. Los valores J obtenidos para los niveles en sangre de linfocitos, plaquetas/linfocitos, y monocitos/linfocitos previo al tratamiento fueron secuencialmente de 0.733, 0.667, y 0.833. En cuanto a los valores umbrales encontramos que los niveles en sangre de linfocitos previo al tratamiento menores o iguales a $1.73 \cdot \frac{\text{células} \cdot 10^3}{\mu\text{L}}$ arrojaron una sensibilidad del 83.3 %, y una especificidad del 90 %. También hallamos que el punto de corte mayor o igual a 297.46

de los niveles en sangre de plaquetas/linfocitos previo al tratamiento exhiben una sensibilidad de 66.7 %, y una especificidad del 100 %. Además, encontramos un valor umbral de corte mayor o igual a 0.31 de los niveles en sangre de monocitos/linfocitos previo al tratamiento con una sensibilidad del 83.3 %, y una especificidad del 100 %. Con base en los parámetros evaluados, los niveles en sangre de plaquetas/linfocitos previo al tratamiento mostraron el mejor poder predictivo de este grupo de marcadores (**Tabla 11**).

Tabla 11. *Parámetros de las curvas ROC de los niveles en sangre de los linfocitos, plaquetas/linfocitos, y monocitos/linfocitos previo al tratamiento de pacientes respondedoras y no respondedoras*

Variables	Índice J	Punto de corte	Sensibilidad	Especificidad
Pretratamiento				
<i>Linfocitos</i>	0.733	$\leq 1.73 \frac{\text{células} \cdot 10^3}{\mu\text{L}}$	83.3 %	90 %
<i>Monocitos/Linfocitos</i>	0.833	≥ 0.31	83.3 %	100 %
<i>Plaquetas/Linfocitos</i>	0.667	≥ 297.46	66.7 %	100 %

En el estudio anterior habíamos observado que los niveles en sangre de Δ leucocitos, Δ neutrófilos, Δ linfocitos, y Δ (neutrófilos/plaquetas) arrojaban diferencias estadísticas con significancia entre pacientes respondedoras y no respondedoras. Por consiguiente, en este ensayo buscamos evaluar la capacidad de estos marcadores para diferenciar entre grupos. El rendimiento de los modelos exhibió valores de ABC de 0.89 para Δ leucocitos, de 0.84 para Δ neutrófilos, de 0.80 para Δ linfocitos, y de 0.96 para Δ (neutrófilos/plaquetas). La calidad general del modelo predictivo fue admisible para los cuatro marcadores (**Figuras 40A-B**).

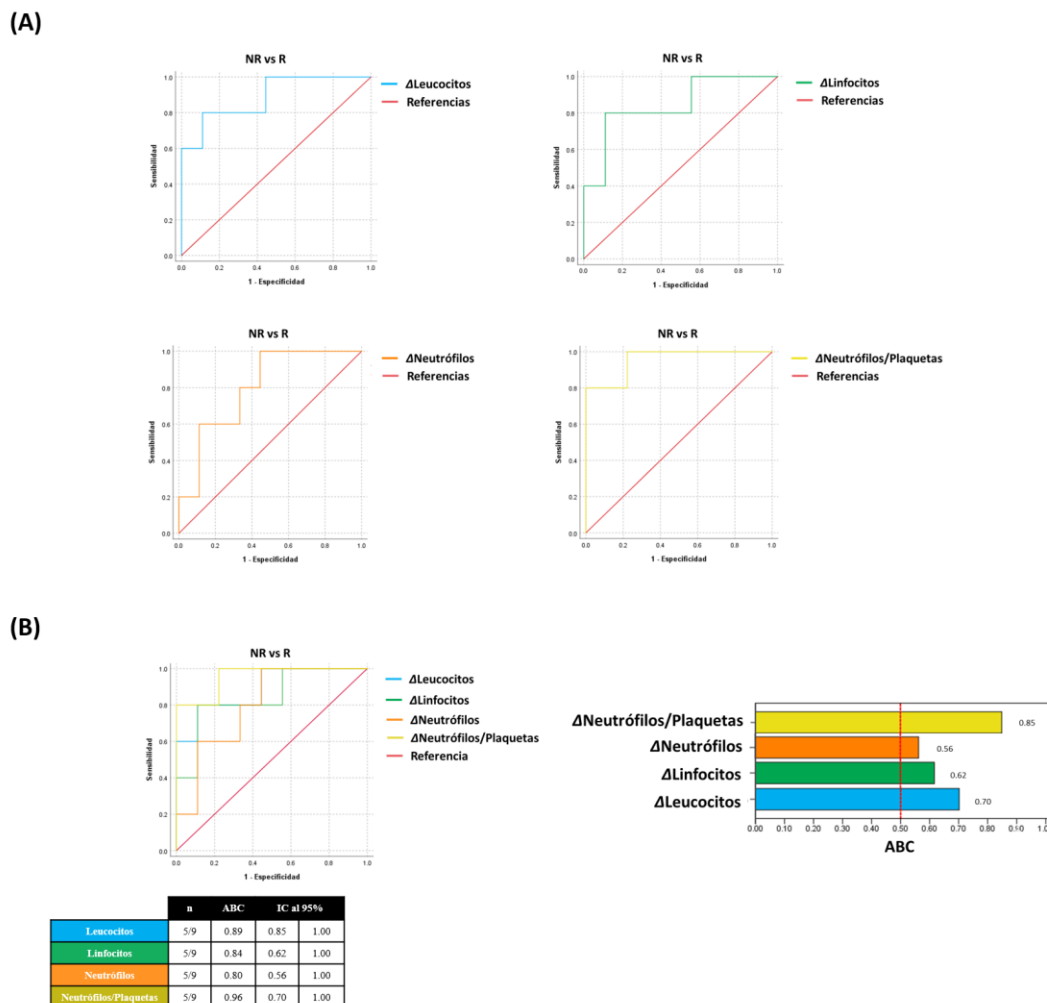


Figura 40. Capacidad de los niveles en sangre de leucocitos, linfocitos, neutrófilos, y neutrófilos/plaquetas durante el tratamiento para discriminar entre pacientes respondedoras y no respondedoras

(A) Vista individual de las curvas ROC, y (B) curva ROC múltiple de datos pareados de los niveles en sangre de leucocitos, linfocitos, neutrófilos, y neutrófilos/plaquetas durante el tratamiento de pacientes respondedoras, y no respondedoras. El gráfico de calidad de los modelos predictivos representa los valores de ABC del límite inferior de confianza al 95 % en las barras horizontales, y la línea roja indica el umbral de referencia. **Abreviaturas.** ABC: Área bajo la curva. IC: Intervalo de confianza. R: Pacientes respondedoras. NR: Pacientes no respondedoras. Δ : Cambio de los niveles del marcador hematológico durante el tratamiento.

Más adelante, utilizamos el índice J de Youden para determinar el beneficio general, y el valor umbral óptimo para cada marcador durante el tratamiento. Los estadísticos J arrojaron valores de 0.689, 0.556, 0.689, y 0.800 para los niveles en sangre de Δ leucocitos, Δ neutrófilos, Δ linfocitos, y Δ (neutrófilos/plaquetas), respectivamente. Referente a los puntos de corte óptimos encontramos que los niveles en sangre de Δ leucocitos con valores ≤ 2.30

(Sensibilidad: 80 %, Especificidad: 98.89 %), de Δ neutrófilos con cifras ≤ 2.02 (Sensibilidad: 100 %, Especificidad: 55.6 %), y de Δ linfocitos con números ≤ 0.69 (Sensibilidad: 80 %, Especificidad: 98.89 %), permiten discriminar entre grupos de manera eficiente. De este conjunto de marcadores, los niveles en sangre de Δ (neutrófilos/plaquetas) con un valor umbral de ≤ 12.00 (Sensibilidad: 80 %, Especificidad: 100 %), muestran la mejor capacidad para discriminar entre pacientes con CaCu respondedoras y no respondedoras. Estos resultados se ilustran en la **Tabla 12**.

Tabla 12. Parámetros de las curvas ROC de los niveles en sangre de *Δleucocitos*, *Δneutrófilos*, *Δlinfocitos*, y *Δ(neutrófilos/plaquetas)* durante el tratamiento de pacientes respondedoras y no respondedoras

Variables durante el tratamiento	Índice J	Punto de corte	Sensibilidad	Especificidad
<i>Δleucocitos</i>	0.689	≥ 2.30	80 %	98.89 %
<i>Δneutrófilos</i>	0.556	≥ 2.02	100 %	55.6 %
<i>Δlinfocitos</i>	0.689	≥ 0.69	80 %	98.89 %
<i>Δ(neutrófilos/plaquetas)</i>	0.800	≥ 12.00	80 %	100 %

Abreviaturas. Δ : Valor resultante de la resta entre los niveles en sangre del marcador posterior y previo al tratamiento.

Dado que habíamos identificado que los niveles en sangre de plaquetas/linfocitos, eritrocitos, hemoglobina, y hematocrito posterior al tratamiento fueron significativamente diferentes entre pacientes respondedoras y no respondedoras, realizamos análisis de curvas ROC con el fin de investigar la capacidad de estos marcadores para discriminar entre grupos. El ABC de la curva ROC de los niveles en sangre de linfocitos posterior al tratamiento

revelaron una capacidad discriminativa admisible con un valor de 0.73, pero una pobre calidad general de modelo predictivo (**Figura 41A-B**).

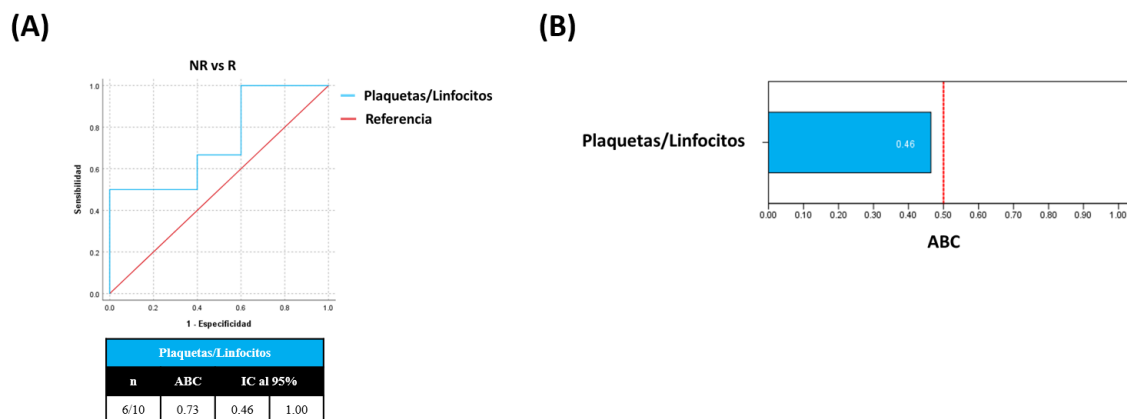


Figura 41. Capacidad de los niveles en sangre de plaquetas/linfocitos posterior al tratamiento para discriminar entre pacientes respondedoras y no respondedoras

(A) Curva ROC basada en los niveles en sangre de plaquetas/linfocitos posterior al tratamiento de pacientes con CaCu respondedoras y no respondedoras. (B) El gráfico de calidad del modelo predictivo representa el valor de ABC del límite inferior de confianza al 95 % en la barra horizontal, y la línea roja indica el umbral de referencia. **Abreviaturas.** ABC: Área bajo la curva. IC: Intervalo de confianza. R: Pacientes respondedoras. NR: Pacientes no respondedoras.

Por lo que concierne a los niveles en sangre de eritrocitos, hemoglobina, y hematocrito posterior al tratamiento, estos exhibieron valores de ABC de 0.82, 0.83, y 0.87, respectivamente. Los tres marcadores de anemia presentaron una buena capacidad discriminativa. Además, encontramos un límite inferior de confianza al 95 % de 0.57 para los niveles de eritrocitos, de 0.61 para los niveles de hemoglobina, y 0.68 para los niveles de hematocrito. Estos valores denotan una calidad de modelo predictivo aceptable en los tres casos (**Figura 42A-B**).

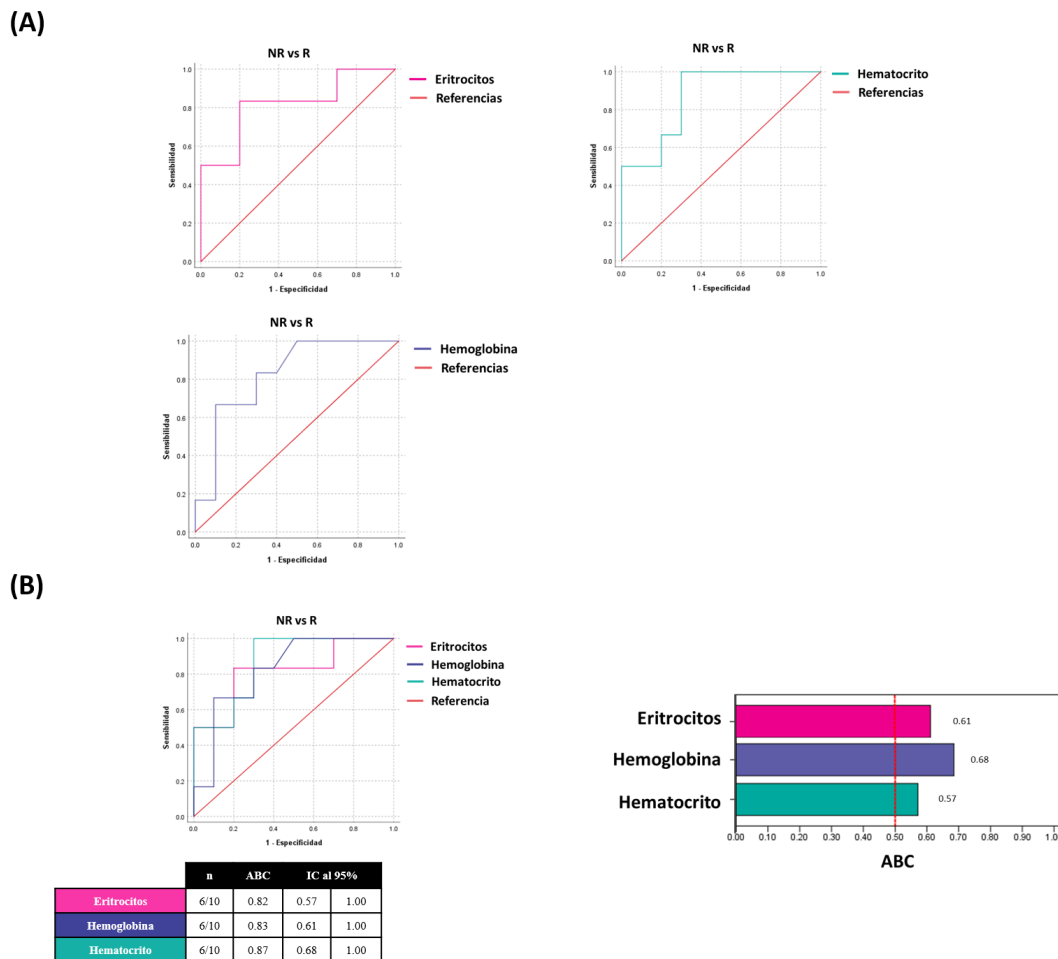


Figura 42. Capacidad de los niveles en sangre de eritrocitos, hemoglobina, y hematocrito posterior al tratamiento para discriminar entre pacientes respondedoras y no respondedoras

(A) Vista individual de las curvas ROC, y (B) curva ROC múltiple de datos pareados basada en los niveles en sangre de eritrocitos, hemoglobina, y hematocrito posterior al tratamiento de pacientes respondedoras y no respondedoras. El gráfico de calidad de los modelos predictivos representa los valores de ABC del límite inferior de confianza al 95 % en las barras horizontales, y la línea roja indica el umbral de referencia. **Abreviaturas.** ABC: Área bajo la curva. IC: Intervalo de confianza. R: Pacientes respondedoras. NR: Pacientes no respondedoras.

Luego calculamos el desempeño global de cada marcador hematológico postratamiento. Los valores J de Youden revelaron secuencialmente cifras de 0.500, 0.633, 0.567, y 0.700 para los niveles en sangre de plaquetas/linfocitos, eritrocitos, hemoglobina, y hematocrito. Con base en estos estadísticos encontramos que los niveles en sangre de plaquetas/linfocitos posterior al tratamiento arrojaron un valor de corte mayor o igual a

511.31 con una sensibilidad del 50%, y una especificidad del 100 %. No obstante, el rendimiento para el marcador es deficiente. Estos resultados se pueden apreciar en la **Tabla 13**.

Tabla 13. *Parámetros de las curvas ROC de los niveles en sangre de plaquetas/linfocitos, eritrocitos, hemoglobina, y hematocrito posterior al tratamiento de pacientes respondedoras y no respondedoras*

VARIABLES POSTRATAMIENTO	Índice J	Punto de corte	Sensibilidad	Especificidad
<i>Plaquetas/Linfocitos</i>	0.500	≥ 511.31	50 %	100 %
<i>Eritrocitos</i>	0.633	$\leq 3.53 \frac{\text{células} \cdot 10^6}{\mu\text{L}}$	83.3 %	80 %
<i>Hemoglobina</i>	0.567	$\leq 10.22 \frac{\text{g}}{\text{dL}}$	66.7 %	90 %
<i>Hematocrito</i>	0.700	$\leq 34.85 \%$	100 %	70 %

Como se aprecia en la **Tabla 13**, hallamos para los niveles en sangre de eritrocitos posterior al tratamiento un punto de corte menor o igual a $3.53 \frac{\text{células} \cdot 10^6}{\mu\text{L}}$ con una sensibilidad del 83.3 %, y especificidad del 80 %. Asimismo, encontramos para los niveles en sangre de hemoglobina posterior al tratamiento un valor umbral menor o igual a $10.22 \frac{\text{g}}{\text{dL}}$ con una sensibilidad del 66.7 %, y una especificidad del 90 %. En ambos casos presentaron desempeños aceptables para distinguir entre grupos. Dentro de este conjunto de marcadores postratamiento, los niveles en sangre de hematocrito menores o iguales a 34.85 % con una sensibilidad del 100 %, y una especificidad del 70 % exhiben la mejor capacidad discriminativa.

DISCUSIÓN

La presente investigación determinó el valor clínico de los niveles en sangre de TIM-3, Gal-9, y marcadores de anemia e inflamación de pacientes con CaCu. Dentro de nuestras aportaciones más relevantes se encuentra la identificación de potenciales candidatos a biomarcadores de tamizaje, estimación de resultados clínicos a largo plazo, predicción de beneficio terapéutico, monitoreo de respuesta al tratamiento, y pronóstico postratamiento para CaCu. Además, la identificación de firmas sanguíneas que proporcionan información valiosa sobre los cambios en el panorama inmunológico sistémico con posible utilidad en el diseño de nuevas inmunoterapias para CaCu. A continuación, se presentan las problemáticas abordadas, la discusión del posible significado biológico, la importancia biomédica, y las perspectivas de nuestros hallazgos por estudio clínico.

ESTUDIO DE CASOS Y CONTROLES

Los principales métodos para el tamizaje de CaCu son las pruebas de Papanicolaou y del VPH ([Zigang Li et al., 2021](#)). En países desarrollados con altos estándares y nivel técnico, la sensibilidad de la prueba de Papanicolaou puede alcanzar valores del 90 %. En cambio, en países en vías de desarrollo suelen ser inferiores al 40 % ([S. Zhang et al., 2020](#)). La baja sensibilidad de la prueba contribuye a que las lesiones premalignas progresen, y sean detectadas en etapas avanzadas ([Nkwabong et al., 2019](#)). Además, la prueba de VPH tiene baja especificidad para CaCu, debido a que un gran número de las infecciones por VPH son transitorias y no conducen a la transformación maligna ([Zigang Li et al., 2021](#)). No obstante, se ha propuesto realizar el tamizaje de CaCu mediante pruebas tradicionales combinadas con la identificación de biomarcadores. Esta estrategia busca detectar la enfermedad en etapas tempranas, y reducir el número de muertes por CaCu ([Uyeda, 2021](#)). Por ello una línea de

investigación de gran importancia para este tipo de cáncer está dirigida a la búsqueda de biomarcadores de tamizaje. Estudios previos han revelado que los niveles de Gal-9 y TIM-3 están desregulados en suero o plasma de pacientes con diferentes tipos de cánceres, y estos cambios en el perfil sanguíneo han mostrado potencial como biomarcadores en su tamizaje (Fang et al., 2018; Gao et al., 2018; Seifert et al., 2020). Por lo tanto, nuestro grupo de investigación se cuestionó si esto también ocurría en CaCu.

GAL-9 SÉRICA MUESTRA POTENCIAL COMO BIOMARCADOR EN EL TAMIZAJE DE CaCu

Nuestros datos indicaron que los niveles séricos de Gal-9 se encuentran sustancialmente incrementados en suero de pacientes con CaCu en comparación al suero de mujeres con citología normal. Estos resultados confirman los antecedentes de nuestro grupo de investigación (Reyes-Vallejo, 2020). De igual modo, se ha informado de un incremento notable de la concentración de Gal-9 en sangre de pacientes con adenocarcinoma ductal pancreático, y carcinoma de ovario seroso de alto grado, con respecto a la sangre de los controles sanos (Labrie et al., 2017; Seifert et al., 2020). La Gal-9 es una proteína inmunorreguladora soluble que se sintetiza y almacena en el citoplasma, pero bajo estímulos inflamatorios puede ser secretada mediante vías no convencionales por células tumorales, inmunes, y otros tipos celulares (Sato et al., 2009; Yasinska et al., 2019). De manera que la Gal-9 detectada en suero podría ser producto de su liberación por las células tumorales de cérvix, o células del sistema inmune en el microambiente cervicovaginal. No obstante, también existe la posibilidad de que la activación de señales a distancia impulse la producción de la Gal-9 por células del endotelio vascular, células sanguíneas, células inmunes, o células de tejido en órganos distantes. En cuanto a la presencia de la Gal-9 en el microambiente cervicovaginal, informes anteriores han demostrado que los niveles de la Gal-9 en moco

cervical son menores en pacientes con CaCu metastásico con respecto al moco cervical de aquellas que presentaron diseminación local (Kayukova et al., 2021). Asimismo, otro estudio reportó significativamente menores niveles de expresión de la Gal-9 en tejido de carcinoma de células escamosas en comparación con su expresión en tejido sano de cérvix (Meiyan Liang et al., 2008). Esta noción está respaldada por estudios *in vitro* de nuestro grupo que demostraron la disminución de los transcritos del gen de la Gal-9 en células tumorales de cérvix HeLa y SiHa, con respecto a las células no tumorales HaCaT, que exhibieron un mayor número de transcritos de este gen (Armenta-Castro et al., 2020). Tomados en conjunto, los reportes previos y nuestros resultados sugieren que es poco probable que la fuente principal de la cantidad de la Gal-9 identificada en suero sea el microambiente cervicovaginal.

Aunque la Gal-9 infiltrada en el suero no provenga primordialmente del microambiente tumoral, esta proteína soluble podría tener un papel importante en la inflamación que impulsa la progresión de CaCu. Al igual que otras galectinas, la Gal-9 es considerada como una señal de patrones moleculares asociados a peligro (DAMP) (Dapat et al., 2017; Sato et al., 2009). Los DAMPs funcionan como señales protectoras de alerta al peligro, y tienen la capacidad de reclutar y regular la actividad de las células inmunes para restaurar la homeostasis inmunitaria (Sato et al., 2009). Sin embargo, en cáncer la liberación desregulada de DAMPs promueve la inflamación, e impulsa el desarrollo y progresión de tumores (Hagemann et al., 2007). Por esta razón se sugiere que la cantidad de la Gal-9 en sangre podría ser capaz de reflejar las alteraciones en la homeostasis inmunitaria de los individuos, y ha arrojado luz sobre el potencial clínico de esta proteína soluble (Niki et al., 2018). De hecho, se ha reportado que la Gal-9 sérica muestra utilidad clínica como biomarcador sensible en el tamizaje de adenocarcinoma ductal pancreático (Seifert et al., 2020). En la misma dirección,

nuestros resultados revelaron que los niveles séricos de Gal-9 mayores o iguales a 6.25 ng/mL permiten diferenciar a las pacientes con CaCu de los controles sanos con una buena sensibilidad del 80.8 %. De acuerdo con la hipótesis, la Gal-9 sérica se presenta como potencial biomarcador para el tamizaje de CaCu. Es importante destacar que la Gal-9 en formas completas consta de dos dominios de reconocimiento a carbohidratos unidos por un péptido (Nishi et al., 2006). Sin embargo, el péptido de unión de la Gal-9 es susceptible a la degradación por proteasas de la matriz extracelular, y se ha sugerido que sus formas truncadas podrían ejercer funciones diferentes a su análoga en formas intactas (Iwasaki-Hozumi et al., 2021; Padilla et al., 2020). Curiosamente, se ha informado que la Gal-9 plasmática en formas truncadas posee una mayor sensibilidad para discriminar entre los individuos infectados por el VIH, y los coinfectados con tuberculosis, en comparación con la Gal-9 plasmática en forma completa (Padilla et al., 2020). En estudios futuros, valdría la pena investigar la capacidad de los niveles de la Gal-9 en forma de longitud completa, y la Gal-9 en formas truncadas en suero para discriminar entre mujeres con citología normal y pacientes con CaCu. Estos ensayos podrían revelar biomarcadores séricos más sensibles para el tamizaje de CaCu.

TIM-3 SÉRICO EXHIBE UN RENDIMIENTO DEFICIENTE COMO BIOMARCADOR DE TAMIZAJE EN CACU

En comparación con los sueros de mujeres con citología normal, encontramos que los sueros de pacientes con CaCu muestran un aumento no significativo de los niveles de TIM-3 soluble. Además, la capacidad discriminativa de este marcador sérico fue deficiente. Por lo tanto, el uso del ensayo de TIM-3 sérico en solitario no muestra utilidad como biomarcador de tamizaje en CaCu. Estudios previos han informado que los niveles séricos de TIM-3 si encuentran notablemente incrementados en pacientes con osteosarcoma y carcinoma hepatocelular, y además presentan utilidad clínica como biomarcadores en el tamizaje de

estos tipos de cánceres (Fang et al., 2018; Ge et al., 2017). Es importante destacar que cuando inició el presente proyecto, existía evidencia contradictoria de la posible función de TIM-3 soluble sobre los linfocitos T (Geng et al., 2006; Sabatos et al., 2003). Para formular la hipótesis del presente ensayo nosotros nos inclinamos por la posible función protumoral de TIM-3 soluble. Contrario a lo esperado, no encontramos un aumento significativo de TIM-3 soluble en pacientes con CaCu. Con apoyo en nuestros resultados y en la evidencia reportada durante el curso del estudio, planteamos la posibilidad de que TIM-3 soluble podría cumplir un papel antitumoral, y que es probable que las pacientes con CaCu presenten fallas en las respuestas inmunitarias dirigidas por los linfocitos T donde participa esta proteína soluble. Los tumores de cérvix son inmunogénicos, y su desarrollo está ligado a la infección persistente por VPH de alto riesgo. En pacientes con CaCu, la infección persistente por VPH debilita las funciones de los linfocitos T CD4+ y T CD8+, y como consecuencia deteriora la inmunidad antitumoral (Konermann, 2019; Maskey et al., 2019). Además, sabemos que los linfocitos T CD4+ y T CD8+ cumplen un papel importante en la resistencia a la infección por VPH (B. H. Kim & Chang, 2019). Por lo que las vías que regulan la función de los linfocitos T CD4+ y T CD8+ han ganado interés por su potencial terapéutico en CaCu. Dentro de estas vías, se encuentra la vía TIM-3/Gal-9 que se vincula con el escape inmunológico del tumor en pacientes con CaCu y VPH positivas. La activación de este eje parece promover que los linfocitos T reguladores inhiban la función de los linfocitos T CD4+ y T CD8+. En estudios *in vitro*, se ha demostrado que el bloqueo de la vía TIM-3/Gal-9 mejora la proliferación de linfocitos T CD4+ y T CD8+. Además, restaura la capacidad de los linfocitos T CD4+ para secretar interferón- γ e interleucina-2, y de los linfocitos T CD8+ para secretar perforina y granzima B (Chen et al., 2021). Por lo tanto, se sugiere que el bloqueo de la vía TIM-3/Gal-9 podría ser una poderosa estrategia para revitalizar la

inmunidad antitumoral en CaCu. Si bien el papel de TIM-3 soluble en la vía TIM-3/Gal-9 no se ha dilucidado, se ha informado que la interacción de TIM-3 soluble con TIM-3 en la membrana de los linfocitos T CD4 + puede reactivar la función de estas células (Sabatos et al., 2003). Por lo que nosotros hipotetizamos que TIM-3 soluble podría tal vez funcionar como un regulador negativo de la vía de TIM-3/Gal-9, y ser capaz de promover la activación de los linfocitos T CD4 + y TCD8 +. Debido a que el sistema inmunitario es altamente redundante, no es de extrañar que exista evidencia de comportamientos similares para otros puntos de control inmunitarios solubles. Por ejemplo, PD1 soluble es una proteína que inhibe la activación de la vía PD-L1/PD1 (Elhag et al., 2012). La activación de este eje provoca el deterioro de la inmunidad antitumoral mediada por los linfocitos T (Chakrabarti et al., 2019). Hasta donde sabemos, solo se han probado en ratones algunos tratamientos que utilizan a PD-1 soluble, y no se ha reportado el uso de este tratamiento en seres humanos. No obstante, los modelos de ratón pueden brindar información valiosa para el diseño de futuros tratamientos antitumorales para humanos. Por ejemplo, Shin et al., 2013 diseñaron un adenovirus de modulo dual con el gen de timidina quinasa y de PD-1 soluble, y comprobaron que este es capaz de impulsar la regresión tumoral mediada por la restauración de la función de los linfocitos T CD8 + en dos modelos murinos con tumores subcutáneos. En conjunto, esta evidencia apunta al potencial terapéutico de las proteínas inmunorreguladoras como PD-1 soluble para aumentar las respuestas de los linfocitos T en pacientes con tumores malignos, y este podría ser también el caso de TIM-3 soluble. Con base en nuestros resultados y los informes reportados en la literatura, hipotetizamos que en nuestro estudio los niveles detectados de TIM-3 soluble podrían reflejar un estado permisivo de la activación de la vía de TIM-3/Gal-9 que provoca la disfunción de los linfocitos T CD4 + y T CD8 +, y en consecuencia favorece la progresión de CaCu. Por lo que sería interesante demostrar si el

aumento de TIM-3 soluble en ratones con tumores de cérvix podría restaurar la función de los linfocitos T CD4 + y T CD8 +. Estos estudios revelarían la posible capacidad de TIM-3 soluble para revitalizar la inmunidad antitumoral, y arrojarían luz sobre su potencial terapéutico en CaCu.

LOS NIVELES SÉRICOS DE TIM-3 Y GAL-9 SE CORRELACIONAN POSITIVAMENTE EN MUJERES CON CITOLOGÍA NORMAL Y PACIENTES CON CACU

En línea con la hipótesis, demostramos que los niveles séricos de TIM-3 y Gal-9 se correlacionan positivamente en mujeres con citología normal y pacientes con CaCu. Esto está respaldado por estudios anteriores que informan sobre la correlación positiva de los niveles plasmáticos de TIM-3 y Gal-9 en pacientes con leucemia mieloide aguda, y donantes sanos (Gonçalves Silva et al., 2017). Interesantemente, existe evidencia de la presencia de Gal-9 y TIM-3 en exosomas circulantes en sangre periférica. La correlación positiva de los niveles plasmáticos de TIM-3 y Gal-9 en forma libre y exosomal en pacientes con cáncer de pulmón de células no pequeñas, ha sido notificada anteriormente por Gao et al., (2018). Además, nosotros observamos diferentes niveles de correlación de TIM-3 y Gal-9 séricos para pacientes con CaCu ($R^2= 0.1374$), y mujeres con citología normal ($R^2= 0.7813$). Bajo condiciones fisiológicas normales, TIM-3 soluble y Gal-9 guardan una correlación fuerte, que podría indicar un estado de homeostasis inmunitaria. En CaCu, la relación lineal entre TIM-3 soluble y Gal-9 muestra una menor fuerza, que podría reflejar alteraciones del equilibrio inmunitario específicas de la enfermedad. Estudios anteriores han informado que los niveles de correlación de TIM-3 y Gal-9 plasmáticos son parecidos en pacientes con leucemia mieloide aguda ($R^2= 0.6449$), y en controles negativos a la enfermedad ($R^2= 0.6858$) (Gonçalves Silva et al., 2017). En cáncer de pulmón de células no pequeñas, se reportó un nivel de correlación de $R^2= 0.6932$ para Gal-9 y TIM-3 en forma libre, y de $R^2=$

0.4434 para Gal-9 y TIM-3 en forma exosomal (Gao et al., 2018). Vale la pena señalar que los exosomas presentes en la sangre son un subconjunto de vesículas extracelulares secretadas por células inmunes o no inmunes, que se vinculan estrechamente con la regulación de las respuestas inmunitarias (Qiu et al., 2021). En cáncer, los exosomas funcionan como moléculas de señalización que promueven la metástasis, y la resistencia al tratamiento (Jie Dai et al., 2020). Los exosomas portadores de moléculas inmunorreguladoras son capaces de evadir el sistema inmune, y dirigirse a células específicas, lo que convierte a estas vesículas en prometedores vehículos de fármacos para terapias dirigidas (Mosquera-Heredia et al., 2021). Recomendamos indagar en las correlaciones entre los niveles séricos de Gal-9 y TIM-3 en forma exosomal en mujeres con citología normal, y pacientes con CaCu. Los estudios propuestos podrían arrojar diferencias interesantes de las correlaciones de los niveles séricos de Gal-9 y TIM-3 en forma exosomal bajo condiciones normales, y condiciones patológicas como CaCu. También estos ensayos podrían posibilitar la identificación de nuevos portadores de fármacos para el tratamiento dirigido de la enfermedad.

EL ÍNDICE SÉRICO DE GAL-9/TIM-3 MUESTRA POTENCIAL COMO BIOMARCADOR EN EL TAMIZAJE DE CACU

De acuerdo con lo propuesto, los resultados indicaron que los sueros de pacientes con CaCu exhiben mayores niveles de la proporción sérica de Gal-9/TIM-3 (46:1), con respecto a los controles sanos (31:1). Previo a nuestro trabajo se identificaron diferencias entre las proporciones de ambas proteínas solubles en sus formas libres, y ancladas en exosomas circulantes a nivel sistémico. Gao et al., (2018) reportaron una proporción sérica de Gal-9/TIM-3 en forma libre de 3.4:1, y de Gal-9/TIM-3 exosomal de 50:1 en plasma sanguíneo de pacientes con cáncer de pulmón de células no pequeñas. Diversas proteínas ancladas en

los exosomas han demostrado tener una buena capacidad para distinguir entre controles sanos, y pacientes con cáncer. Por tal motivo estos marcadores proteicos en los exosomas han proporcionado novedosas herramientas no invasivas en la detección temprana de tumores (B. Zhou et al., 2020). Hay que destacar que sería interesante explorar si existen diferencias en las proporciones séricas de Gal-9/TIM-3 en forma exosomal en la sangre de mujeres con citología normal y pacientes con CaCu. Estos estudios podrían revelar si existe un aumento específico de la proporción de Gal-9/TIM-3 en forma exosomal en CaCu, y su posible potencial clínico como biomarcador para el tamizaje de la enfermedad.

En el presente trabajo, nosotros introducimos un novedoso índice basado en la proporción sérica de Gal-9 y TIM-3, y le atribuimos el nombre de índice sérico de Gal-9/TIM-3. Al comprobar la capacidad de este nuevo índice sérico, nos percatamos que sus niveles permiten distinguir entre pacientes con CaCu, y mujeres con citología normal con una buena sensibilidad del 88.5 %. Hasta donde sabemos, reconocimos por primera vez que el índice sérico de Gal-9/TIM-3 muestra potencial como biomarcador para el tamizaje de CaCu. Como se discutirá a mayor profundidad en los siguientes estudios, existe evidencia que respalda las propiedades antiinflamatorias de Gal-9, y proinflamatorias de TIM-3 soluble sobre células del sistema inmune (Sabatos et al., 2003; C. Zhu et al., 2005). Lo que nos lleva a sugerir que el parámetro propuesto del índice sérico de Gal-9/TIM-3 con propiedades antiinflamatorias y proinflamatorias podría ser capaz de reflejar el equilibrio inflamatorio. Por lo tanto, recomendamos realizar estudios de seguimiento prospectivo del índice sérico de Gal-9/TIM-3 durante la progresión, y tratamiento de pacientes con CaCu. Los ensayos propuestos permitirían capturar los cambios del equilibrio inflamatorio mediado por Gal-9 y TIM-3 soluble en las diferentes etapas tumorales, y ante la exposición al tratamiento.

También estos podrían revelar si el índice sérico de Gal-9/TIM-3 muestra valor clínico como biomarcador de seguimiento, y de respuesta a tratamiento para CaCu.

Basándonos en las observaciones del estudio de casos y controles, la Gal-9 sérica, y el índice sérico de Gal-9/TIM-3 exhiben valor clínico como biomarcadores de tamizaje en CaCu. A raíz de la baja sensibilidad de las pruebas actuales de tamizaje para la detección de la enfermedad ([Nkwabong et al., 2019](#); [S. Zhang et al., 2020](#)), nosotros proponemos el uso de otras pruebas complementarias como el ensayo de Gal-9 sérica, y del índice sérico de Gal-9/TIM-3 en el tamizaje para CaCu. La implementación de las pruebas propuestas en combinación con el Papanicolaou permitiría aumentar la sensibilidad del tamizaje de CaCu, y como consecuencia posibilitaría la identificación de las pacientes con la enfermedad en etapas más tempranas. Es de destacar que la concentración de Gal-9 y TIM-3 en suero o plasma puede verse afectada por afecciones subyacentes como infecciones virales, diferentes tipos de cáncer, entre otros ([Bozorgmehr et al., 2021](#); [Chiba et al., 2017](#); [Fang et al., 2018](#); [Moar & Tandon, 2021](#); [Wdowiak et al., 2019](#); [Zilber et al., 2019](#)). Dada la reducida especificidad del ensayo de Gal-9 sérica e índice de Gal-9/TIM-3 para CaCu, los resultados obtenidos de estas pruebas requerirían de la implementación de protocolos posteriores al tamizaje. Estos se conformarían por una serie de análisis adicionales que permitan confirmar la sospecha de malignidad en el cérvix. El resultado obtenido de la prueba conjunta compuesta por el ensayo de Gal-9 sérica, índice sérico de Gal-9/TIM-3, y el Papanicolaou dictaría el protocolo para el manejo clínico y seguimiento de la paciente. Si los resultados de la prueba conjunta fueran normales, la paciente continuaría con el programa de tamizaje rutinario. Si los resultados de la prueba conjunta arrojarán valores fuera de los umbrales normales de Gal-9 sérica, y del índice sérico de Gal-9/TIM-3, pero con resultados de

Papanicolau normales se recomendaría el uso de colposcopia para verificar posibles cambios malignos en el cérvix. Posterior a la colposcopia, si los resultados citológicos fueran normales se aconsejaría ejecutar programas de vigilancia por periodos más cortos a los recomendados para el tamizaje de rutina. En el caso opuesto, que el análisis colposcópico exhibiera resultados citológicos anormales se sugeriría realizar la examinación histopatológica de una biopsia del tejido del cérvix para determinar o descartar el diagnóstico de CaCu

ESTUDIO TRANSVERSAL

El CaCu es la cuarta neoplasia maligna más diagnosticada en la mujer a nivel mundial (Sung et al., 2021). En países desarrollados, aproximadamente el 66 % de las mujeres afectadas por CaCu sobreviven más de 5 años. En cambio, en países en vías de desarrollo la supervivencia a 5 años es menor al 50 % (Wassie et al., 2019). La mejora de la supervivencia depende en gran medida de la información pronóstica disponible en el momento del diagnóstico, y su utilidad para orientar la toma de decisiones clínicas en las pacientes con CaCu. Actualmente la predicción del pronóstico individual en CaCu se realiza con ayuda de factores específicos del tumor, y esta información sobre el riesgo pronóstico permite a los médicos orientar la selección del tratamiento y programas de seguimiento de las pacientes (He et al., 2021; Ma et al., 2018). Entre los factores asociados con el pronóstico en CaCu se incluye al tamaño, tipo histológico, grado de diferenciación, y queratinización del tumor (L. Cao et al., 2019; Sanjeev Kumar et al., 2009; Kyung et al., 2015; Matsuo et al., 2018). Aunque estos factores pueden influir en los resultados clínicos y tasas de recurrencia de las pacientes, la estadificación FIGO continúa siendo el principal factor pronóstico en CaCu (Grigsby et al., 2020; L. Xie et al., 2020). No obstante, la predicción pronóstica de este sistema puede ser poco precisa si la paciente tiene una enfermedad inflamatoria pélvica, endometriosis,

obesidad, o estadios avanzados (S. Li et al., 2016; Ma et al., 2018). Además, se han reportado diferentes tasas de supervivencia en pacientes con el mismo estadio clínico (Feng et al., 2021). Por lo tanto, existe una demanda urgente por descubrir nuevos biomarcadores que puedan proporcionar información pronóstica confiable en CaCu. La medicina de precisión propone la identificación de múltiples biomarcadores de pronóstico para determinar los resultados clínicos a largo plazo de manera más precisa. Esta estrategia promete identificar a los individuos de mayor riesgo, impulsar la toma asertiva de decisiones terapéuticas, y como resultado mejorar la esperanza de vida de las pacientes (Olivier et al., 2019). La inflamación y anemia son importantes determinantes del pronóstico en CaCu (Dunst et al., 2003; H. Huang et al., 2019). En consecuencia, los indicadores sanguíneos asociados con estos procesos como las proteínas solubles de TIM-3 y Gal-9, y marcadores de anemia e inflamación han atraído un gran interés en la predicción pronóstica de pacientes con cáncer (Fang et al., 2018; Sideras et al., 2019; C. Zhao et al., 2020). En vista de ello, nuestro grupo de investigación determinó el valor clínico de firmas sanguíneas, e índices basados en TIM-3, Gal-9, y marcadores de anemia e inflamación en pacientes con CaCu. Esto con la intención de brindar potenciales candidatos a biomarcadores de pronóstico de la enfermedad.

EXISTEN CORRELACIONES DE LOS NIVELES EN SANGRE DE GAL-9 Y TIM-3, Y DE LOS MARCADORES DE ANEMIA E INFLAMACIÓN DE PACIENTES CON CACU

El estudio actual muestra clara evidencia de la correlación positiva de los niveles en sangre de TIM-3 y Gal-9, y de neutrófilos, neutrófilos/plaquetas, neutrófilos/linfocitos, y PIV $[(\text{plaquetas} \cdot \text{neutrófilos} \cdot \text{monocitos}) / (\text{linfocitos})]$. También que existen correlaciones positivas de TIM-3 soluble con los niveles de monocitos, y monocitos/linfocitos en sangre periférica de pacientes con CaCu. Informes previos han demostrado que Gal-9 provoca la muerte celular de los linfocitos Th1 a través de TIM-3 en la membrana (C. Zhu et al., 2005).

Opuesto, TIM-3 soluble recombinante genera la activación de los linfocitos Th1 (Sabatos et al., 2003). De manera similar, Gal-9 polariza a los monocitos hacia un fenotipo protumoral M2 (Enninga et al., 2016). En contraste, se informó que TIM-3 soluble recombinante inhibe la activación de monocitos posiblemente mediante la inducción de autofagia (Y. Yang et al., 2020). Juntos, estos hallazgos indican que tal vez Gal-9 podría estar implicada en la inflamación como un mediador antiinflamatorio. Aunque escasamente estudiado, se ha determinado que Gal-9 en interacción con TIM-3 en la membrana de los neutrófilos genera su desgranulación. En cambio, el bloqueo con anticuerpos de TIM-3 en membrana de neutrófilos, reduce el efecto producido por Gal-9 (Vega-Carrascal et al., 2014). Un aspecto que ha recibido aún menos atención es la relación de Gal-9 y TIM-3 soluble con las plaquetas. Se ha divulgado que Gal-9 regula positivamente la producción de plaquetas en ratones (Mitomo et al., 2017). En cuanto a la relación de TIM-3 y las plaquetas, se han reportado polimorfismos de nucleótido único dentro del gen TIM-3 que podrían contribuir a la susceptibilidad genética a la trombocitemia esencial (F. Han et al., 2017). Este es un trastorno que conduce a la producción de una cantidad anormalmente alta de plaquetas (Pedersen et al., 2018). Con base en los datos obtenidos y los ya publicados, las correlaciones positivas podrían indicar que Gal-9 activa una respuesta antiinflamatoria impulsada por los mediadores celulares de neutrófilos, monocitos, linfocitos, y plaquetas. En cambio, TIM-3 soluble podría estar generando una contra respuesta proinflamatoria para restaurar la homeostasis inmunitaria. Para confirmarlo se necesitan más trabajos *in vitro* que permitan caracterizar el papel proinflamatorio de TIM-3 soluble, y antiinflamatorio de Gal-9 sobre las células sanguíneas.

RDW es un biomarcador discriminativo de anemia. Este refleja la heterogeneidad del tamaño de los eritrocitos, o anisocitosis (Ai et al., 2018; Sarkar et al., 2021). En cáncer, los niveles altos de RDW se asocian con una peor supervivencia de los pacientes (Hsueh et al., 2019; Zheng Li et al., 2017; Pedrazzani et al., 2020). Nuestros datos proporcionaron un vínculo no reconocido previamente de la relación lineal positiva de Gal-9 sérica y RDW en sangre de pacientes con CaCu. En estudios anteriores, se ha observado la correlación positiva de Gal-3 sérica y RDW en pacientes con probabilidad media-alta de tener síndrome coronario agudo (Lippi et al., 2014). Además, en pacientes con cáncer se ha informado que Gal-9 y Gal-3 séricas se asocian positivamente con la proteína C reactiva, que es un reconocido biomarcador inespecífico de inflamación (Mei-yan Liang et al., 2008; Shimura et al., 2016). Curiosamente, también se ha informado sobre el posible papel de las galectinas en la anemia. Por ejemplo, Gal-3 parece participar en el desarrollo de anemia asociada a inflamación durante la tripanosomiasis africana, y se sugiere que esta proteína soluble podría vincularse con la alteración del metabolismo de hierro (Ann et al., 2010). Además, Shimura et al., (2016) demostraron en pacientes con cáncer colorrectal que Gal-3 sérica se correlaciona negativamente con la transferrina, que corresponde a una proteína transportadora específica del hierro. Es de destacar que las funciones de los miembros de la familia de galectinas son altamente redundantes, por lo que Gal-9 podría tener una función similar en la inducción de la anemia. Con base en nuestros resultados y los ya publicados, hipotetizamos que la Gal-9 sérica podría estar vinculada con el desarrollo del estado anémico inducido por inflamación en las pacientes con CaCu. Debido a que la anemia ferropénica influye negativamente en el pronóstico de pacientes con CaCu (Candelaria et al., 2005; Wassie et al., 2021), sería interesante profundizar en la relación de la Gal-9 sérica y el metabolismo de hierro. Estos estudios permitirían entender si esta galectina participa en procesos inflamatorios que

promuevan este tipo específico de anemia por deficiencia de hierro sérico en pacientes con CaCu.

LOS NIVELES EN SANGRE DE MARCADORES DE ANEMIA E INFLAMACIÓN SE RELACIONAN CON LAS CARACTERÍSTICAS CLÍNICO-HISTOPATOLÓGICAS DE PEOR PRONÓSTICO DE PACIENTES CON CACU

Nuestros resultados evidenciaron que la sangre de pacientes con estadio IV exhibe mayores niveles de plaquetas, y de plaquetas/linfocitos en comparación con la sangre de pacientes con estadios tumorales más tempranos. De acuerdo con la hipótesis, encontramos relaciones entre los estadios FIGO, y los niveles de dos marcadores de inflamación. Los resultados del estudio son consistentes con otros informes que reportan un aumento de plaquetas, y plaquetas/linfocitos conforme progresan las etapas de tumores de cérvix ([H. Wang et al., 2020](#); [L. Wang et al., 2017](#)). Referente al valor pronóstico, se ha divulgado que los altos niveles de plaquetas, y plaquetas/linfocitos se vinculan con tasas bajas de supervivencia en pacientes con CaCu ([Kozasa et al., 2017](#); [H. Wang et al., 2020](#)). Las plaquetas son reservorios importantes de factores de crecimiento y citocinas que promueven la angiogénesis, invasión, y metástasis del tumor ([Palacios-Acedo et al., 2019](#)). En contraste, los linfocitos inhiben la proliferación y metástasis de las células tumorales ([H. Zhao et al., 2021](#)). Por eso el parámetro de plaquetas/linfocitos es capaz de reflejar los cambios en el equilibrio inmunitario entre las respuestas inflamatorias dirigidas por las plaquetas, y las respuestas antitumorales coordinadas por los linfocitos. En nuestro estudio, los resultados obtenidos podrían señalar la activación continua de procesos inflamatorios dirigidos por el aumento de plaquetas, y disminución de linfocitos a medida que avanza la enfermedad. Además, la inflamación coordinada por el aumento de plaquetas y la disminución de los linfocitos podría indicar un

importante colapso de la vigilancia antitumoral durante la etapa FIGO IV en las pacientes con CaCu.

Nuestros datos también mostraron que las pacientes con estadio IV poseen menores niveles en sangre de hemoglobina, hematocrito, HCM, CHCM, y VCM con respecto a las pacientes con etapas clínicas más tempranas. En línea con lo propuesto, hallamos relaciones entre los estadios FIGO, y los niveles en sangre de cuatro marcadores de anemia. Lo anterior concuerda con reportes que indican que la hemoglobina disminuye en etapas avanzadas de los tumores de cérvix ([L. Wang et al., 2017](#)). En cuanto al valor pronóstico, se ha demostrado que los niveles <9 g/dL de hemoglobina se asocian con una peor supervivencia en pacientes con CaCu ([Khamis et al., 2021](#)). En nuestro estudio, las relaciones identificadas entre el estadio IV FIGO, y los cuatro marcadores de anemia previo al tratamiento podrían deberse a múltiples factores. Por ejemplo, el crecimiento tumoral genera desnutrición, y la falta de componentes esenciales conduce a una baja producción de eritrocitos ([Natalucci et al., 2021](#)). También sabemos que las hemorragias abundantes inducidas por el tumor generan una reducción de los depósitos de hierro ([Busti et al., 2018](#)). Es de destacar que en nuestro estudio las pacientes con estadio IV también presentaron altos niveles de inflamación. De acuerdo con esto, se sabe que la inflamación puede generar importantes alteraciones en el metabolismo de hierro ([Weiss et al., 2019](#)). En conjunto, los factores mencionados podrían estar promoviendo defectos en la eritropoyesis, y en consecuencia propiciando el desarrollo de anemia durante el estadio FIGO IV en CaCu.

Nuestros hallazgos revelaron que la sangre de pacientes con tumores >6 cm arrojaron mayores niveles de leucocitos, neutrófilos, eosinófilos, monocitos, plaquetas, neutrófilos/plaquetas, y PIV $[(\text{Neutrófilos} \cdot \text{Plaquetas} \cdot \text{Monocitos}) / (\text{Linfocitos})]$, en

comparación con la sangre de pacientes con tumores de menor tamaño. Como se esperaba, encontramos relaciones entre el tamaño de tumor de cérvix, y los niveles de siete marcadores de inflamación. De manera consistente con nuestros datos, se ha informado que los niveles en sangre de plaquetas y neutrófilos son sustancialmente mayores en pacientes con tumores de cérvix >6 cm en comparación con aquellas con tumores de cérvix más pequeños (H. Wang et al., 2020). La inflamación tiene un papel promotor en el crecimiento del tumor, y en la supresión de la inmunidad antitumoral (Grivennikov et al., 2011). La presencia de citocinas y quimiocinas en el sitio local atrae a las células inflamatorias desde el torrente sanguíneo al microambiente tumoral mediante la quimiotaxis (Wilkie & Aktar, 2020). Una vez en el sitio tumoral, las células inmunitarias y sanguíneas relacionadas con la inflamación pueden promover o inhibir el crecimiento del tumor (Grivennikov et al., 2011). Si las células tumorales no logran ser reconocidas y eliminadas por las células implicadas en la respuesta antitumoral, esto dará lugar a un estado de inflamación crónica. En consecuencia, las células implicadas en las respuestas inflamatorias promoverán la proliferación, migración, e invasión del tumor (H. Zhao et al., 2021). De acuerdo con los reportes previos y nuestros resultados, el aumento de la inflamación dirigida por neutrófilos, monocitos, eosinófilos, y plaquetas podría estar señalando que los tumores >6 cm impulsan un importante deterioro de la inmunidad antitumoral en las pacientes con CaCu.

El ensayo reveló que las pacientes con tumores de cérvix >6 cm exhiben menores niveles en sangre de hemoglobina, y hematocrito con respecto a las pacientes con tumores de cérvix más pequeños. De acuerdo con la noción inicial, hallamos vínculos entre el tamaño del tumor de cérvix, y los niveles de dos marcadores de anemia. Aunque no está documentado el mecanismo implicado de nuestras observaciones, se sabe que la inflamación altera el

tráfico de hierro, lo que conduce a la retención de este elemento por los monocitos (Natalucci et al., 2021; Weiss et al., 2019). Interesantemente, en nuestro estudio apreciamos que las pacientes con tumores de cérvix >6 cm también exhiben altos niveles en sangre de monocitos. Es de destacar que el reciclaje de eritrocitos senescentes por los monocitos/macrófagos cubre el 90 % de las necesidades diarias de hierro. En condiciones inflamatorias, el aumento del secuestro de hierro por los monocitos/macrófagos provoca una reducción de la síntesis de hemoglobina, y de la producción de eritrocitos (Weiss et al., 2019). Por lo tanto, proponemos la hipótesis de que el incremento de la inflamación dirigida por monocitos podría estar reduciendo la entrega de hierro necesaria, y como resultado promoviendo progresivamente un estado anémico en las pacientes con tumores de cérvix >6 cm.

Nuestro estudio reveló que la sangre de pacientes con carcinoma de células escamosas muestra mayores niveles de eosinófilos que la sangre de pacientes con adenocarcinomas. Interesantemente, el aumento de eosinófilos en sangre se ha reportado principalmente en pacientes con cánceres de origen escamoso (Nishikawa et al., 2021; Siddiqui et al., 2020; X. Yang et al., 2021). En CaCu, Yamazaki et al., (2005) informó que las pacientes con altos niveles de eosinófilos en sangre muestran una mejor supervivencia específica de la enfermedad. También se reconoce que los tumores de carcinomas de células escamosas de cérvix muestran un mejor pronóstico que el resto de los tipos histológicos, incluidos los adenocarcinomas de cérvix (L. Cao et al., 2019). No obstante, la razón biológica por la cual incrementan los eosinófilos en sangre de pacientes con tumores de células escamosas de cérvix permanece desconocida. Los eosinófilos son células inmunitarias que pueden desempeñar funciones protumorales o antitumorales, pero estas parecen depender de su activación y polarización (Carretero et al., 2015; Varricchi et al., 2018). En un modelo de

melanoma, [Carretero et al., \(2015\)](#) demostraron que los eosinófilos secretan a las quimiocinas CCL5, CCL9, y CXCL10, y estas son esenciales para el reclutamiento de los linfocitos T CD8 al microambiente tumoral. Sin embargo, es posible que el comportamiento observado solo incluya a los eosinófilos activados por factores que son parte de una respuesta Th1. Por otro lado, se ha reportado que una mayor infiltración estromal de linfocitos T CD8 en tejido de carcinoma de células escamosas de cérvix se asocia con un mejor pronóstico de vida ([Mori et al., 2021](#)). Tomando en consideración los datos anteriores, nosotros especulamos que los altos niveles en sangre de eosinófilos podrían reflejar una mayor fuerza de la respuesta antitumoral en las pacientes con carcinomas de células escamosas de cérvix.

Nuestro análisis comparativo señaló que la sangre de pacientes con tumores de cérvix queratinizantes presenta mayores niveles de eosinófilos, y eosinófilos/linfocitos que la sangre de pacientes con tumores de cérvix no queratinizantes. Los datos también mostraron que la sangre de pacientes con tumores de cérvix poco diferenciados arrojó niveles más elevados de eosinófilos, y eosinófilos/linfocitos con respecto a la sangre de pacientes con tumores de cérvix con grados de diferenciación superiores. Estos últimos dos resultados confirman las relaciones obtenidas en pacientes con carcinoma escamoso oral por [Verma et al., \(2020\)](#). Cabe señalar que los mecanismos subyacentes a la relación de los niveles sanguíneos de eosinófilos y linfocitos con el grado de diferenciación, y queratinización del tumor de cérvix se desconocen. Estudios previos han demostrado que el bajo grado de diferenciación, y el alto contenido de queratina en tumores de cérvix se asocian con un peor pronóstico de vida ([Sanjeev Kumar et al., 2009](#); [Matsuo et al., 2018](#)). De acuerdo con esto, se ha evidenciado que la disminución del grado de diferenciación de tumores se vincula con la pérdida de las uniones estrechas de las células epiteliales, y en consecuencia favorece la metástasis ([Martin](#)

& Jiang, 2009). Asimismo, en un análisis del Atlas del Genoma del Cáncer se informó que los tumores con alta queratina se relacionan con la señalización de PI3K/AKT (TCGAN, 2017), y la activación aberrante de esta vía da lugar a fenotipos más agresivos de las células tumorales (Bossler et al., 2019). Por estos motivos sugerimos que es posible que los tumores de cérvix con bajos grados de diferenciación, y aquellos con alto contenido de queratina impulsen microambientes tumorales notoriamente inflamatorios. Los eosinófilos bajo estímulos proinflamatorios pueden activarse y polarizarse adquiriendo funciones protumorales (Grisaru-Tal et al., 2020). Informes previos han divulgado que los eosinófilos favorecen directamente la migración de células tumorales, y la formación de metástasis mediante la secreción de CCL6, pero el efecto de estas células sobre la inmunidad antitumoral no queda claro (F. Li et al., 2021). Tomando en cuenta lo expuesto anteriormente, una hipótesis potencial a nuestras observaciones es que el aumento de malignidad mediado por los eosinófilos podría señalar un importante estado de inmunosupresión en las pacientes con tumores de cérvix con baja diferenciación, y alto contenido de queratina.

Dentro de los hallazgos claves del actual ensayo, encontramos que el crecimiento del tumor de cérvix impulsa importantes alteraciones en la sangre periférica. En particular, nos percatamos que se presenta un notable aumento de la inflamación, y anomalías hematológicas asociadas con el desarrollo de anemia en pacientes con estadio IV, y con tumores de cérvix >6 cm. Es de destacar que el balance del hierro y la normoxia son importantes determinantes de la eritropoyesis funcional (Renassia & Peyssonnaud, 2019). De ahí que aconsejemos estudiar también los cambios en los niveles de intermediarios claves del metabolismo de hierro, y factores de hipoxia conforme crece el tumor de cérvix. Los estudios propuestos podrían revelar si las variaciones en la importación de hierro, y en los niveles de oxígeno en

sangre se relacionan con las alteraciones hematológicas distintivas de anemia e inflamación observadas en nuestros estudios, y como estas en conjunto impulsan la progresión de los tumores de cérvix.

La mayoría de los estudios se han enfocado en el posible efecto antitumoral de los eosinófilos en cáncer, y solo unos cuantos estudios presentan puntos de vista opuestos (Carretero et al., 2015; Varricchi et al., 2018). En el presente ensayo identificamos que el conteo total de eosinófilos muestra relaciones contradictorias de acuerdo con el pronóstico de las características histopatológicas evaluadas. Esto se debe a que no cuantificamos a los eosinófilos de acuerdo con su activación Th1 (clásica) o Th2 (alternativa), y el conteo absoluto no nos permite diferenciar entre estos. Por lo tanto, recomendamos indagar en la relación de los niveles de eosinófilos de sus fenotipos funcionales E1 y E2 en sangre periférica con el tipo histológico, grado de diferenciación, y queratinización del tumor en pacientes con CaCu. Estos estudios podrían aclarar nuestras observaciones, y soportar la posible función dual de los eosinófilos en CaCu.

LOS NIVELES SÉRICOS DE GAL-9 SE RELACIONAN CON EL TAMAÑO TUMORAL EN PACIENTES CON CACU

Nuestros resultados demostraron que existe una asociación aún no reportada entre los niveles séricos de Gal-9, y el tamaño de tumor de cérvix. Particularmente, nos percatamos que los niveles de Gal-9 se encuentran notablemente incrementados en el suero de pacientes con tumores de cérvix >6 cm en comparación con el suero de aquellas con tumores de cérvix de menor tamaño. De manera semejante, en cáncer de pulmón de células no pequeñas se ha observado que los niveles de Gal-9 anclada a exosomas son mayores en plasma de pacientes con tumores >3 cm con respecto al plasma de aquellos con tumores más pequeños (Gao et

al., 2018). La correlación positiva entre los niveles de Gal-9 plasmáticos, y el volumen del tumor en ratones inmunodeficientes con xenoinjertos de carcinoma nasofaríngeo humano ha sido descrita anteriormente por [Klibi et al., \(2009\)](#). Aunque se sabe poco sobre el patrón entre los niveles de Gal-9 en suero y de expresión en tumores, se ha reportado que los altos niveles de Gal-9 en suero, y en tejido tumoral se asocian con una peor supervivencia general de pacientes con carcinoma nasofaríngeo ([C. Zhang et al., 2020](#)). Es de destacar que la función de Gal-9 tisular en la progresión tumoral sigue siendo un tema controversial. Existen informes que soportan evidencia sobre la relación del aumento de la expresión de Gal-9 en tumores, y el potencial maligno ([Fu et al., 2015](#); [T. Liang et al., 2019](#); [Ramírez-Díaz, 2021](#); [Xu et al., 2018](#)). Otros autores especulan que la pérdida de expresión de Gal-9 en tejido tumoral desencadena procesos implicados en la progresión tumoral ([Y. Liu et al., 2017](#); [Y. Wang et al., 2016](#); [J. Yang et al., 2014](#)). En CaCu, se ha informado que la expresión de Gal-9 en los tejidos tumorales de cérvix se encuentra disminuida con respecto a los tejidos de cérvix sanos ([Meiyan Liang et al., 2008](#)). Con base en los reportes anteriores y nuestros resultados, sugerimos que el papel de Gal-9 en el crecimiento tumoral podría ser diferente según su origen, y ubicación celular.

En el caso de CaCu, es probable que Gal-9 sérica provenga principalmente de las células inmunes o no inmunes, y en menor proporción del sitio local del tumor. De acuerdo con esto, se ha reportado que la concentración de Gal-9 en el moco cervical arrojó un valor medio de 2003.0 pg/mL para pacientes con tumores invasivos, de 1997.1 pg/mL para tumores con diseminación local, y de 1313.7 pg/mL para tumores metastásicos ([Kayukova et al., 2021](#)). Estos resultados sugieren que la concentración de Gal-9 extracelular en el microambiente cervicovaginal muestra una tendencia a la disminución conforme progresa el

tumor de cérvix, y aumenta su malignidad. Aunque la fuente de Gal-9 sérica no sea el microambiente tumoral, esta podría estar implicada en las perturbaciones del macroambiente sistémico que deterioran la vigilancia antitumoral. En nuestro estudio, el aumento sustancial de la Gal-9 en suero de pacientes que poseen tumores >6 cm podría señalar fallas importantes en la respuesta antitumoral inducidas por esta proteína soluble. De hecho, se ha documentado la función inmunosupresora de la Gal-9 extracelular al inducir la apoptosis de los linfocitos T, y estas son células críticas en la vigilancia inmunitaria (Kashio et al., 2003; C. Zhu et al., 2005). En cambio, la pérdida de expresión de la Gal-9 en las células tumorales de cérvix podría contribuir a la progresión tumoral. Zhang et al., (2012) informaron que la regulación a la baja de la expresión de la Gal-9 en células de carcinoma hepatocelular aumenta notoriamente la proliferación, adhesión, e invasión de estas células. Para investigar más a fondo, sería importante realizar estudios que permitan evaluar si la regulación a la baja de Gal-9 en células tumorales de cérvix promueve la activación de procesos celulares implicados en el crecimiento maligno, e invasión. Además, evaluar los efectos de Gal-9 extracelular sobre la función y secreción de citocinas de células implicadas en la vigilancia inmunitaria. Estos estudios podrían dilucidar cómo la pérdida de Gal-9 tisular, y alta concentración de Gal-9 sérica orquestan progresivamente la proliferación e invasión de las células tumorales de cérvix.

LOS NIVELES SÉRICOS DE TIM-3 SE RELACIONAN CON LA QUERATINIZACIÓN DE TUMORES EN PACIENTES CON CACU

Nuestros resultados indicaron que los niveles de TIM-3 son sustancialmente menores en suero de pacientes con tumores de cérvix queratinizantes en comparación con el suero de aquellos con tumores de cérvix no queratinizantes. Este es el primer trabajo que proporciona evidencia de la asociación de los niveles séricos de TIM-3 y la queratinización de tumores

en pacientes con CaCu. No obstante, los mecanismos subyacentes de nuestras observaciones permanecen desconocidos. Informes previos han sugerido que el potencial maligno de los tumores de cérvix con alta queratina se vincula con un salto en las etapas del desarrollo histológico de CaCu que va directo del estado normal o displásico a un carcinoma invasivo, sin pasar por el estado de carcinoma *in situ* (Bangle et al., 1963). Este atajo en la morfogénesis de CaCu podría explicar la rápida progresión y alto grado de agresividad de los tejidos de cérvix queratinizantes. La relación de los tejidos queratinizantes y las formas proteicas de TIM-3 no se han descrito, pero sus funciones biológicas podrían ser diferentes de acuerdo con su ubicación celular. La alta expresión de TIM-3 en tumores de cérvix se ha asociado con estados más avanzados, mayor potencial metastásico, y una peor supervivencia general de las pacientes con CaCu. En una dirección similar, se ha demostrado que la regulación a la baja del gen de TIM-3 de las células tumorales de cérvix se relaciona directamente con la inhibición de la migración, y la invasión de estas células (Y. Cao et al., 2013). En contraste, se ha divulgado que TIM-3 soluble ejerce la regulación negativa de la función inmunosupresora de su análogo en la membrana celular (Sabatos et al., 2003). De acuerdo con esto, se ha informado que la concentración de TIM-3 soluble en el moco cervical arrojó una media de 74.6 pg/mL para tumores invasivos, de 59.2 pg/mL para tumores con diseminación local, y de 52.8 pg/mL para tumores metastásicos (Kayukova et al., 2021). Estos resultados indican que la concentración de TIM-3 soluble en el microambiente cervicovaginal disminuye conforme progresa el tumor de cérvix, y aumenta su potencial maligno. Tomados en conjunto, nosotros sugerimos que la disminución de TIM-3 soluble en suero de pacientes con tumores de cérvix queratinizantes podría indicar un estado permisivo de la función de su análogo en membrana ante una vigilancia antitumoral deficiente. Por esta razón sería prometedor confirmar si los tumores queratinizantes poseen mayores niveles de

expresión de TIM-3 con respecto a los tumores no queratinizantes. Además, indagar en la capacidad de TIM-3 soluble para inhibir la migración e invasión de las células tumorales de cérvix a través de su análogo en la membrana de estas células. Estos análisis podrían explicar cómo la baja concentración de TIM-3 en suero, y la alta expresión de TIM-3 en tumores de cérvix queratinizantes contribuyen a la rápida progresión que experimentan las pacientes que poseen este tipo de tejidos tumorales.

LAS FIRMAS SANGUÍNEAS Y LOS ÍNDICES BASADOS EN TIM-3, GAL-9, Y MARCADORES DE ANEMIA E INFLAMACIÓN SE ASOCIAN CON EL TAMAÑO Y QUERATINIZACIÓN DEL TUMOR EN PACIENTES CON CACU

Los datos aquí mostrados indicaron que existen firmas sanguíneas basadas en los niveles de Gal-9 y marcadores de anemia e inflamación en pacientes con tumores de cérvix ≤ 6 cm, y >6 cm. En el presente estudio introducimos 7 novedosos índices basados en Gal-9 y marcadores de anemia e inflamación. Además, demostramos que estos índices se asocian de manera significativa y específica con el tamaño de tumor en pacientes con CaCu. Sin embargo, todavía no se han determinado los mecanismos que subyacen a nuestras observaciones. Informes previos han reportado que los tumores de cérvix >6 cm exhiben un peor pronóstico en comparación con los tumores de menor dimensión ([Kyung et al., 2015](#)). Además, se reconoce que el tamaño de la dimensión mayor del tumor previo al tratamiento se asocia con la fuerza de la respuesta antitumoral en pacientes con cáncer. Esto quiere decir que conforme los tumores crecen pueden inducir cambios en el panorama inmunológico periférico que debilitan gradualmente la vigilancia antitumoral ([Allen et al., 2020](#); [A. C. Huang et al., 2017](#); [Nessler et al., 2020](#)). Nuestros resultados señalaron que las pacientes con tumores de cérvix >6 cm se relacionan con el aumento de los niveles en sangre de Gal-9 y de los neutrófilos. El comportamiento hematológico detectado muestra ser distintivo, y no

compartido con los tumores de cérvix ≤ 6 cm. La explicación a estos cambios en el panorama sistémico podría deberse a que Gal-9 cumple una función antiinflamatoria, y se encuentra implicada en los cambios hematológicos que se generan conforme crece el tumor de cérvix. Informes previos han demostrado la función potencial de Gal-9 en la quimiotaxis de neutrófilos (Tsuboi et al., 2007). La evidencia también ha revelado que Gal-9 se colocaliza en neutrófilos que han sufrido NETosis (Schorn et al., 2012). Es de destacar que las células tumorales reclutan neutrófilos al microambiente tumoral a través de señales a distancia, una vez ahí los neutrófilos asociados a tumores son activados, y liberan trampas extracelulares o NETs con el fin de promover el crecimiento tumoral, la metástasis, y la trombosis asociada al tumor (Masucci et al., 2020). A raíz de un importante colapso de la inmunidad antitumoral, especulamos que el reclutamiento de neutrófilos y formación de NET dirigidos por Gal-9 podría estar promoviendo el crecimiento de los tumores de cérvix >6 cm. En cuanto al valor biomédico, los 7 índices basados en Gal-9 y marcadores de anemia e inflamación son capaces de identificar a los individuos con tumores de cérvix >6 cm.

Los resultados también reconocieron que existen firmas sanguíneas basadas en los niveles en sangre de TIM-3 y marcadores de anemia e inflamación en las pacientes con tumores de cérvix queratinizantes, y no queratinizantes. En el actual estudio propusimos 12 nuevos índices basados en los niveles en sangre de TIM-3 y marcadores de anemia e inflamación. Asimismo, determinamos que estos índices se asocian de manera significativa y específica con la queratinización de tumores en pacientes con CaCu. Hasta donde sabemos, este es el primer ensayo que informa sobre los cambios en el panorama inmunológico periférico relacionados con el grado de queratinización de tumores de cérvix. Nuestros datos exhibieron que las pacientes con tumores de cérvix con alto contenido de queratina muestran

un perfil sanguíneo conformado por correlaciones negativas de los niveles de TIM-3 con los neutrófilos/plaquetas, hemoglobina, hematocrito, y HCM. Esta dinámica hematológica es específica, y el comportamiento observado no lo obedece su contraparte con poco contenido de queratina. Los procesos mecanicistas detrás de nuestras observaciones no se conocen. Sin embargo, se sabe que los tumores de cérvix con alta queratina muestran un peor pronóstico, y una menor radiosensibilidad ([Sanjeev Kumar et al., 2009](#)). Además, se ha reconocido que TIM-3 soluble es una molécula proinflamatoria, y esta es capaz de inhibir la función inmunosupresora de su forma análoga transmembrana ([Sabatos et al., 2003](#)). Estudios previos también han evidenciado que el bloqueo con anticuerpos de TIM-3 en membrana de los neutrófilos reduce la desgranulación de estas células ([Vega-Carrascal et al., 2014](#)). Aunque se sabe poco sobre la relación de los receptores TIM y las alteraciones sanguíneas, se ha informado en ratones que TIM-2 transmembrana es receptor de una molécula que se encuentra implicada en procesos malignos conocida como H-ferritina ([Carrillo et al., 2015](#); [Salatino et al., 2019](#)), y es posible que TIM-3 transmembrana cumpla una función similar. Tomando en consideración los datos mencionados, la baja concentración de TIM-3 soluble en sangre podría señalar un estado activo de la función inmunosupresora de su análogo en la membrana de las células tumorales e inmunitarias. De ser así, lo anterior implicaría un predominio de respuestas proinflamatorias acompañadas de aberraciones en la eritropoyesis que podrían estar impulsando el característico potencial maligno de los tumores con alta queratina en pacientes con CaCu. Referente al valor clínico, solo 10 índices basados en TIM-3 y marcadores de anemia e inflamación son capaces de reconocer a los individuos con tumores de cérvix con alta queratina.

El estudio transversal reveló firmas sanguíneas basadas en TIM-3, Gal-9, y marcadores de anemia e inflamación, y estas proporcionan información valiosa sobre los cambios hematológicos vinculados con el tamaño y la queratinización de tumores de cérvix. Esto es importante puesto que se ha reconocido que los diferentes tipos de tumores impulsan consecuencias inmunológicas únicas. Estudios recientes sugieren que reconocer estas alteraciones nos permitiría adaptar las terapias convencionales con agentes inmunomoduladores para revertirlas, y en consecuencia revitalizar la inmunidad antitumoral (Allen et al., 2020). En los ensayos determinamos que 17 novedosos índices basados en TIM-3, Gal-9, y marcadores de anemia e inflamación se relacionan con dos características tumorales de peor pronóstico. De acuerdo con esto, se ha informado que las alteraciones en el panorama inmunológico sistémico pueden predecir el resultado clínico a largo plazo en cáncer (Hiam-Galvez et al., 2021). Por lo tanto, nosotros recomendamos determinar la relación de la supervivencia, y los niveles en sangre de índices basados en TIM-3, Gal-9, y marcadores de anemia e inflamación previo al tratamiento. Las investigaciones propuestas podrían revelar potenciales candidatos a biomarcadores de pronóstico asociados con el estado inmunitario previo al tratamiento. Esta estrategia promete identificar a los individuos de peor pronóstico, y orientar la selección de opciones terapéuticas específicas para estos grupos de pacientes de alto riesgo pronóstico.

SEGUIMIENTO RETROSPECTIVO

La quimiorradioterapia concurrente con cisplatino es el protocolo estándar de tratamiento para las pacientes con CaCu localmente avanzado (Gennigens et al., 2021). Si bien este enfoque terapéutico ha mejorado la supervivencia general, alrededor de un tercio de las pacientes experimenta recidiva (L. Han et al., 2021). Esto ocurre debido a que dependiendo

del contexto la quimiorradioterapia puede remodelar el sistema inmunológico periférico impidiendo, o promoviendo la inmunidad antitumoral (Hiam-Galvez et al., 2021). De manera similar, las alteraciones en la eritropoyesis también pueden determinar la resistencia del tumor a la quimiorradioterapia (Madeddu et al., 2021). Con el fin de desarrollar herramientas que nos permitan monitorear la respuesta a tratamientos específicos, la identificación de las alteraciones del panorama circulatorio asociadas con el fracaso terapéutico ha atraído un gran interés en cáncer (Hiam-Galvez et al., 2021). Hasta ahora, no existen biomarcadores en sangre para CaCu que permitan orientar las decisiones clínicas durante el tratamiento de las pacientes. Por ello, nuestro grupo de investigación evaluó la relación de la respuesta terapéutica con los niveles en sangre de marcadores de anemia e inflamación previo, durante, y posterior al tratamiento de pacientes con CaCu localmente avanzado. Esto con el propósito de revelar las diferencias de los efectos sistémicos entre las pacientes respondedoras, y no respondedoras. Además, identificar posibles candidatos a biomarcadores de predicción de beneficio terapéutico, vigilancia de respuesta terapéutica, y pronóstico postratamiento.

LOS NIVELES EN SANGRE DE MARCADORES DE ANEMIA E INFLAMACIÓN PREVIO, DURANTE, Y POSTERIOR AL TRATAMIENTO DE CACU LOCALMENTE AVANZADO MUESTRAN POTENCIAL COMO BIOMARCADORES DE PREDICCIÓN DE BENEFICIO TERAPÉUTICO, VIGILANCIA DE RESPUESTA TERAPÉUTICA, Y PRONÓSTICO POSTRATAMIENTO

En los ensayos encontramos en la sangre de pacientes no respondedoras bajos niveles de linfocitos, pero altos niveles de plaquetas/linfocitos, y monocitos/linfocitos previo al tratamiento, con respecto a la sangre del grupo de respondedoras a quimiorradioterapia concurrente a base de cisplatino. Esto podría deberse a algunas nociones conocidas sobre el papel de las plaquetas, monocitos, y linfocitos en la resistencia tumoral. Informes previos han demostrado que las plaquetas bloquean la detención del ciclo celular provocada por los

medicamentos contra el cáncer (Braun et al., 2021). En cuanto a los monocitos se sabe que promueven la resistencia a quimiorradioterapia mediante la revascularización del tumor, supresión de la actividad de los linfocitos T, y activación de los programas antiapoptóticos en las células tumorales (Larionova et al., 2019). En cambio, los linfocitos dirigen la inmunidad antitumoral, y un bajo conteo previo al tratamiento se asocia con una menor eficiencia de la regresión tumoral (Lissoni et al., 2004). Tomando en consideración los datos anteriores, proponemos que los niveles bajos de linfocitos, y niveles altos de las plaquetas y los monocitos previo al tratamiento podrían estar confiriendo una mayor susceptibilidad a desarrollar resistencia en las pacientes no respondedoras. No obstante, los mecanismos que subyacen a nuestras observaciones no se comprenden, y justifican mayor investigación.

Los datos del estudio también revelaron que los cambios entre los niveles en sangre previo, y posterior al tratamiento de leucocitos, neutrófilos, linfocitos, y neutrófilos/plaquetas son mayores en las pacientes que presentan buena respuesta en comparación con aquellas que mostraron resistencia terapéutica. Aunque el efecto causal detrás de nuestros resultados no está claro, existen algunos reportes sobre comportamientos similares. Un marcado decaimiento del conteo de las células inmunitarias durante el tratamiento parece ser un indicador de buena respuesta terapéutica en cáncer. Wisdom et al., (2019) informaron que los recuentos bajos de neutrófilos después de comenzar la quimiorradioterapia concurrente se asocian con tasas más altas de control local, supervivencia libre de metástasis, y supervivencia general en pacientes con CaCu. En pacientes con cáncer de recto, la reducción del conteo de linfocitos durante el tratamiento neoadyuvante se asocia con una buena respuesta terapéutica (Wu et al., 2018). En esa misma dirección, es probable que las plaquetas tengan comportamientos similares derivados de la terapia en cáncer, pero hasta donde

sabemos no se han reportado. Ante una inmunidad antitumoral deficiente, nosotros sugerimos que el alto conteo de leucocitos, neutrófilos, y plaquetas durante el tratamiento podría tener un papel promotor de la resistencia a la terapia en las pacientes no respondedoras. Recomendamos llevar a cabo ensayos que permitan dilucidar el significado biológico detrás de la relación entre la buena respuesta terapéutica y la notable disminución de leucocitos, neutrófilos, linfocitos, y plaquetas durante la quimiorradioterapia concurrente a base de cisplatino para el tratamiento de CaCu localmente avanzado.

El estudio actual reveló niveles altos postratamiento de plaquetas/linfocitos, y niveles bajos postratamiento de eritrocitos, hemoglobina, y hematocrito en las pacientes no respondedoras, en comparación con la sangre de pacientes respondedoras. Si bien no se conocen los mecanismos específicos detrás de nuestras observaciones, se describen a continuación algunos puntos conocidos. Los altos niveles en sangre de plaquetas/linfocitos permiten predecir la mala respuesta al tratamiento en pacientes con cáncer ([Asano et al., 2016](#)). Esto es posible porque el índice refleja los cambios de sus propiedades pro, y antiinflamatorias en función del efecto terapéutico. El recuento de plaquetas señala la actividad tumoral, mientras que el recuento de linfocitos indica la fuerza de la respuesta antitumoral ([Asano et al., 2016](#); [Braun et al., 2021](#)). Por otro lado, se sabe que las terapias a base de cisplatino para el tratamiento de cáncer pueden promover el desarrollo a anemia después del tratamiento ([Ithimakin & Srimuninnimit, 2009](#)). Esta es una condición hematológica que se caracteriza por inducir bajos niveles en sangre de hemoglobina, eritrocitos, y hematocrito ([Madeddu et al., 2018](#)), y que se asocia fuertemente con la resistencia de los tumores al tratamiento ([Varlotto & Stevenson, 2005](#)). Con base en los reportes previos y nuestros resultados, hipotetizamos que el aumento de la inflamación

coordinada por las plaquetas, y el desarrollo de anemia después del tratamiento podrían reflejar la resistencia tumoral y/o toxicidad derivada del tratamiento de las pacientes no respondedoras. Dado a que no se ha documentado el significado biológico del comportamiento de los niveles en sangre de plaquetas/linfocitos, hemoglobina, hematocrito, y eritrocitos posterior al tratamiento de nuestro estudio, aconsejamos profundizar al respecto.

En el seguimiento retrospectivo identificamos potenciales candidatos a biomarcadores de respuesta a quimiorradioterapia concurrente a base de cisplatino para el tratamiento de CaCu localmente avanzado. Los resultados indicaron que los niveles en sangre de linfocitos, plaquetas/linfocitos, y monocitos/linfocitos previo al tratamiento exhibieron posible utilidad clínica como biomarcadores de predicción de beneficio terapéutico. La cuantificación de los biomarcadores propuestos permitiría identificar a las pacientes que se beneficiarán del tratamiento estándar de aquellas con baja posibilidad de respuesta a este enfoque terapéutico. Con esta información el médico oncólogo podría realizar cambios en el régimen del tratamiento asociados con mayores probabilidades de éxito para las pacientes potencialmente no respondedoras. Estos cambios incluyen variaciones en la dosis de radiación, cantidad total de medicamento, tipo de fármaco, entre otros. En cuanto a los cambios durante el tratamiento, encontramos que los niveles en sangre de leucocitos, neutrófilos, linfocitos, y (neutrófilos/plaquetas) durante el tratamiento mostraron potencial como biomarcadores de vigilancia de respuesta terapéutica. La medición repetida de los indicadores sanguíneos propuestos permitiría el monitoreo de la respuesta durante el tratamiento, y notificarían al médico si las pacientes están presentando una buena o mala respuesta al tratamiento. Los datos también mostraron que los niveles en sangre de plaquetas/linfocitos, eritrocitos, hemoglobina, y hematocrito posterior al tratamiento podrían utilizarse como biomarcadores

de pronóstico postratamiento. La implementación de los biomarcadores mencionados permitiría al médico identificar a las pacientes que no respondieron al tratamiento inmediatamente después de finalizarlo, y abordar de forma oportuna terapéuticas alternativas que promuevan la regresión tumoral, o traten la toxicidad derivada del tratamiento. En conjunto, el presente estudio reveló 11 novedosos biomarcadores que se calculan fácilmente mediante análisis de sangre de rutina, y que muestran potencial utilidad clínica en la toma de decisiones durante el tratamiento de las pacientes con CaCu localmente avanzado. En futuros estudios sería concebible confirmar el valor clínico de los biomarcadores propuestos con una evaluación prospectiva y un mayor número de pacientes.

CONCLUSIONES

La presente tesis determinó el valor clínico de los niveles en sangre de TIM-3, Gal-9, y marcadores de anemia e inflamación de pacientes con CaCu. Nuestros resultados apoyan el uso del ensayo de Gal-9 sérica, y del índice sérico de Gal-9/TIM-3 como herramientas complementarias en el tamizaje tradicional de CaCu. La implementación de las pruebas propuestas en combinación con el Papanicolaou permitiría aumentar la sensibilidad del tamizaje de CaCu, y como consecuencia posibilitaría la identificación de las pacientes con la enfermedad en etapas más tempranas. En contraste, el ensayo de TIM-3 sérico en solitario posee una capacidad deficiente para distinguir entre las pacientes enfermas y sanas. Los estudios también revelaron nuevas firmas sanguíneas basadas en TIM-3, Gal-9, y marcadores de anemia e inflamación en tumores de cérvix según su tamaño y queratinización. Estas firmas permitieron conocer los cambios hematológicos asociados con las características tumorales, y a perspectiva esta información podría usarse para adaptar las estrategias inmunoterapéuticas en CaCu. Dentro de nuestros aportes se encuentra el descubrimiento de 17 nuevos índices basados en TIM-3, Gal-9, y marcadores de anemia e inflamación con potencial para utilizarse como biomarcadores de pronóstico de la enfermedad. Los niveles en sangre de los marcadores de anemia e inflamación previo, durante, y posterior al tratamiento exhibieron utilidad como posibles biomarcadores de respuesta al tratamiento. En particular, confirmamos el potencial clínico de 3 biomarcadores de predicción de beneficio terapéutico, 4 biomarcadores de vigilancia de respuesta terapéutica, y 4 biomarcadores de pronóstico de respuesta a quimiorradioterapia concurrente a base de cisplatino para el tratamiento de CaCu localmente avanzado. El uso de los biomarcadores de respuesta a tratamiento propuestos

permitiría orientar la selección del tratamiento, mejorar los programas de monitoreo de respuesta terapéutica, y posibilitar la predicción del pronóstico postratamiento.

Con base en los resultados presentados aquí, llegamos a la conclusión de que los niveles en sangre de TIM-3, Gal-9, y marcadores de anemia e inflamación proporcionan información elemental sobre el estado inmunitario de las pacientes con CaCu. Nuestro estudio es el primero en informar sobre los cambios sistémicos que obedecen TIM-3, Gal-9, y marcadores de anemia e inflamación, y su posible importancia clínica en CaCu. Argumentamos que nuestras observaciones deben corroborarse con estudios clínicos a gran escala, y con un enfoque que permita dilucidar los aspectos mecanicistas.

CONSIDERACIONES Y RECOMENDACIONES

A pesar de la solidez, advertimos que la interpretación de los resultados debe considerarse a la luz de las siguientes limitaciones:

- Los niveles séricos de Gal-9 se cuantificaron con el kit ELISA de *R&D Systems*, por lo que la capacidad discriminativa reportada en este estudio podría diferir al utilizar otros kits de ELISA. El kit que usamos cuantifica a Gal-9 en forma completa y Gal-9 en formas truncadas, y reacciona más contra las formas truncadas que contra las formas intactas ([Niki et al., 2018](#)).
- La recuperación de la fracción acelular de la sangre se realizó en tubos sin anticoagulante. Es importante considerar que en el proceso de coagulación de la sangre participa la enzima trombina, y que esta es una proteasa capaz de escindir el péptido de unión de Gal-9. Por lo que la cantidad de Gal-9 en formas truncadas detectada en el suero de nuestro estudio podría ser mayor, en comparación con los estudios que utilizan anticoagulantes para recuperar el plasma.
- El diseño del estudio es retrospectivo, los datos se extrajeron del expediente clínico de cada paciente, y esto conlleva a sesgos en la recopilación de datos reales. Se sugiere realizar un estudio prospectivo para verificar los resultados obtenidos.
- Este estudio se realizó en un único centro de atención, e incluyó un número pequeño de pacientes, lo que crea una limitación en términos de generalización del estudio. Se recomienda obtener la confirmación en pacientes de poblaciones adicionales.
- Nuestros resultados pudieron verse afectados por la inflamación vinculada con la comorbilidad de otras enfermedades, estado nutricional, y otros factores que no se tomaron en cuenta en el diseño de este estudio. Se plantea la posibilidad de

implementar de manera conjunta otros marcadores de inflamación inespecíficos de la enfermedad como la proteína C reactiva en futuras investigaciones.

- Las muestras del estudio se recolectaron de participantes de una región restringida. Los biomarcadores específicos de raza podrían existir. Aconsejamos confirmar la aplicabilidad de los biomarcadores propuestos en poblaciones de otras regiones demográficas.
- La duración del seguimiento de las pacientes con CaCu localmente avanzado fue corta. Recomendamos realizar estudios de seguimiento por periodos más prolongados para confirmar los cambios reportados y su duración.

REFERENCIAS

- Adedimeji, A., Ajeh, R., Pierz, A., Nkeng, R., Ndenkeh, J. J., Fuhngwa, N., Nsame, D., Nji, M., Dzudie, A., Anastos, K. M., & Castle, P. E. (2021). Challenges and opportunities associated with cervical cancer screening programs in a low income, high HIV prevalence context. *BMC Women's Health*, *21*(1), 1–14. <https://doi.org/10.1186/s12905-021-01211-w>
- Ai, L., Mu, S., & Hu, Y. (2018). Prognostic role of RDW in hematological malignancies: A systematic review and meta-analysis. *Cancer Cell International*, *18*(1), 1–8. <https://doi.org/10.1186/s12935-018-0558-3>
- Alghamdi, A. H., Niyaz, R. I., Al-Jifree, H., Khan, M. A., & Alsalmi, L. (2021). Prevalence of Anemia Among Gynecologic Cancer Patients Who Received Chemotherapy, Radiotherapy, or a Combination of Both at King Abdulaziz Medical City, Jeddah. *Cureus*, *13*(8), e17613. <https://doi.org/10.7759/cureus.17613>
- Allen, B. M., Hiam, K. J., Burnett, C. E., Venida, A., Debarge, R., Tenvooren, I., Marquez, D. M., Cho, N. W., Carmi, Y., & Spitzer, M. H. (2020). Systemic dysfunction and plasticity of the immune macroenvironment in cancer models. *Nature Medicine*, *26*(7), 1125–1134. <https://doi.org/10.1038/s41591-020-0892-6>
- Ann, V., Kris, D. C., Daniel, H., Fu-Tong, L., Patrick, D. B., & Benoît, S. (2010). Lack of galectin-3 alleviates trypanosomiasis-associated anemia of inflammation. *Immunobiology*, *215*(9–10), 833–841. <https://doi.org/10.1016/j.imbio.2010.05.028>
- Armenta-Castro, E., Reyes-Vallejo, T., Máximo-Sánchez, D., Herrera-Camacho, I., López-López, G., Reyes-Carmona, S., Conde-Rodríguez, I., Ramírez-Díaz, I., Aguilar-Lemarroy, A., Jave-Suárez, L. F., Milflores-Flores, L., Santos-Lopez, G., Reyes-Leyva, J., & Vallejo-Ruiz, V. (2020). Histone H3K9 and H3K14 acetylation at the promoter of the LGALS9 gene is associated with mRNA levels in cervical cancer cells. *FEBS Open Bio*, *10*, 2305–2315. <https://doi.org/10.1002/2211-5463.12973>
- Asano, Y., Kashiwagi, S., Onoda, N., Noda, S., Kawajiri, H., Takashima, T., Ohsawa, M., Kitagawa, S., & Hirakawa, K. (2016). Platelet–lymphocyte ratio as a useful predictor of the therapeutic effect of neoadjuvant chemotherapy in breast cancer. *PLoS ONE*, *11*(7), 1–9. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0153459>
- Bangle, R., Berger, M., & Levin, M. (1963). Variations in the morphogenesis of squamous carcinoma of the cervix. *Cancer*, *16*(9), 1151–1159. [https://doi.org/10.1002/1097-0142\(196309\)16:9<1151::AID-CNCR2820160909>3.0.CO;2-D](https://doi.org/10.1002/1097-0142(196309)16:9<1151::AID-CNCR2820160909>3.0.CO;2-D)
- Bethesda, M. (2021). PDQ Adult Treatment Editorial Board. Cervical Cancer Treatment (PDQ®): Patient Version. *National Cancer Institute*, 1–29. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK65985/>
- Bhatla, N., Aoki, D., Sharma, D. N., & Sankaranarayanan, R. (2021). Cancer of the cervix uteri: 2021 update. *International Journal of Gynecology and Obstetrics*, *155*(S1), 28–44. <https://doi.org/10.1002/ijgo.13865>
- Bhatla, N., Berek, J., Cuello, M., Denny, L., & Grenman, S. (2019). Revised FIGO staging for carcinoma of the cervix uteri. *International Journal of Gynecology and Obstetrics*, *145*(1), 129–135. <https://doi.org/10.1002/ijgo.12749>
- Bossler, F., Hoppe-Seyler, K., & Hoppe-Seyler, F. (2019). PI3K/AKT/mTOR signaling regulates the virus/host cell crosstalk in HPV-positive cervical cancer cells. *International Journal of Molecular Sciences*, *20*(9), 1–13. <https://doi.org/10.3390/ijms20092188>
- Bozorgmehr, N., Mashhour, S., Rosero, E. P., Xu, L., Shahbaz, S., Sligl, W., Osman, M., Kutsogiannis, D. J., Macintyre, E., O'neil, C. R., & Elahi, S. (2021). Galectin-9, a player in cytokine release syndrome and a surrogate diagnostic biomarker in SARS-CoV-2 infection. *MBio*, *12*(3), 1–17. <https://doi.org/10.1128/mBio.00384-21>
- Bratu, A. M., Sălciuanu, I. A., Cristian, D. A., Zaharia, C., Mateescu, G. O., Matei, M., Berteșteanu, Ș. V. G., Lică, G., & Niculescu, E. C. (2015). CT characters versus morphopathological characters in pharyngeal squamous cell carcinoma. *Romanian Journal of Morphology and Embryology*, *56*(1), 197–205.
- Braun, A., Anders, H. J., Gudermann, T., & Mammadova-Bach, E. (2021). Platelet-Cancer Interplay: Molecular Mechanisms and New Therapeutic Avenues. *Frontiers in Oncology*, *11*(7), 1–27. <https://doi.org/10.3389/fonc.2021.665534>
- Busti, F., Marchi, G., Ugolini, S., Castagna, A., & Girelli, D. (2018). Anemia and iron deficiency in cancer patients: Role of iron replacement therapy. *Pharmaceuticals*, *11*(4), 1–14. <https://doi.org/10.3390/ph11040094>

- Candelaria, M., Cetina, L., & Dueñas-González, A. (2005). Anemia in cervical cancer patients: Implications for iron supplementation therapy. *Medical Oncology*, 22(2), 161–168. <https://doi.org/10.1385/MO:22:2:161>
- Cao, L., Wen, H., Feng, Z., Han, X., & Wu, X. (2019). Distinctive clinicopathologic characteristics and prognosis for different histologic subtypes of early cervical cancer. *International Journal of Gynecological Cancer*, 29(7), 1244–1251. <https://doi.org/10.1136/ijgc-2019-000556>
- Cao, Y., Zhou, X., Huang, X., Li, Q., Gao, L., Jiang, L., Huang, M., & Zhou, J. (2013). Tim-3 Expression in Cervical Cancer Promotes Tumor Metastasis. *PLoS ONE*, 8(1), 1–8. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0053834>
- Carretero, R., Sektioglu, I. M., Garbi, N., Salgado, O. C., Beckhove, P., & Hämmerling, G. J. (2015). Eosinophils orchestrate cancer rejection by normalizing tumor vessels and enhancing infiltration of CD8 + T cells. *Nature Immunology*, 16(6), 609–617. <https://doi.org/10.1038/ni.3159>
- Carrillo, R., Peña, C., Zepeda, A., Meza, J., Neri, R., Meza, C., Carrillo, D., & Carrillo, C. (2015). Ferritina y síndrome hiperferritinémico. Su impacto en el enfermo grave: conceptos actuales. *Rev Asoc Mex Med Crit y Ter*, 29(3), 157–166. <https://doi.org/10.1684/hma.2015.1016>
- Chakrabarti, R., Kapse, B., & Mukherjee, G. (2019). Soluble immune checkpoint molecules: Serum markers for cancer diagnosis and prognosis. *Cancer Reports*, 2(4), 1–12. <https://doi.org/10.1002/cnr2.1160>
- Chao, B., Ju, X., Zhang, L., Xu, X., & Zhao, Y. (2020). A Novel Prognostic Marker Systemic Inflammation Response Index (SIRI) for Operable Cervical Cancer Patients. *Frontiers in Oncology*, 10(5), 1–11. <https://doi.org/10.3389/fonc.2020.00766>
- Chen, Z., Dong, D., Zhu, Y., Pang, N., & Ding, J. (2021). The role of Tim-3/Galectin-9 pathway in T-cell function and prognosis of patients with human papilloma virus-associated cervical carcinoma. *FASEB Journal*, 35(3), 1–14. <https://doi.org/10.1096/fj.202000528RR>
- Chiba, M., Yanaba, K., Hayashi, M., Yoshihara, Y., & Nakagawa, H. (2017). Clinical significance of serum soluble T-cell immunoglobulin and mucin domain 3 levels in systemic sclerosis: Association with disease severity. *Journal of Dermatology*, 44(2), 194–197. <https://doi.org/10.1111/1346-8138.13610>
- Chuk, Y. H. E., Tse, S. W. S., Ho, C. Y. R., Wong, H. Y., Yeung, N. Y., Cheung, K. M., Chow, J. C. H., & Wong, K. H. (2020). 241MO Survival impact of pretreatment absolute lymphocyte count in cervical cancer patients receiving definitive chemoradiation. *Annals of Oncology*, 31(1), S1337. <https://doi.org/10.1016/j.annonc.2020.10.235>
- Chun, S., Shin, K., Kim, K. H., Kim, H. Y., Eo, W., Lee, J. Y., Namkung, J., Kwon, S. H., Koh, S. B., & Kim, H. B. (2017). The neutrophil-lymphocyte ratio predicts recurrence of cervical intraepithelial neoplasia. *Journal of Cancer*, 8(12), 2205–2211. <https://doi.org/10.7150/jca.19173>
- Clayton, K. L., Douglas-Vail, M. B., Rahman, A. K. M. N., Medcalf, K. E., Xie, I. Y., Chew, G. M., Tandon, R., Lanteri, M. C., Norris, P. J., Deeks, S. G., Ndhlovu, L. C., & Ostrowski, M. A. (2015). Soluble T Cell Immunoglobulin Mucin Domain 3 Is Shed from CD8 + T Cells by the Sheddase ADAM10, Is Increased in Plasma during Untreated HIV Infection, and Correlates with HIV Disease Progression. *Journal of Virology*, 89(7), 3723–3736. <https://doi.org/10.1128/jvi.00006-15>
- Conrad, M. (2021). *Definition of White blood cell count*. https://www.rxlist.com/white_blood_cell_count/definition.htm
- CRUK. (2020). *Cancer grading*. <https://www.cancerresearchuk.org/about-cancer/what-is-cancer/cancer-grading>
- Dai, Jie, Su, Y., Zhong, S., Cong, L., Liu, B., Yang, J., Tao, Y., He, Z., Chen, C., & Jiang, Y. (2020). Exosomes: key players in cancer and potential therapeutic strategy. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 5(1). <https://doi.org/10.1038/s41392-020-00261-0>
- Dai, Jin, Fang, P., Saredy, J., Xi, H., Ramon, C., Yang, W., Choi, E. T., Ji, Y., Mao, W., Yang, X., & Wang, H. (2017). Metabolism-associated danger signal-induced immune response and reverse immune checkpoint-activated CD40+ monocyte differentiation. *Journal of Hematology and Oncology*, 10(1), 1–18. <https://doi.org/10.1186/s13045-017-0504-1>
- Dallenbach, H., & Knebel, D. (2018). Color atlas of histopathology of the cervix uteri. In *Journal of Chemical Information and Modeling* (Vol. 53, Issue 9). <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>

- Dapat, I. C., Pascapurnama, D. N., Iwasaki, H., Labayo, H. K., Chagan-Yasutan, H., Egawa, S., & Hattori, T. (2017). Secretion of galectin-9 as a DAMP during dengue virus infection in THP-1 cells. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(8). <https://doi.org/10.3390/ijms18081644>
- Das, M., Zhu, C., & Kuchroo, V. K. (2017). Tim-3 and its role in regulating anti-tumor immunity. *Immunological Reviews*, 276(1), 97–111. <https://doi.org/10.1111/imr.12520>
- De La Fuente, H., Cibrián, D., & Sánchez-Madrid, F. (2012). Immunoregulatory molecules are master regulators of inflammation during the immune response. *FEBS Letters*, 586(18), 2897–2905. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2012.07.032>
- Dean, L. (2005). Blood and the cells it contains. In *Blood Groups and Red Cell Antigens*. National Center for Biotechnology Information (US). <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK2263/>
- Deng, H., & Woodworth, C. D. (2019). Establishment and optimization of epithelial cell cultures from human ectocervix, transformation zone, and endocervix optimization of epithelial cell cultures. *J Cell Physiol*, 234(6), 7683–7694. <https://doi.org/10.1002/jcp.28049>
- Doorbar, J., & Griffin, H. (2019). Refining our understanding of cervical neoplasia and its cellular origins. *Papillomavirus Research*, 7, 176–179. <https://doi.org/10.1016/j.pvr.2019.04.005>
- Dunst, J., Kuhnt, T., Strauss, H. G., Krause, U., Pelz, T., Koelbl, H., & Haensgen, G. (2003). Anemia in cervical cancers: Impact on survival, patterns of relapse, and association with hypoxia and angiogenesis. *International Journal of Radiation Oncology Biology Physics*, 56(3), 778–787. [https://doi.org/10.1016/S0360-3016\(03\)00123-8](https://doi.org/10.1016/S0360-3016(03)00123-8)
- Elhag, O. A. O., Hu, X. J., Wen-Ying, Z., Li, X., Yuan, Y. Z., Deng, L. F., Liu, D. L., Liu, Y. Le, & Hui, G. (2012). Reconstructed adeno-associated virus with the extracellular domain of murine PD-1 induces antitumor immunity. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 13(8), 4031–4036. <https://doi.org/10.7314/APJCP.2012.13.8.4031>
- Enninga, E. A. L., Nevala, W. K., Holtan, S. G., Leontovich, A. A., Markovic, S. N., Clinic, M., Clinic, M., Clinic, M., & Clinic, M. (2016). Galectin-9 modulates immunity by promoting Th2/M2 differentiation and impacts survival in patients with metastatic melanoma. *Melanoma Res*, 26(5), 429–441. <https://doi.org/10.1097/CMR.0000000000000281>
- Espenel, S., Garcia, M. A., Trone, J. C., Guillaume, E., Harris, A., Rehailia-Blanchard, A., He, M. Y., Ouni, S., Vallard, A., Rancoule, C., Ben Mrad, M., Chaleur, C., De Larocche, G., Guy, J. B., Moreno-Acosta, P., & Magné, N. (2018). From IB2 to IIIB locally advanced cervical cancers: Report of a ten-year experience. *Radiation Oncology*, 13(1), 1–11. <https://doi.org/10.1186/s13014-018-0963-8>
- Fang, L., Na, L., Jiao, S., Xiude, F., Huan, D., Zhang, X., Qunying, H., Yi, L., & Zhengwen, L. (2018). Highly elevated soluble Tim-3 levels correlate with increased hepatocellular carcinoma risk and poor survival of hepatocellular carcinoma patients in chronic hepatitis B virus infection. *Cancer Management and Research*, 10(1), 941–951. <https://doi.org/10.2147/CMAR.S162478>
- Feng, Y., Wang, Y., Xie, Y., Wu, S., Li, Y., & Li, M. (2021). Nomograms predicting the overall survival and cancer-specific survival of patients with stage IIIC1 cervical cancer. *BMC Cancer*, 21(1), 1–11. <https://doi.org/10.1186/s12885-021-08209-5>
- Fernandes, J. V., Fernandes, T. A. A. D. M., de Azevedo, J. C. V., Cobucci, R. N. O., de Carvalho, M. G. F., Andrade, V. S., & De Araújo, J. M. G. (2015). Link between chronic inflammation and human papillomavirus-induced carcinogenesis (Review). *Oncology Letters*, 9(3), 1015–1026. <https://doi.org/10.3892/ol.2015.2884>
- Fontham, E. T. H., Wolf, A. M. D., Church, T. R., Etzioni, R., Flowers, C. R., Herzig, A., Guerra, C. E., Oeffinger, K. C., Shih, Y. T., Walter, L. C., Kim, J. J., Andrews, K. S., DeSantis, C. E., Fedewa, S. A., Manassaram-Baptiste, D., Saslow, D., Wender, R. C., & Smith, R. A. (2020). Cervical cancer screening for individuals at average risk: 2020 guideline update from the American Cancer Society. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 70(5), 1–26. <https://doi.org/10.3322/caac.21628>
- Fowler, J. R., Maani, E. V., & Jack, B. W. (2021). Cervical Cancer. In *Encyclopedia of Behavioral Medicine* (pp. 350–351). StatPearls Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-030-39903-0_157
- Freeman, A. M., Rai, M., & Morando, D. W. (2021). Anemia Screening. In *StatPearls*. StatPearls Publishing. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK499905/>

- Fu, H., Liu, Y., Xu, L., Liu, W., Fu, Q., Liu, H., Zhang, W., & Xu, J. (2015). Galectin-9 predicts postoperative recurrence and survival of patients with clear-cell renal cell carcinoma. *Tumor Biology*, 36(8), 5791–5799. <https://doi.org/10.1007/s13277-015-3248-y>
- Fucà, G., Guarini, V., Antoniotti, C., Morano, F., Moretto, R., Corallo, S., Marmorino, F., Lonardi, S., Rimassa, L., Sartore-Bianchi, A., Borelli, B., Tampellini, M., Bustreo, S., Claravezza, M., Boccaccino, A., Murialdo, R., Zaniboni, A., Tomasello, G., Loupakis, F., ... Pietrantonio, F. (2020). The Pan-Immune-Inflammation Value is a new prognostic biomarker in metastatic colorectal cancer: results from a pooled-analysis of the Valentino and TRIBE first-line trials. *British Journal of Cancer*, 123(3), 403–409. <https://doi.org/10.1038/s41416-020-0894-7>
- Fujita, K., Iwama, H., Oura, K., Tadokoro, T., Samukawa, E., Sakamoto, T., Nomura, T., Tani, J., Yoneyama, H., Morishita, A., Himoto, T., Hirashima, M., & Masaki, T. (2017). Cancer therapy due to apoptosis: Galectin-9. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(74), 1–15. <https://doi.org/10.3390/ijms18010074>
- Fuso, L., Mazzola, S., Marocco, F., Ferrero, A., Dompè, D., Carus, A. P., & Zola, P. (2005). Pretreatment serum hemoglobin level as a predictive factor of response to neoadjuvant chemotherapy in patients with locally advanced squamous cervical carcinoma: A preliminary report. *Gynecologic Oncology*, 99(3), 187–191. <https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2005.07.079>
- Gaete, S., Auguste, A., Bhakkan, B., Peruvien, J., Herrmann-Storeck, C., Socrier, Y., Diedhiou, A., & Deloumeaux, J. (2021). Frequent high-risk HPV co-infections excluding types 16 or 18 in cervical neoplasia in Guadeloupe. *BMC Cancer*, 21(1), 1–9. <https://doi.org/10.1186/s12885-021-07940-3>
- Gambardella, A. R., Mattei, F., Mancini, J., & Schiavoni, G. (2020). Basophils in Tumor Microenvironment and Surroundings. In *Advances in Experimental Medicine and Biology* (Issue 4, pp. 21–34). https://doi.org/https://doi.org/10.1007/978-3-030-35723-8_2
- Gao, J., Qiu, X., Li, X., Fan, H., Zhang, F., Lv, T., & Song, Y. (2018). Expression profiles and clinical value of plasma exosomal Tim-3 and Galectin-9 in non-small cell lung cancer. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 498(3), 409–415. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2018.02.114>
- Ge, W., Li, J., Fan, W., Xu, D., & Sun, S. (2017). Tim-3 as a diagnostic and prognostic biomarker of osteosarcoma. *Tumor Biology*, 39(7), 1–8. <https://doi.org/10.1177/1010428317715643>
- Geng, H., Zhang, G.-M., Li, D., Zhang, H., Yuan, Y., Zhu, H.-G., Xiao, H., Han, L.-F., & Feng, Z.-H. (2006). Soluble Form of T Cell Ig Mucin 3 Is an Inhibitory Molecule in T Cell-Mediated Immune Response. *The Journal of Immunology*, 176(3), 1411–1420. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.176.3.1411>
- Gennigens, C., De Cuypere, M., Hermesse, J., Kridelka, F., & Jerusalem, G. (2021). Optimal treatment in locally advanced cervical cancer. *Expert Review of Anticancer Therapy*, 21(6), 657–671. <https://doi.org/10.1080/14737140.2021.1879646>
- Gonçalves Silva, I., Yasinska, I. M., Sakhnevych, S. S., Fiedler, W., Wellbrock, J., Bardelli, M., Varani, L., Hussain, R., Siligardi, G., Ceccone, G., Berger, S. M., Ushkaryov, Y. A., Gibbs, B. F., Fasler-Kan, E., & Sumbayev, V. V. (2017). The Tim-3-galectin-9 Secretory Pathway is Involved in the Immune Escape of Human Acute Myeloid Leukemia Cells. *EBioMedicine*, 22, 44–57. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2017.07.018>
- Goossens, N., Nakagawa, S., Sun, X., & Hoshida, Y. (2015). Cancer biomarker discovery and validation. *Translational Cancer Research*, 4(3), 256–269. <https://doi.org/10.3978/j.issn.2218-676X.2015.06.04>
- Grigsby, P. W., Massad, L. S., Mutch, D. G., Powell, M. A., Thaker, P. H., McCourt, C., Hagemann, A., Fuh, K., Kuroki, L., Schwarz, J. K., Markovina, S., Lin, A. J., Dehdashti, F., & Siegel, B. A. (2020). FIGO 2018 staging criteria for cervical cancer: Impact on stage migration and survival. *Gynecologic Oncology*, 157(3), 639–643. <https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2020.03.027>
- Grisaru-Tal, S., Itan, M., Klion, A. D., & Munitz, A. (2020). A new dawn for eosinophils in the tumour microenvironment. *Nature Reviews Cancer*, 20(10), 594–607. <https://doi.org/10.1038/s41568-020-0283-9>
- Grivnennikov, S. I., Greten, F. R., & Karin, M. (2011). Immunity, inflammation, and cancer. *Cell*, 140(6), 883–899. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2010.01.025>
- Gu, D., Ao, X., Yang, Y., Chen, Z., & Xu, X. (2018). Soluble immune checkpoints in cancer: Production, function and biological significance. *Journal for ImmunoTherapy of Cancer*, 6(1), 1–14. <https://doi.org/10.1186/s40425-018->

0449-0

- Hagemann, T., Balkwill, F., & Lawrence, T. (2007). Inflammation and Cancer: A Double-Edged Sword. *Cancer Cell*, *12*(4), 300–301. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2007.10.005>
- Han, F., Wang, G., Li, Y., Tian, W., Dong, Z., Cheng, S., Liu, Y., Qu, T., Wang, X., Wang, Y., Zhang, B., & Ju, Y. (2017). Investigation of T-cell immunoglobulin- and mucin-domain-containing molecule-3 (TIM-3) polymorphisms in essential thrombocythaemia (ET). *Hematology*, *22*(6), 361–367. <https://doi.org/10.1080/10245332.2016.1266434>
- Han, L., Wang, Q., Zhao, L., Feng, X., Wang, Y., Zou, Y., & Li, Q. (2021). A meta-analysis of the prognostic impact of pretreatment fluorodeoxyglucose positron emission tomography/computed tomography parameters in patients with locally advanced cervical cancer treated with concomitant chemoradiotherapy. *Diagnostics*, *11*(7). <https://doi.org/10.3390/diagnostics11071258>
- He, B., Chen, W., Liu, L., Hou, Z., Zhu, H., Cheng, H., Zhang, Y., Zhan, S., & Wang, S. (2021). Prediction Models for Prognosis of Cervical Cancer: Systematic Review and Critical Appraisal. *Frontiers in Public Health*, *9*(5), 1–10. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2021.654454>
- Hegde, P. S., & Chen, D. S. (2020). Top 10 Challenges in Cancer Immunotherapy. *Immunity*, *52*(1), 17–35. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2019.12.011>
- Hemmat, N., & Bannazadeh Baghi, H. (2019). Association of human papillomavirus infection and inflammation in cervical cancer. *Pathogens and Disease*, *77*(5), 1–11. <https://doi.org/10.1093/femspd/ftz048>
- Henry, N. L., & Hayes, D. F. (2012). Cancer biomarkers. *Molecular Oncology*, *6*(2), 140–146. <https://doi.org/10.1016/j.molonc.2012.01.010>
- Hiam-Galvez, K. J., Allen, B. M., & Spitzer, M. H. (2021). Systemic immunity in cancer. *Nature Reviews Cancer*, *21*(6), 345–359. <https://doi.org/10.1038/s41568-021-00347-z>
- Howard, R., Kanetsky, P. A., & Egan, K. M. (2019). Exploring the prognostic value of the neutrophil-to-lymphocyte ratio in cancer. *Scientific Reports*, *9*(1), 1–10. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-56218-z>
- Hsueh, C. Y., Lau, H. C., Li, S., Tao, L., Zhang, M., Gong, H., & Zhou, L. (2019). Pretreatment level of red cell distribution width as a prognostic indicator for survival in a large cohort study of male laryngeal squamous carcinoma. *Frontiers in Oncology*, *9*(3), 1–9. <https://doi.org/10.3389/fonc.2019.00271>
- Huang, A. C., Postow, M. A., Orlowski, R. J., Mick, R., Bengsch, B., Manne, S., Xu, W., Harmon, S., Giles, J. R., Wenz, B., Adamow, M., Kuk, D., Panageas, K. S., Carrera, C., Wong, P., Quagliarello, F., Wubbenhorst, B., D'Andrea, K., Pauken, K. E., ... Wherry, E. J. (2017). T-cell invigoration to tumour burden ratio associated with anti-PD-1 response. *Nature*, *545*(7652), 60–65. <https://doi.org/10.1038/nature22079>
- Huang, H., Liu, Q., Zhu, L., Zhang, Y., Lu, X., Wu, Y., & Liu, L. (2019). Prognostic Value of Preoperative Systemic Immune-Inflammation Index in Patients with Cervical Cancer. *Scientific Reports*, *9*(1), 1–9. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-39150-0>
- Huang, Z., Wu, L., Hou, Z., Zhang, P., Li, G., & Xie, J. (2019). Eosinophils and other peripheral blood biomarkers in glioma grading: A preliminary study. *BMC Neurology*, *19*(1), 1–11. <https://doi.org/10.1186/s12883-019-1549-2>
- IMSS. (2017). *Tratamiento del cáncer cervicouterino en segundo y tercer nivel de atención*. <http://www.imss.gob.mx/sites/all/statics/guiasclinicas/333GER.pdf>
- Ithimakin, S., & Srimuninnimit, V. (2009). Cancer anemia survey in Division of Medical Oncology at Siriraj Hospital (CAS). *J Med Assoc Thai*, *92*(3), 100–108.
- Iwasaki-Hozumi, H., Chagan-Yasutan, H., Ashino, Y., & Hattori, T. (2021). Blood levels of Galectin-9, an immunoregulating molecule, reflects the severity for the acute and chronic infectious diseases. *Biomolecules*, *11*(3), 1–22. <https://doi.org/10.3390/biom11030430>
- Jain, A., & Pasare, C. (2017). Innate Control of Adaptive Immunity: Beyond the Three-Signal Paradigm. *The Journal of Immunology*, *198*(10), 3791–3800. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1602000>
- Jung, H. A., Kim, H. J., Maeng, C. H., Park, S. H., Lee, J., Park, J. O., Park, Y. S., Lim, H. Y., & Kang, W. K. (2015).

- Changes in the mean corpuscular volume after capecitabine treatment are associated with clinical response and survival in patients with advanced gastric cancer. *Cancer Research and Treatment*, 47(1), 72–77. <https://doi.org/10.4143/crt.2013.172>
- Kandel, S., Adhikary, P., Li, G., & Cheng, K. (2021). The TIM3/Gal9 signaling pathway: An emerging target for cancer immunotherapy. *Cancer Letters*, 510(1), 67–78. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2021.04.011>
- Karlmarm, K., Tacke, F., & Dunay, I. (2012). Monocytes in health and disease — Minireview. *European Journal of Microbiology and Immunology*, 2(2), 97–102. <https://doi.org/10.1556/eujmi.2.2012.2.1>
- Kashio, Y., Nakamura, K., Abedin, M. J., Seki, M., Nishi, N., Yoshida, N., Nakamura, T., & Hirashima, M. (2003). Galectin-9 Induces Apoptosis Through the Calcium-Calpain-Caspase-1 Pathway. *The Journal of Immunology*, 170(7), 3631–3636. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.170.7.3631>
- Kawano, M., Mabuchi, S., Matsumoto, Y., Sasano, T., Takahashi, R., Kuroda, H., Kozasa, K., Isohashi, F., Ogawa, K., & Kimura, T. (2015). Prognostic Significance of Pretreatment Thrombocytosis in Cervical Cancer Patients Treated with Definitive Radiotherapy. *International Journal of Gynecological Cancer*, 25(9), 1656–1662. <https://doi.org/10.1097/IGC.0000000000000533>
- Kayukova, E., Sholokhov, L., Belokrinitskaya, T., & Tereshkov, P. (2021). Checkpoint proteins in patients with precancer and cervical cancer. *BioRxiv*, 2(9), 430409. <https://doi.org/10.1101/2021.02.09.430409>
- Khamis, S. I., Mrema, A. S., Katanga, J., & Lugina, E. L. (2021). Survival in Cervical Cancer and Its Predictors at Ocean Road Cancer Institute From January to December 2012. *JCO Global Oncology*, 7, 734–739. <https://doi.org/10.1200/go.20.00616>
- Kim, B. H., & Chang, J. H. (2019). Differential effect of GLUT1 overexpression on survival and tumor immune microenvironment of human papilloma virus type 16-positive and -negative cervical cancer. *Scientific Reports*, 9(1), 1–7. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-49928-x>
- Kim, S., Cassella, C., & Byrne, K. (2021). Tumor Burden and Immunotherapy: Impact on Immune Infiltration and Therapeutic Outcomes. *Frontiers in Immunology*, 11(2), 1–15. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.629722>
- Klibi, J., Niki, T., Riedel, A., Pioche-Durieu, Catherine Souquere, S., Rubinstein, E., Le Moulec, S., Guigay, J., Hirashima, M., Guemira, F., Adhikary, D., Mautner, J., & Busson, P. (2009). Blood diffusion and Th1-suppressive effects of galectin-9 containing exosomes released by epstein-barr virus-infected nasopharyngeal carcinoma cells. *Blood*, 113(9), 3974. <https://doi.org/10.1182/blood-2009-08-240986>
- Konermann, S. (2019). Evaluation of immune responses induced by a novel human papillomavirus type 16 E7 peptide-based vaccine with Candida skin test reagent as an adjuvant in C57BL/6 mice. *Physiology & Behavior*, 173(3), 665–676. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2018.01.037.Evaluation>
- Kong, W., Zheng, J., Chen, L., Zuo, X., & Wang, H. (2020). Mean corpuscular hemoglobin concentration correlates with prognosis of resected hepatocellular carcinoma. *Biomark Med*, 14(4), 259–270. <https://doi.org/10.2217/bmm-2019-0224>
- Kozasa, K., Mabuchi, S., Komura, N., Yokoi, E., Hiromasa, K., Sasano, T., Kawano, M., Matsumoto, Y., Kobayashi, E., & Kimura, T. (2017). Comparison of clinical utilities of the platelet count and plateletlymphocyte ratio for predicting survival in patients with cervical cancer: A single institutional study and literature review. *Oncotarget*, 8(33), 55394–55404. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.19560>
- Kumar, S., Mohan, A., & Guleria, R. (2006). Biomarkers in cancer screening, research and detection: Present and future: A review. *Biomarkers*, 11(5), 385–405. <https://doi.org/10.1080/13547500600775011>
- Kumar, Sanjeev, Shah, J. P., Bryant, C. S., Imudia, A. N., Ali-Fehmi, R., Malone, J. M., & Morris, R. T. (2009). Prognostic significance of keratinization in squamous cell cancer of uterine cervix: A population based study. *Archives of Gynecology and Obstetrics*, 280(1), 25–32. <https://doi.org/10.1007/s00404-008-0851-9>
- Kyung, M. S., Kim, H. B., Seoung, J. Y., Choi, I. Y., Joo, Y. S., Lee, M. Y., Kang, J. B., & Park, Y. H. (2015). Tumor size and lymph node status determined by imaging are reliable factors for predicting advanced cervical cancer prognosis. *Oncology Letters*, 9(5), 2218–2224. <https://doi.org/10.3892/ol.2015.3015>
- Labrie, M., De Araujo, L. O. F., Communal, L., Mes-Masson, A. M., & St-Pierre, Y. (2017). Tissue and plasma levels of

- galectins in patients with high grade serous ovarian carcinoma as new predictive biomarkers. *Scientific Reports*, 7(1), 1–13. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-13802-5>
- Larionova, I., Cherdyntseva, N., Liu, T., Patysheva, M., Rakina, M., & Kzhyshkowska, J. (2019). Interaction of tumor-associated macrophages and cancer chemotherapy. *OncImmunology*, 8(7), 1–15. <https://doi.org/10.1080/2162402X.2019.1596004>
- Lee, J. K., & Priceman, S. J. (2019). Precision Medicine-Enabled Cancer Immunotherapy. In *Precision Medicine in Cancer Therapy* (pp. 189–205). https://doi.org/10.1007/978-3-030-16391-4_7
- Lee, J. W., & Seol, K. H. (2021). Pretreatment neutrophil-to-lymphocyte ratio combined with platelet-to-lymphocyte ratio as a predictor of survival outcomes after definitive concurrent chemoradiotherapy for cervical cancer. *Journal of Clinical Medicine*, 10(1), 2199. <https://doi.org/10.3390/jcm10102199>
- Lee, M. Y., & Shen, M. R. (2012). Epithelial-mesenchymal transition in cervical carcinoma. *American Journal of Translational Research*, 4(1), 1–13.
- Lee, Y. Y., Choi, C. H., Sung, C. O., Do, I. G., Huh, S., Song, T., Kim, M. K., Kim, H. J., Kim, T. J., Lee, J. W., Kim, B. G., & Bae, D. S. (2012). Prognostic value of pre-treatment circulating monocyte count in patients with cervical cancer: Comparison with SCC-Ag level. *Gynecologic Oncology*, 124(1), 92–97. <https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2011.09.034>
- Lei, J., Andrae, B., Ploner, A., Lagheden, C., Eklund, C., Kleppe, S. N., Wang, J., Fang, F., Dillner, J., Elfström, K. M., & Sparén, P. (2019). Cervical screening and risk of adenosquamous and rare histological types of invasive cervical carcinoma: Population based nested case-control study. *BMJ (Online)*, 365(1), 1–8. <https://doi.org/10.1136/bmj.l1207>
- Li, F., Du, X., Lan, F., Li, N., Zhang, C., Zhu, C., Wang, X., He, Y., Shao, Z., Chen, H., Luo, M., Li, W., Chen, Z., Ying, S., & Shen, H. (2021). Eosinophilic inflammation promotes CCL6-dependent metastatic tumor growth. *Science Advances*, 7(22), 1–9. <https://doi.org/10.1126/sciadv.abb5943>
- Li, S., Li, X., Zhang, Y., Zhou, H., Tang, F., Jia, Y., Hu, T., Sun, H., Yang, R., Chen, Y., Cheng, X., Lv, W., Wu, L., Zhou, J., Wang, S., Huang, K., Wang, L., Yao, Y., Yang, Q., ... Ma, D. (2016). Development and validation of a surgical-pathologic staging and scoring system for cervical cancer. *Oncotarget*, 7(15), 21054–21063. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.8245>
- Li, Zheng, Hong, N., Robertson, M., Wang, C., & Jiang, G. (2017). Preoperative red cell distribution width and neutrophil-to-lymphocyte ratio predict survival in patients with epithelial ovarian cancer. *Scientific Reports*, 7(2), 1–11. <https://doi.org/10.1038/srep43001>
- Li, Zigang, Chen, J., Zhao, S., Li, Y., Zhou, J., Liang, J., & Tang, H. (2021). Discovery and validation of novel biomarkers for detection of cervical cancer. *Cancer Medicine*, 10(6), 2063–2074. <https://doi.org/10.1002/cam4.3799>
- Liang, Mei-yan, Lu, Y.-M., Zhang, Y., & Zhang, S. (2008). Serum galectin-9 in cervical cancer. *Natl Med J China*, 88(39), 2783–2785. <https://doi.org/10.3321/j.issn:0376-2491.2008.39.013>
- Liang, Meiyang, Ueno, M., Oomizu, S., Arikawa, T., Shinonaga, R., Zhang, S., Yamauchi, A., & Hirashima, M. (2008). Galectin-9 expression links to malignant potential of cervical squamous cell carcinoma. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*, 134(8), 899–907. <https://doi.org/10.1007/s00432-008-0352-z>
- Liang, T., Wang, X., Wang, F., Feng, E., & You, G. (2019). Galectin-9: A Predictive Biomarker Negatively Regulating Immune Response in Glioma Patients. *World Neurosurgery*, 132, e455–e462. <https://doi.org/10.1016/j.wneu.2019.08.117>
- Lin, Y. H., Kuo, H. H., Tseng, L. H., Qiu, J. T., Chang, F. S., & Lin, C. T. (2016). Complete remission of relapsed cervical cancer through immunochemoradiotherapy: Two case reports and three proposed mechanism. *Gynecology and Minimally Invasive Therapy*, 5(3), 127–131. <https://doi.org/10.1016/j.gmit.2016.01.008>
- Lippi, G., Salvagno, G. L., Bonfanti, L., & Cervellini, G. (2014). Relationship between serum galectin-3 values and demographical or biochemical variables in patients without acute coronary syndrome. *International Journal of Cardiology*, 171(2), 270–271. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2013.11.137>
- Lissoni, P., Brivio, F., Fumagalli, L., Messina, G., Ghezzi, V., Frontini, L., Giani, L., Vaghi, M., Ardizzoia, A., & Gardani,

- G. S. (2004). Efficacy of cancer chemotherapy in relation to the pretreatment number of lymphocytes in patients with metastatic solid tumors. *International Journal of Biological Markers*, *19*(2), 135–140. <https://doi.org/10.1177/172460080401900208>
- Liu, J., Geng, X., Hou, J., & Wu, G. (2021). New insights into M1/M2 macrophages: key modulators in cancer progression. *Cancer Cell International*, *21*(1), 1–7. <https://doi.org/10.1186/s12935-021-02089-2>
- Liu, X., Li, M., Zhao, F., Zhu, Y., Luo, Y., Kong, L., Zhu, H., Zhang, Y., Shi, F., & Yu, J. (2017). The lymphocyte–monocyte ratio predicts tumor response and survival in patients with locally advanced esophageal cancer who received definitive chemoradiotherapy. *OncoTargets and Therapy*, *10*, 871–877. <https://doi.org/10.2147/OTT.S124915>
- Liu, Y., Liu, Z., Fu, Q., Wang, Z., Fu, H., Liu, W., Wang, Y., & Xu, J. (2017). Galectin-9 as a prognostic and predictive biomarker in bladder urothelial carcinoma. *Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations*, *35*(6), 349–355. <https://doi.org/10.1016/j.urolonc.2017.02.008>
- Ma, J. Y., Ke, L. C., & Liu, Q. (2018). The pretreatment platelet-to-lymphocyte ratio predicts clinical outcomes in patients with cervical cancer: A meta-analysis. *Medicine (United States)*, *97*(43). <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000012897>
- Madeddu, C., Gramignano, G., Astara, G., Demontis, R., Sanna, E., Atzeni, V., & Macciò, A. (2018). Pathogenesis and treatment options of cancer related anemia: Perspective for a targeted mechanism-based approach. *Frontiers in Physiology*, *9*(7), 1–20. <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.01294>
- Madeddu, C., Sanna, E., Oppi, S., & Macciò, A. (2021). Experimental Drugs for Chemotherapy- and Cancer-Related Anemia. *Journal of Experimental Pharmacology*, *13*(7), 593–611.
- Manzo-Merino, J., Del-Toro-Arreola, S., Rocha-Zavaleta, L., Peralta-Zaragoza, Ó., Jiménez-Lima, R., & Madrid-Marina, V. (2020). Immunology of Cervical Cancer. *Revista de Investigacion Clinica; Organo Del Hospital de Enfermedades de La Nutricion*, *72*(4), 188–197. <https://doi.org/10.24875/RIC.20000057>
- Marone, G., Schroeder, J. T., Mattei, F., Loffredo, S., Gambardella, A. R., Poto, R., de Paulis, A., Schiavoni, G., & Varricchi, G. (2020). Is There a Role for Basophils in Cancer? *Frontiers in Immunology*, *11*(9), 1–16. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.02103>
- Martin, T. A., & Jiang, W. G. (2009). Loss of tight junction barrier function and its role in cancer metastasis. *Biochimica et Biophysica Acta - Biomembranes*, *1788*(4), 872–891. <https://doi.org/10.1016/j.bbmem.2008.11.005>
- Maskey, N., Thapa, N., Maharjan, M., Shrestha, G., Maharjan, N., Cai, H., & Liu, S. (2019). Infiltrating CD4 and CD8 lymphocytes in hpv infected uterine cervical milieu. *Cancer Management and Research*, *11*(1), 7647–7655. <https://doi.org/10.2147/CMAR.S217264>
- Masucci, M. T., Minopoli, M., Del Vecchio, S., & Carriero, M. V. (2020). The Emerging Role of Neutrophil Extracellular Traps (NETs) in Tumor Progression and Metastasis. *Frontiers in Immunology*, *11*(9), 1–7. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.01749>
- Matsuo, K., Mandelbaum, R. S., Machida, H., Purushotham, S., Grubbs, B. H., Roman, L. D., & Wright, J. D. (2018). Association of tumor differentiation grade and survival of women with squamous cell carcinoma of the uterine cervix. *Journal of Gynecologic Oncology*, *29*(6), 1–12. <https://doi.org/10.3802/jgo.2018.29.e91>
- Mercier, J., & Voutsadakis, I. A. (2018). The platelets-neutrophils to lymphocytes ratio: A new prognostic marker in metastatic colorectal cancer. *Journal of Gastrointestinal Oncology*, *9*(3), 478–486. <https://doi.org/10.21037/jgo.2018.03.13>
- Merz, J., Bossart, M., Bamberg, F., & Eisenblaetter, M. (2020). Revised FIGO Staging for Cervical Cancer - A New Role for MRI. *RoFo Fortschritte Auf Dem Gebiet Der Rontgenstrahlen Und Der Bildgebenden Verfahren*, *192*(10), 937–944. <https://doi.org/10.1055/a-1198-5729>
- Migita, K., Nakamura, M., Aiba, Y., Kozuru, H., Abiru, S., Komori, A., Fujita, Y., Temmoku, J., Asano, T., Sato, S., Furuya, M., Naganuma, A., Yoshizawa, K., Shimada, M., Ario, K., Mannami, T., Kohno, H., Kaneyoshi, T., Komura, T., ... Yatsuhashi, H. (2021). Association of soluble T cell immunoglobulin domain and mucin-3 (sTIM-3) and mac-2 binding protein glycosylation isomer (M2BPGi) in patients with autoimmune hepatitis. *PLoS ONE*, *15*(12), 1–15. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0238540>

- Mitomo, A., Arikawa, T., Liao, S., Sakata, H., Shimada, H., Hatta, T., Hirashima, M., Kawabata, H., & Shoji, H. (2017). マウスにおいてガレクチン9は血小板産生を正に制御する (Galectin-9 positively regulates platelet production in mice). *臨床血液 (Japanese Journal of Clinical Hematology)*, *58*(9), 1669–1669.
- Moar, P., & Tandon, R. (2021). Galectin-9 as a biomarker of disease severity. *Cellular Immunology*, *361*(2), 104287. <https://doi.org/10.1016/j.cellimm.2021.104287>
- Mocciaro, V., Scollo, P., Stefano, A., Gieri, S., Russo, G., Scibilia, G., Cosentino, S., Murè, G., Baldari, S., Sabini, M. G., Fraggetta, F., Gilardi, M. C., & Ippolito, M. (2016). Correlation between histological grade and positron emission tomography parameters in cervical carcinoma. *Oncology Letters*, *12*(2), 1408–1414. <https://doi.org/10.3892/ol.2016.4771>
- Möller-Hackbarth, K., Dewitz, C., Schweigert, O., Trad, A., Garbers, C., Rose-John, S., & Scheller, J. (2013). A disintegrin and metalloprotease ADAM10 and ADAM17 are major sheddases of TIM-3. *Journal of Biological Chemistry*, *288*(48), 34529–34544. <https://doi.org/10.1074/jbc.M113.488478>
- Mondal, H., & Budh, D. P. (2021). Hematocrit. In *StatPearls*. StatPearls Publishing. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK542276/>
- Mori, Y., Sato, H., Kumazawa, T., Mayang Permata, T. B., Yoshimoto, Y., Murata, K., Noda, S. E., Kaminuma, T., Ando, K., Oike, T., Okonogi, N., Okada, K., Kakoti, S., Suzuki, K., Ikota, H., Yokoo, H., Nakano, T., Ohno, T., & Shibata, A. (2021). Analysis of radiotherapy-induced alteration of CD8+ T cells and PD-L1 expression in patients with uterine cervical squamous cell carcinoma. *Oncology Letters*, *21*(6), 1–10. <https://doi.org/10.3892/ol.2021.12707>
- Mosquera-Heredia, M. I., Morales, L. C., Vidal, O. M., Barceló, E., Silvera-Redondo, C., Vélez, J. I., & Garavito-Galofre, P. (2021). Exosomes: Potential disease biomarkers and new therapeutic targets. *Biomedicines*, *9*(8), 1–48. <https://doi.org/10.3390/biomedicines9081061>
- Mukhopadhyay, S., Ray, S., Dhar, S., Bandyopadhyay, R., & Sinha, S. (2013). Evaluation of the category high-grade squamous intraepithelial lesion in The Bethesda System for reporting cervical cytology. *J Cytol*, *30*(1), 33–35. <https://doi.org/10.4103/0970-9371.107510>
- Natalucci, V., Virgili, E., Calcagnoli, F., Valli, G., Agostini, D., Zeppa, S. D., Barbieri, E., & Emili, R. (2021). Cancer related anemia: An integrated multitarget approach and lifestyle interventions. *Nutrients*, *13*(2), 1–37. <https://doi.org/10.3390/nu13020482>
- Naumann, W., & Leath, C. (2020). Advances in Immunotherapy for Cervical Cancer. *Physiology & Behavior*, *32*(5), 481–487. <https://doi.org/10.1097/CCO.0000000000000663>.Advances
- NCCN. (2020). *Clinical Practice Guidelines in Oncology for Cervical Cancer*.
- NCI. (2020). *Definition of lymphocyte - NCI Dictionary of Cancer Terms - National Cancer Institute*. <https://www.cancer.gov/publications/dictionaries/cancer-terms/def/lymphocyte>
- Nessler, J. P., Lee, M. H., Nguyen, C., Kalbasi, A., Sayre, J. W., Romero, T., Nickers, P., McBride, W. H., & Schae, D. (2020). Tumor size matters—understanding concomitant tumor immunity in the context of hypofractionated radiotherapy with immunotherapy. *Cancers*, *12*(3), 1–12. <https://doi.org/10.3390/cancers12030714>
- Niki, T., Fujita, K., Rosen, H., Hirashima, M., Masaki, T., Hattori, T., & Hoshino, K. (2018). Plasma galectin-9 concentrations in normal and diseased condition. *Cellular Physiology and Biochemistry*, *50*(5), 1856–1868. <https://doi.org/10.1159/000494866>
- Nishi, N., Itoh, A., Shoji, H., Miyanaka, H., & Nakamura, T. (2006). Galectin-8 and galectin-9 are novel substrates for thrombin. *Glycobiology*, *16*(11), 15–20. <https://doi.org/10.1093/glycob/cwl028>
- Nishikawa, D., Suzuki, H., Beppu, S., Terada, H., Sawabe, M., Kadowaki, S., Sone, M., & Hanai, N. (2021). Eosinophil prognostic scores for patients with head and neck squamous cell carcinoma treated with nivolumab. *Cancer Science*, *112*(1), 339–346. <https://doi.org/10.1111/cas.14706>
- Nkwabong, E., Laure Bessi Badjan, I., & Sando, Z. (2019). Pap smear accuracy for the diagnosis of cervical precancerous lesions. *Tropical Doctor*, *49*(1), 34–39. <https://doi.org/10.1177/0049475518798532>
- Normanno, N., Apostolides, K., de Lorenzo, F., Beer, P. A., Henderson, R., Sullivan, R., Biankin, A. V., Horgan, D., &

- Lawler, M. (2021). Cancer Biomarkers in the era of precision oncology: Addressing the needs of patients and health systems. *Seminars in Cancer Biology*, 10(1), S1044-579X(21)00214-5. <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2021.08.002>
- Obralić, N., Bilenjki, D., & Bilbija, Ž. (1990). Prognostic Importance of Anemia Related Parameters in Patients with Carcinoma of the Cervix Uteri. *Acta Oncologica*, 29(2), 199–201. <https://doi.org/10.3109/02841869009126545>
- Oishi, S., Kudaka, W., Toita, T., Ariga, T., Nakamoto, T., Wakayama, A., Nagai, Y., Kaneshima, I., Nishihira, K., & Aoki, Y. (2016). Prognostic factors and treatment outcome for patients with stage ivb cervical cancer. *Anticancer Research*, 36(7), 3471–3475.
- Olivier, M., Asmis, R., Hawkins, G. A., Howard, T. D., & Cox, L. A. (2019). The need for multi-omics biomarker signatures in precision medicine. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(19). <https://doi.org/10.3390/ijms20194781>
- Olpin, J., Chuang, L., Berek, J., & Ga, D. (2018). *Imaging and cancer of the cervix in low- and middle-income countries*. 25(7), 115–121. <https://doi.org/10.1016/j.gore.2018.07.001>
- Ou, F. S., Michiels, S., Shyr, Y., Adjei, A. A., & Oberg, A. L. (2021). Biomarker Discovery and Validation: Statistical Considerations. *Journal of Thoracic Oncology*, 16(4), 537–545. <https://doi.org/10.1016/j.jtho.2021.01.1616>
- Padilla, S. T., Niki, T., Furushima, D., Bai, G., Chagan-Yasutan, H., Telan, E. F., Tactacan-Abrenica, R. J., Maeda, Y., Solante, R., & Hattori, T. (2020). Plasma levels of a cleaved form of galectin-9 are the most sensitive biomarkers of acquired immune deficiency syndrome and tuberculosis coinfection. *Biomolecules*, 10(11), 1–15. <https://doi.org/10.3390/biom10111495>
- Palacios-Acedo, A. L., Mège, D., Crescence, L., Dignat-George, F., Dubois, C., & Panicot-Dubois, L. (2019). Platelets, Thrombo-Inflammation, and Cancer: Collaborating With the Enemy. *Frontiers in Immunology*, 10(7), 1805. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01805>
- Palaia, I., Tomao, F., Di Pinto, A., Pernazza, A., Santangelo, G., D'Alessandris, N., Manganaro, L., Arno, A., Di Donato, V., Perniola, G., Rocca, C. Della, & Panici, P. B. (2021). Response to neoadjuvant chemotherapy in locally advanced cervical cancer: The role of immune-related factors. *In Vivo*, 35(2), 1277–1283. <https://doi.org/10.21873/INVIVO.12379>
- Parihar, A., Jain, S., Parihar, D. S., Ranjan, P., & Khan, R. (2021). Biomarkers associated with different types of cancer as a potential candidate for early diagnosis of oncological disorders. In *Biosensor Based Advanced Cancer Diagnostics* (pp. 47–57). <https://doi.org/10.1016/C2020-0-00363-4>
- Patel, R., English, L., Liu, W. K., Tree, A. C., Ayres, B., Watkin, N., Pickering, L. M., & Afshar, M. (2020). Red cell differential width (RDW) as a predictor of survival outcomes with palliative and adjuvant chemotherapy for metastatic penile cancer. *International Urology and Nephrology*, 52(12), 2301–2306. <https://doi.org/10.1007/s11255-020-02565-0>
- Pedersen, O. H., Larsen, M. L., Grove, E. L., van Kooten Niekerk, P. B., Bønløkke, S., Nissen, P. H., Kristensen, S. D., & Hvas, A. M. (2018). Platelet characteristics in patients with essential thrombocytosis. *Cytometry Part B - Clinical Cytometry*, 94(6), 918–927. <https://doi.org/10.1002/cyto.b.21642>
- Pedrazzani, C., Tripepi, M., Turri, G., Fernandes, E., Scotton, G., Conci, S., Campagnaro, T., Ruzzenente, A., & Guglielmi, A. (2020). Prognostic value of red cell distribution width (RDW) in colorectal cancer. Results from a single-center cohort on 591 patients. *Scientific Reports*, 10(1), 1–9. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-57721-4>
- Perkins, R. B., Guido, R. S., Castle, P. E., Chelmow, D., Einstein, M. H., Garcia, F., Huh, W. K., Kim, J. J., Moscicki, A. B., Nayar, R., Saraiya, M., Sawaya, G. F., Wentzensen, N., & Schiffman, M. (2020). 2019 ASCCP Risk-Based Management Consensus Guidelines for Abnormal Cervical Cancer Screening Tests and Cancer Precursors. *Journal of Lower Genital Tract Disease*, 24(2), 102–131. <https://doi.org/10.1097/LGT.0000000000000525>
- Petignat, P., & Roy, M. (2007). Diagnosis and management of cervical cancer. *British Medical Journal*, 335(7623), 765–768. <https://doi.org/10.1136/bmj.39337.615197.80>
- Piersma, S. J. (2011). Immunosuppressive tumor microenvironment in cervical cancer patients. *Cancer Microenvironment*, 4(3), 361–375. <https://doi.org/10.1007/s12307-011-0066-7>
- Qi, Q., Zhuang, L., Shen, Y., Geng, Y., Yu, S., Chen, H., Liu, L., Meng, Z., Wang, P., & Chen, Z. (2016). A novel systemic

- inflammation response index (SIRI) for predicting the survival of patients with pancreatic cancer after chemotherapy. *Cancer*, 122(14), 2158–2167. <https://doi.org/10.1002/cncr.30057>
- Qiu, P., Zhou, J., Zhang, J., Dong, Y., & Liu, Y. (2021). Exosome: The Regulator of the Immune System in Sepsis. *Frontiers in Pharmacology*, 12(4), 1–20. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.671164>
- RAE. (2020). *Tumor | Definición | Diccionario de la lengua española | RAE - ASALE*. <https://dle.rae.es/tumor>
- Ramírez-Díaz, I. (2021). *Evaluación de la expresión de Galectina-9 en relación al tamaño del tumor de pacientes con cáncer cervicouterino*. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Tesis maestría.
- Renassia, C., & Peyssonnaud, C. (2019). New insights into the links between hypoxia and iron homeostasis. *Current Opinion in Hematology*, 26(3), 125–130. <https://doi.org/10.1097/MOH.0000000000000494>
- Reyes-Vallejo, T. V. (2020). *Determinación de la concentración de galectina-9 en el suero de pacientes con cáncer cervicouterino y su posible uso como biomarcador de progresión de la enfermedad*. Universidad de las Américas Puebla. Tesis licenciatura.
- Rosenberg, H. F., Dyer, K. D., & Foster, P. S. (2013). Eosinophils: Changing perspectives in health and disease. *Nature Reviews Immunology*, 13(1), 9–22. <https://doi.org/10.1038/nri3341>
- Ru, Y. X., Dong, S. X., Liang, H. yue, & Zhao, S. X. (2016). Platelet production of megakaryocyte: A review with original observations on human in vivo cells and bone marrow. *Ultrastructural Pathology*, 40(4), 163–170. <https://doi.org/10.3109/01913123.2016.1170744>
- Sabatos, C. A., Chakravarti, S., Cha, E., Schubart, A., Sánchez-Fueyo, A., Zheng, X. X., Coyle, A. J., Strom, T. B., Freeman, G. J., & Kuchroo, V. K. (2003). Interaction of Tim-3 and Tim-3 ligand regulates T helper type 1 responses and induction of peripheral tolerance. *Nature Immunology*, 4(11), 1102–1110. <https://doi.org/10.1038/ni988>
- Şahin, A. B., Cubukcu, E., Ocak, B., Deligonul, A., Oyucu Orhan, S., Tolunay, S., Gokgoz, M. S., Cetintas, S., Yarbas, G., Senol, K., Goktug, M. R., Yanasma, Z. B., Hasanzade, U., & Evrensel, T. (2021). Low pan-immune-inflammation-value predicts better chemotherapy response and survival in breast cancer patients treated with neoadjuvant chemotherapy. *Scientific Reports*, 11(1), 1–8. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-94184-7>
- Salatino, A., Aversa, I., Battaglia, A. M., Sacco, A., Di Vito, A., Santamaria, G., Chirillo, R., Veltri, P., Tradigo, G., Di Cello, A., Venturella, R., Biamonte, F., & Costanzo, F. (2019). H-Ferritin Affects Cisplatin-Induced Cytotoxicity in Ovarian Cancer Cells through the Modulation of ROS. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 31(7), 3461251. <https://doi.org/10.1155/2019/3461251>
- Salvo, G., Odetto, Di., Saez Perrotta, M. C., Noll, F., Perrotta, M., Pareja, R., Wernicke, A., & Ramirez, P. T. (2020). Measurement of tumor size in early cervical cancer: An ever-evolving paradigm. *International Journal of Gynecological Cancer*, 30(8), 1215–1223. <https://doi.org/10.1136/ijgc-2020-001436>
- Sarkar, S., Kannan, S., Khanna, P., & Singh, A. K. (2021). Role of red blood cell distribution width, as a prognostic indicator in COVID-19: A systematic review and meta-analysis. *Reviews in Medical Virology*, 1(6), e2264. <https://doi.org/10.1002/rmv.2264>
- Sarma, P. R. (1990). Red Cell Indices. In *Clinical Methods: The History, Physical, and Laboratory Examinations*. Butterworths. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK260/>
- Sato, S., St-Pierre, C., Bhaumik, P., & Nieminen, J. (2009). Galectins in innate immunity: Dual functions of host soluble β -galactoside-binding lectins as damage-associated molecular patterns (DAMPs) and as receptors for pathogen-associated molecular patterns (PAMPs). *Immunological Reviews*, 230(1), 172–187. <https://doi.org/10.1111/j.1600-065X.2009.00790.x>
- Schorn, C., Janko, C., Krenn, V., Zhao, Y., Munoz, L. E., Schett, G., & Herrmann, M. (2012). Bonding the foe - NETting neutrophils immobilize the pro-inflammatory monosodium urate crystals. *Frontiers in Immunology*, 3(12), 1–6. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2012.00376>
- Seifert, A. M., Reiche, C., Heiduk, M., Tannert, A., Meinecke, A. C., Baier, S., von Renesse, J., Kahlert, C., Distler, M., Welsch, T., Reissfelder, C., Aust, D. E., Miller, G., Weitz, J., & Seifert, L. (2020). Detection of pancreatic ductal adenocarcinoma with galectin-9 serum levels. *Oncogene*, 39(15), 3102–3113. <https://doi.org/10.1038/s41388-020-1186-7>

- Shah, S. C., Kayamba, V., Peek, R. M., & Heimbarger, D. (2019). Cancer control in low- And middle-income countries: Is it time to consider screening? *Journal of Global Oncology*, *5*(1), 1–8. <https://doi.org/10.1200/JGO.18.00200>
- Shimura, T., Shibata, M., Gonda, K., Nakajima, T., Chida, S., Noda, M., Suzuki, S., Nakamura, I., Ohki, S., & Takenoshita, S. (2016). Association between circulating galectin-3 levels and the immunological, inflammatory and nutritional parameters in patients with colorectal cancer. *Biomedical Reports*, *5*(2), 203–207. <https://doi.org/10.3892/br.2016.696>
- Shin, M. B., Liu, G., Mugo, N., Garcia, P. J., Rao, D. W., Bayer, C. J., Eckert, L. O., Pinder, L. F., Wasserheit, J. N., & Barnabas, R. V. (2021). A Framework for Cervical Cancer Elimination in Low-and-Middle-Income Countries: A Scoping Review and Roadmap for Interventions and Research Priorities. *Frontiers in Public Health*, *9*(7), 1–20. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2021.670032>
- Shin, S. P., Seo, H. H., Shin, J. H., Park, H. B., Lim, D. P., Eom, H. S., Bae, Y. S., Kim, I. H., Choi, K., & Lee, S. J. (2013). Adenovirus expressing both thymidine kinase and soluble PD1 enhances antitumor immunity by strengthening CD8 T-cell response. *Molecular Therapy*, *21*(3), 688–695. <https://doi.org/10.1038/mt.2012.252>
- Siddiqui, S., Jaiswal, R., & Sarwar, G. (2020). Quantitative analysis of tumor-associated tissue eosinophils and tumor-associated blood eosinophils in oral squamous cell carcinoma. *Journal of Oral and Maxillofacial Pathology*, *24*(1), 131–137. <https://doi.org/10.4103/jomfp.JOMFP>
- Sideras, K., de Man, R. A., Harrington, S. M., Polak, W. G., Zhou, G., Schutz, H. M., Pedroza-Gonzalez, A., Biermann, K., Mancham, S., Hansen, B. E., Bart Takkenberg, R., van Vuuren, A. J., Pan, Q., Ijzermans, J. N. M., Sleijfer, S., Sprengers, D., Dong, H., Kwekkeboom, J., & Bruno, M. J. (2019). Circulating levels of PD-L1 and Galectin-9 are associated with patient survival in surgically treated Hepatocellular Carcinoma independent of their intra-tumoral expression levels. *Scientific Reports*, *9*(1), 1–10. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-47235-z>
- Singh, S., Himler, J., Nagel, C. I., & Resnick, K. (2017). The Prognostic Value of Baseline Lymphocyte, Neutrophil, and Monocyte Counts in Locally Advanced Cervical Carcinoma Treated with Radiation. *Obstetrics and Gynecology International*, *17*(1), 8584605. <https://doi.org/10.1155/2017/8584605>
- Soslow, R., Park, K., & Stolnicu, S. (2021). Atlas of Diagnostic Pathology of the Cervix. In *Atlas of Diagnostic Pathology of the Cervix* (1st ed.). Springer. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-49954-9>
- Sun, L., Wang, X., Saredy, J., Yuan, Z., Yang, X., & Wang, H. (2020). Innate-adaptive immunity interplay and redox regulation in immune response. *Redox Biology*, *37*(10), 101759. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2020.101759>
- Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R. L., Laversanne, M., Soerjomataram, I., Jemal, A., & Bray, F. (2021). Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, *71*(3), 209–249. <https://doi.org/10.3322/caac.21660>
- Tan, L. T., Rusell, S., & Burgess, L. (2004). Acute toxicity of chemo-radiotherapy for cervical cancer: The Addenbrooke's experience. *Clinical Oncology*, *16*(4), 255–260. <https://doi.org/10.1016/j.clon.2003.12.004>
- TCGAN. (2017). Integrated genomic and molecular characterization of cervical cancer. *Nature*, *543*(7645), 378–384. <https://doi.org/10.1038/nature21386>.Integrated
- Tomasi, J. B. De, Opata, M. M., & Mowa, C. N. (2019). Immunity in the Cervix: Interphase between Immune and Cervical Epithelial Cells. *J Immunol Res*, *17*(4), 7693183.
- Trottier, H., & Franco, E. L. (2006). The epidemiology of genital human papillomavirus infection. *Vaccine*, *24*(1), 1–15. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2005.09.054>
- Tsikouras, P., Zervoudis, S., Manav, B., Tomara, E., Iatrakis, G., Romanidis, C., Bothou, A., & Galazios, G. (2016). Cervical cancer: Screening, diagnosis and staging. *Journal of B.U.ON.*, *21*(2), 320–325.
- Tsuboi, Y., Abe, H., Nakagawa, R., Oomizu, S., Watanabe, K., Nishi, N., Nakamura, T., Yamauchi, A., & Hirashima, M. (2007). Galectin-9 protects mice from the Shwartzman reaction by attracting prostaglandin E2-producing polymorphonuclear leukocytes. *Clinical Immunology*, *124*(2), 221–233. <https://doi.org/10.1016/j.clim.2007.04.015>
- Turner, J., Parsi, M., & Badireddy, M. (2021, August 11). *Anemia*. StatPearls. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK499994/>

- Uyeda, M. (2021). Potential biomarkers for cervical cancer screening and treatment. *Preprints*, *1*(12), 2020100220. <https://doi.org/10.20944/preprints202010.0220.v2>
- Vale, D. B., Silva, M. T., Discacciati, M. G., Polegatto, I., Teixeira, J. C., & Zeferino, L. C. (2021). Is the HPV-test more cost-effective than cytology in cervical cancer screening? An economic analysis from a middle-income country. *PLoS ONE*, *16*(5), 1–12. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0251688>
- Varlotto, J., & Stevenson, M. A. (2005). Anemia, tumor hypoxemia, and the cancer patient. *International Journal of Radiation Oncology Biology Physics*, *63*(1), 25–36. <https://doi.org/10.1016/j.ijrobp.2005.04.049>
- Varricchi, G., Galdiero, M. R., Loffredo, S., Lucarini, V., Marone, G., Mattei, F., Marone, G., & Schiavoni, G. (2018). Eosinophils: The unsung heroes in cancer? *Oncology*, *7*(2), 1–14. <https://doi.org/10.1080/2162402X.2017.1393134>
- Vega-Carrascal, I., Bergin, D. A., McElvaney, O. J., McCarthy, C., Banville, N., Pohl, K., Hirashima, M., Kuchroo, V. K., Reeves, E. P., & McElvaney, N. G. (2014). Galectin-9 Signaling through TIM-3 Is Involved in Neutrophil-Mediated Gram-Negative Bacterial Killing: An Effect Abrogated within the Cystic Fibrosis Lung. *The Journal of Immunology*, *192*(5), 2418–2431. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1300711>
- Verma, F., Juneja, S., Tandon, A., & Charah, D. S. (2020). Tumor-associated tissue eosinophilia versus tumor associated blood eosinophilia: A ratio of diagnostic importance in oral squamous cell carcinoma. *J Can Res Ther*, *16*(1), 581–586. https://doi.org/https://doi.org/10.4103/jcrt.JCRT_848_18
- Waldman, A. D., Fritz, J. M., & Lenardo, M. J. (2020). A guide to cancer immunotherapy: from T cell basic science to clinical practice. *Nature Reviews Immunology*, *20*(11), 651–668. <https://doi.org/10.1038/s41577-020-0306-5>
- Wang, H., Chen, W. M., Zhou, Y. H., Shi, J. P., Huang, Y. qing, & Wang, W. J. (2020). Combined PLT and NE to predict the prognosis of patients with locally advanced cervical cancer. *Scientific Reports*, *10*(1), 1–8. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-66387-x>
- Wang, L., Jia, J., Lin, L., Guo, J., Ye, X., Zheng, X., & Chen, Y. (2017). Predictive value of hematological markers of systemic inflammation for managing cervical cancer. *Oncotarget*, *8*(27), 44824–44832. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.14827>
- Wang, Q. xuan, Li, S. hua, Ji, B. yan, Wang, H. yu, Li, Y. yang, Feng, L. ling, Chen, K., Xia, Y. fei, & Zhang, Y. jing. (2017). Lymphocyte/Monocyte ratio is a novel predictor for early stage extranodal natural Killer/T-cell lymphoma, nasal type. *Journal of Cancer*, *8*(6), 1030–1037. <https://doi.org/10.7150/jca.17400>
- Wang, X., Qiu, L., Li, Z., Wang, X. Y., & Yi, H. (2018). Understanding the multifaceted role of neutrophils in cancer and autoimmune diseases. *Frontiers in Immunology*, *9*(9), 1–10. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.02456>
- Wang, Y., Sun, J., Ma, C., Gao, W., Song, B., Xue, H., Chen, W., Chen, X., Zhang, Y., Shao, Q., Wang, Q., Zhao, L., Liu, J., Wang, X., Wang, H., Yang, M., & Qu, X. (2016). Reduced expression of galectin-9 contributes to a poor outcome in colon cancer by inhibiting NK cell chemotaxis partially through the Rho/ROCK1 signaling pathway. *PLoS ONE*, *11*(3), 1–19. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0152599>
- Wassie, M., Aemro, A., & Fentie, B. (2021). Prevalence and associated factors of baseline anemia among cervical cancer patients in Tikur Anbesa Specialized Hospital, Ethiopia. *BMC Women's Health*, *21*(1), 1–8. <https://doi.org/10.1186/s12905-021-01185-9>
- Wassie, M., Argaw, Z., Tsige, Y., Abebe, M., & Kisa, S. (2019). Survival status and associated factors of death among cervical cancer patients attending at Tikur Anbesa Specialized Hospital, Addis Ababa, Ethiopia: a retrospective cohort study. *BMC Cancer*, *19*(1), 1–11.
- Watt, D. G., Proctor, M. J., Park, J. H., Horgan, P. G., & McMillan, D. C. (2015). The neutrophil-platelet score (NPS) predicts survival in primary operable colorectal cancer and a variety of common cancers. *PLoS ONE*, *10*(11), 1–12. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0142159>
- Wdowiak, K., Gallego-Colon, E., Francuz, T., Czajka-Francuz, P., Ruiz-Agamez, N., Kubeczko, M., Grochoła, I. G. A., Wybraniec, M. T., Chudek, J., & Wojnar, J. (2019). Increased serum levels of galectin-9 in patients with chronic lymphocytic leukemia. *Oncology Letters*, *17*(1), 1019–1029. <https://doi.org/10.3892/ol.2018.9656>
- Weiss, G., Ganz, T., & Goodnough, L. T. (2019). Anemia of inflammation. *Blood*, *133*(1), 40–50.

<https://doi.org/10.1182/blood-2018-06-856500>

- Wilkie, K. P., & Aktar, F. (2020). Mathematically modelling inflammation as a promoter of tumour growth. *Mathematical Medicine and Biology*, 37(4), 491–514. <https://doi.org/10.1093/imammb/dqaa005>
- Wisdom, A. J., Hong, C. S., Lin, A. J., Xiang, Y., Cooper, D. E., Zhang, J., Xu, E. S., Kuo, H. C., Mowery, Y. M., Carpenter, D. J., Kadakia, K. T., Himes, J. E., Luo, L., Ma, Y., Williams, N., Cardona, D. M., Haldar, M., Diao, Y., Markovina, S., ... Kirsch, D. G. (2019). Neutrophils promote tumor resistance to radiation therapy. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 116(37), 18584–18589. <https://doi.org/10.1073/pnas.1901562116>
- Wu, Z., Zhang, J., Cai, Y., Deng, R., Yang, L., Li, J., & Deng, Y. (2018). Reduction of circulating lymphocyte count is a predictor of good tumor response after neoadjuvant treatment for rectal cancer. *Medicine (United States)*, 97(38), e11435. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000011435>
- Xie, L., Chu, R., Wang, K., Zhang, X., Li, J., Zhao, Z., Yao, S., Wang, Z., Dong, T., Yang, X., Su, X., Qiao, X., Song, K., & Kong, B. (2020). Prognostic Assessment of Cervical Cancer Patients by Clinical Staging and Surgical-Pathological Factor: A Support Vector Machine-Based Approach. *Frontiers in Oncology*, 10(8), 1–11. <https://doi.org/10.3389/fonc.2020.01353>
- Xie, X., Yao, M., Chen, X., Lu, W., Lv, Q., Wang, K., Zhang, L., & Lu, F. (2015). Reduced red blood cell count predicts poor survival after surgery in patients with primary liver cancer. *Medicine (United States)*, 94(8), e577. <https://doi.org/10.1097/MD.0000000000000577>
- Xu, Y., Guan, C., & Zhang, X. (2018). Galectin-9 as a prognostic biomarker in small cell lung cancer. *Translational Cancer Research*, 7(3), 571–577. <https://doi.org/10.21037/tcr.2018.05.18>
- Yam-Puc, J. C., García-Marín, L., & Sánchez-Torres, L. E. (2012). Trampas extracelulares de neutrófilos (NET), consecuencia de un suicidio celular. *Gaceta Medica de Mexico*, 148(1), 68–75.
- Yamaguchi, M., Sekine, M., Hanley, S. J. B., Kudo, R., Hara, M., Adachi, S., Ueda, Y., Miyagi, E., & Enomoto, T. (2021). Risk factors for HPV infection and high-grade cervical disease in sexually active Japanese women. *Scientific Reports*, 11(1), 1–9. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-82354-6>
- Yamazaki, H., Inoue, T., Tanaka, E., Isohashi, F., Koizumi, M., Shuo, X., Nakamura, H., & Inoue, T. (2005). Pelvic irradiation-induced eosinophilia is correlated to prognosis of cervical cancer patients and transient elevation of serum interleukin 5 level. *Radiat Med*, 2(8), 317–321.
- Yang, J., Zhu, L., Cai, Y., Suo, J., & Jin, J. (2014). Role of downregulation of galectin-9 in the tumorigenesis of gastric cancer. *International Journal of Oncology*, 45(3), 1313–1320. <https://doi.org/10.3892/ijo.2014.2494>
- Yang, X., Wang, L., Du, H., Lin, B., Yi, J., Wen, X., Geng, L., & Du, X. (2021). Prognostic impact of eosinophils in peripheral blood and tumor site in patients with esophageal squamous cell carcinoma treated with concurrent chemoradiotherapy. *Medicine*, 100(3), e24328. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000024328>
- Yang, Y., Ying, G., Wu, F., & Chen, Z. (2020). sTim-3 alleviates liver injury via regulation of the immunity microenvironment and autophagy. *Cell Death Discovery*, 6(2), 1–12. <https://doi.org/https://doi.org/10.1038/s41420-020-00299-7>
- Yao, D., Wang, Z., Cai, H., & Li, Y. (2019). Relationship between red cell distribution width and prognosis in patients with breast cancer after operation: a retrospective cohort study. *Bioscience Reports*, 1(7), 1–9. <https://doi.org/10.1042/BSR20190740>
- Yasinska, I. M., Sakhnevych, S. S., Pavlova, L., Selnø, A. T. H., Abeleira, A. M. T., Benlaouer, O., Silva, I. G., Mosimann, M., Varani, L., Bardelli, M., Hussain, R., Siligardi, G., Cholewa, D., Berger, S. M., Gibbs, B. F., Ushkaryov, Y. A., Fasler-Kan, E., Klenova, E., & Sumbayev, V. V. (2019). The Tim-3-Galectin-9 pathway and its regulatory mechanisms in human breast cancer. *Frontiers in Immunology*, 10(7), 1–13. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01594>
- Zhang, C., Huang, D. jia, Baloche, V., Zhang, L., Xu, J. xiao, Li, B. wen, Zhao, X. rui, He, J., Mai, H. qiang, Chen, Q. yan, Zhang, X. shi, Busson, P., Cui, J., & Li, J. (2020). Galectin-9 promotes a suppressive microenvironment in human cancer by enhancing STING degradation. *Oncogenesis*, 9(7), 65. <https://doi.org/10.1038/s41389-020-00248-0>

- Zhang, P., Zong, Y., Liu, M., Tai, Y., Cao, Y., & Hu, C. (2016). Prediction of outcome in breast cancer patients using test parameters from complete blood count. *Mol Clin Oncol*, 6(4), 918–924. <https://doi.org/10.3892/mco.2016.827>
- Zhang, S., Xu, H., Zhang, L., & Qiao, Y. (2020). Cervical cancer: Epidemiology, risk factors and screening. *Chinese Journal of Cancer Research*, 32(6), 720–728. <https://doi.org/10.21147/j.issn.1000-9604.2020.06.05>
- Zhang, Z. Y., Dong, J. H., Chen, Y. W., Wang, X. Q., Li, C. H., Wang, J., Wang, G. Q., Li, H. L., & Wang, X. D. (2012). Galectin-9 acts as a prognostic factor with antimetastatic potential in hepatocellular carcinoma. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 13(6), 2503–2509. <https://doi.org/10.7314/APJCP.2012.13.6.2503>
- Zhao, C., Li, L. Q., Yang, F. D., Wei, R. L., Wang, M. K., Song, D. X., Guo, X. Y., Du, W., & Wei, X. T. (2020). A Hematological-Related Prognostic Scoring System for Patients With Newly Diagnosed Glioblastoma. *Frontiers in Oncology*, 10(12), 1–15. <https://doi.org/10.3389/fonc.2020.591352>
- Zhao, H., Wu, L., Yan, G., Chen, Y., Zhou, M., Wu, Y., & Li, Y. (2021). Inflammation and tumor progression: signaling pathways and targeted intervention. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 6(1), 263. <https://doi.org/10.1038/s41392-021-00658-5>
- Zhou, B., Xu, K., Zheng, X., Chen, T., Wang, J., Song, Y., Shao, Y., & Zheng, S. (2020). Application of exosomes as liquid biopsy in clinical diagnosis. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 5(1). <https://doi.org/10.1038/s41392-020-00258-9>
- Zhou, W., Yao, G., Chen, L., Hu, X., & Ye, C. (2017). Pretreatment hematocrit is negatively associated with response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer. *Biomarkers in Medicine*, 11(9), 713–720. <https://doi.org/10.2217/bmm-2017-0054>
- Zhou, X., Li, Q., Huang, S., Jiang, L., Zhou, J., & Cao, Y. (2012). Relation of Tim-3 expression in cervical cancer to tumor progression. *Cancer Prevention Research of China*, 39(11), 1353–1356. <https://doi.org/10.3971/j.issn.1000-8578.2012.11.018>
- Zhu, C., Anderson, A. C., Schubart, A., Xiong, H., Imitola, J., Khoury, S. J., Zheng, X. X., Strom, T. B., & Kuchroo, V. K. (2005). The Tim-3 ligand galectin-9 negatively regulates T helper type 1 immunity. *Nature Immunology*, 6(12), 1245–1252. <https://doi.org/10.1038/ni1271>
- Zhu, X., Wu, S. Q., Xu, R., Wang, Y. H., Zhong, Z. H., Zhang, L., & Zhao, X. K. (2019). The evaluation of monocyte lymphocyte ratio as a preoperative predictor in urothelial malignancies: a pooled analysis based on comparative studies. *Scientific Reports*, 9(1), 1–8. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-42781-y>
- Zilber, E., Martin, G., Willberg, C., Fox, J., Nwokolo, N., Fidler, S., Frater, J., Zilber, E., Martin, G., Willberg, C., Fox, J., Nwokolo, N., Fidler, S., & Frater, J. (2019). Soluble plasma programmed death 1 (PD-1) and Tim-3 in primary HIV infection. *Tropical Doctor*, 33(7), 1253–1256. <https://doi.org/doi:10.1097/QAD.0000000000002165>

MATERIALES SUPLEMENTARIOS

ÍNDICE DE TABLAS SUPLEMENTARIAS

<i>Tabla suplementaria S1. Niveles séricos de TIM-3 y Gal-9</i>	199
<i>Tabla suplementaria S2. Características clínicas</i>	199
<i>Tabla suplementaria S3. Características histopatológicas</i>	200
<i>Tabla suplementaria S4. Marcadores de inflamación grupo 1</i>	201
<i>Tabla suplementaria S5. Marcadores de inflamación grupo 2</i>	202
<i>Tabla suplementaria S6. Marcadores de anemia</i>	203
<i>Tabla suplementaria S7. Niveles en sangre de índices basados en TIM-3, y marcadores de inflamación grupo 1</i>	204
<i>Tabla suplementaria S8. Niveles en sangre de índices basados en TIM-3 y marcadores de anemia</i>	205
<i>Tabla suplementaria S9. Niveles en sangre de índices basados en Gal-9, y marcadores de inflamación grupo 1</i>	206
<i>Tabla suplementaria S10. Niveles en sangre de índices basados en Gal-9 y marcadores de anemia</i>	207
<i>Tabla suplementaria S11. Niveles séricos de Gal-9/TIM-3</i>	208
<i>Tabla suplementaria S12. Correlaciones entre los niveles en sangre de TIM-3 y marcadores de anemia e inflamación de pacientes con CaCu</i>	210
<i>Tabla suplementaria S13. Correlaciones entre los niveles en sangre de Gal-9, y los marcadores de anemia e inflamación de pacientes con CaCu</i>	211
<i>Tabla suplementaria S14. Relación de los niveles en sangre de marcadores de anemia e inflamación con los estadios FIGO en pacientes con CaCu</i>	212
<i>Tabla suplementaria S15. Relación de los niveles en sangre de marcadores de anemia e inflamación con el tamaño de tumor en pacientes con CaCu</i>	213
<i>Tabla suplementaria S16. Relación de los niveles en sangre de marcadores de anemia e inflamación con el tipo histológico de tumores en pacientes con CaCu</i>	214
<i>Tabla suplementaria S17. Relación de los niveles en sangre de marcadores de anemia e inflamación con el grado de diferenciación de tumores en pacientes con CaCu</i>	215
<i>Tabla suplementaria S18. Relación de los niveles en sangre de marcadores de anemia e inflamación con la queratinización de tumores en pacientes con CaCu</i>	216
<i>Tabla suplementaria S19. Relación de los niveles séricos de Gal-9 con las características clínico-histopatológicas en pacientes con CaCu</i>	217
<i>Tabla suplementaria S20. Relación de los niveles séricos de TIM-3 con las características clínico-histopatológicas en pacientes con CaCu</i>	218
<i>Tabla suplementaria S21. Correlaciones entre los niveles en sangre de Gal-9, y marcadores de anemia e inflamación de pacientes con tumores ≤6 cm</i>	219
<i>Tabla suplementaria S22. Correlaciones entre los niveles en sangre de Gal-9, y marcadores de anemia e inflamación de pacientes con tumores >6 cm</i>	220
<i>Tabla suplementaria S23. Correlaciones entre los niveles en sangre de TIM-3, y marcadores de anemia e inflamación de pacientes con tejidos no queratinizantes</i>	221

<i>Tabla suplementaria S24. Correlaciones entre los niveles en sangre TIM-3, y marcadores de anemia e inflamación de pacientes con tejidos queratinizantes</i>	222
<i>Tabla suplementaria S25. Relación de los niveles en sangre de índices basados en Gal-9, y marcadores de anemia e inflamación de pacientes con tumores ≤6 cm y <6 cm</i>	223
<i>Tabla suplementaria S26. Relación de los niveles en sangre de índices basados en TIM-3, y marcadores de anemia e inflamación con la queratinización de tumores en pacientes con CaCu</i>	224
<i>Tabla suplementaria S27. Asociación de los niveles en sangre de los marcadores de anemia e inflamación previo al tratamiento con la respuesta terapéutica</i>	225
<i>Tabla suplementaria S28. Asociación de los cambios en los niveles en sangre de marcadores de anemia e inflamación durante el tratamiento con la respuesta terapéutica</i>	226
<i>Tabla suplementaria S29. Asociación de los niveles en sangre de marcadores de anemia e inflamación en sangre posterior al tratamiento con la respuesta terapéutica</i>	227

ÍNDICE DE TABLAS DE CARACTERÍSTICAS DE LAS PACIENTES

<i>Tabla P1. Características clínico-histopatológicas de pacientes con CaCu</i>	228
<i>Tabla P2. Niveles en sangre de marcadores de inflamación de pacientes con CaCu</i>	229
<i>Tabla P3. Niveles en sangre de marcadores de anemia en sangre de pacientes con CaCu</i>	230
<i>Tabla P4. Características clínico-histopatológicas de pacientes respondedoras al tratamiento</i>	231
<i>Tabla P5. Características clínico-histopatológicas de las pacientes no respondedoras al tratamiento</i>	232

ÍNDICE DE FIGURAS SUPLEMENTARIAS

Figura S1. Los niveles en sangre de los índices de eritrocitos/log(Gal-9), VCM/log(Gal-9), HCM/log(Gal-9), hemoglobina/log(Gal-9), hematocrito/log(Gal-9), y CHCM/log(Gal-9) permiten identificar a las pacientes con tumores de cérvix ≤ 6 cm y >6 cm _____ 233

Figura S2. Los niveles en sangre de los índices de leucocitos/TIM-3, linfocitos/TIM-3, neutrófilos/TIM-3, basófilos/TIM-3, monocitos/TIM-3, y plaquetas/TIM-3 permiten diferenciar entre las pacientes con tumores de cérvix queratinizantes y no queratinizantes _____ 234

Figura S3. Los niveles en sangre de eritrocitos/TIM-3, hemoglobina/TIM-3, hematocrito/TIM-3, VCM/TIM-3, CHCM/TIM-3, y RDW/TIM-3 permiten diferenciar entre las pacientes con tumores de cérvix queratinizantes y no queratinizantes _____ 235

Figura S4. Cambios de los niveles en sangre leucocitos, neutrófilos, linfocitos, y neutrófilos/plaquetas previo y posterior al tratamiento de pacientes respondedoras y no respondedoras _____ 236

MATERIAL SUPLEMENTARIO 1: CONSENTIMIENTO INFORMADO

La carta de consentimiento informado corresponde a un proyecto registrado en el año 2017.

Las muestras sanguíneas, historia clínica, y datos relativos a la salud recolectados de este estudio se utilizaron en la presente tesis.



INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL

Coordinación de Investigación en Salud
Comisión Nacional de Investigación Científica

CONSENTIMIENTO INFORMADO

PARA PARTICIPAR EN EL PROTOCOLO DE INVESTIGACIÓN:

Expresión de Galectina 9 en cáncer cervicouterino: marcador predictivo de respuesta al tratamiento y supervivencia

Patrocinador externo: NO APLICA

Lugar y Fecha: _____

No. de registro: R-2017-785-119 _____

JUSTIFICACIÓN Y OBJETO DEL ESTUDIO

Estimada Paciente, se le invita a participar en el estudio de investigación, **Expresión de Galectina 9 en cáncer cervicouterino: marcador predictivo de respuesta al tratamiento y supervivencia**, registrado ante la Comisión Nacional de Investigación Científica del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS). Dicho proyecto se llevará a cabo en Unidad Médica de Alta Especialidad, CMN Manuel Ávila Camacho del IMSS, y en el Centro de Investigación Biomédica de Oriente, ubicado en la ciudad de Metepec, Puebla. El objetivo de la investigación es: Evaluar la expresión de galectina-9 en cáncer cervicouterino como un marcador predictivo de respuesta al tratamiento y supervivencia.

La galectina-9 es una proteína que participa en muchas funciones de la célula, como controlar la velocidad a la que se divide, o la capacidad que tiene de invadir otros tejidos.

Cuando una célula normal se transforma en una célula tumoral o cancerosa se presentan muchas alteraciones, una de ellas es la disminución en la cantidad de esta proteína, estos cambios le permiten a la célula cancerosa dividirse sin control lo que favorece el crecimiento del tumor.

Este proyecto en particular está dedicado al estudio de una región del cuerpo de las mujeres llamada cérvix o cuello del útero (matriz), que es el sitio en el que se unen la matriz y la vagina. En este sitio se desarrolla un tipo de cáncer llamado cervicouterino (cáncer del cuello del útero).

Tal vez usted ya sabe que el cáncer cervicouterino es una enfermedad grave que afecta a muchas mujeres mexicanas, por lo que el presente proyecto busca determinar si analizar la cantidad de galectina 9 puede ayudar a determinar el pronóstico del tumor, o dar seguimiento a las pacientes para identificar si existe una recaída, lo cual podría ser utilizado para identificar la presencia de cáncer lo más pronto posible. La cantidad de esta proteína en el tejido del cuello del útero puede modificarse en relación con la presencia y el tipo de virus del papiloma humano.

Usted ha sido elegida para participar en este proyecto de investigación porque al realizarle estudios de patología el reporte indicó que usted tiene cáncer cervicouterino.

Al igual que usted, se invitarán a participar otras pacientes que, de forma voluntaria y sin ninguna presión, acepten participar en el estudio. Por favor lea la información que le estamos proporcionando y si tiene alguna pregunta, con gusto le aclararemos sus dudas.

Su participación es voluntaria y su decisión de participar o no en este proyecto no afecta en nada su relación con el IMSS, es decir que Usted seguirá recibiendo la atención médica requerida para mejorar su salud independientemente de que decida o no participar en este estudio.

PROCEDIMIENTOS

Como parte de la atención que normalmente le brinda el IMSS, Usted se le realizan algunas preguntas sobre su estado de salud y sus antecedentes clínicos, se le realizará una exploración física minuciosa y los estudios de laboratorio que su médico juzgue convenientes, así como los procedimientos clínicos o quirúrgicos necesarios para tratar su enfermedad, en caso de tenerla. En este sentido el participar en el estudio no hará ningún cambio respecto a la atención que le brinda su médico en esta unidad, si es que fuera necesario.

Dependiendo de la etapa en que se encuentre su enfermedad (cáncer), se le realizarán diferentes tipos de tratamiento, los cuales incluyen cirugía, radioterapia y/o quimioterapia, su médico oncólogo, determinará cuál es el tratamiento más adecuado para tratar su enfermedad, para esto tomará en cuenta su edad, el número de hijos que haya tenido, su condición en general y el grado de avance de su enfermedad.

En ciertos casos de cáncer el médico decide retirar la parte del cuello de la matriz que está lesionada, mediante un tratamiento quirúrgico que se llama conización o simplemente cono (ya que la parte removida tiene dicha forma). En otros casos el médico puede decidir por retirarle quirúrgicamente toda la matriz (o útero), los ovarios y ganglios, si estuvieran comprometidos. Recuerde que esto dependerá de la gravedad de su enfermedad y las decisiones que tome el médico oncólogo que la está tratando, y en ningún caso se hace con el fin de aportar muestras a este proyecto de investigación.

Como parte de este estudio se le pedirá responder a un cuestionario que le aplicará una enfermera o un auxiliar del proyecto. El tiempo requerido para completar el cuestionario será de máximo 15 minutos.

Se le tomará una muestra del cuello del útero, siguiendo el mismo procedimiento utilizado para el estudio de Papanicolaou (raspado cervical); esta muestra se utilizará para conocer mediante procedimientos de laboratorio el tipo de virus de papiloma humano presente en las células.

Se le tomará una muestra de 3 ml sangre, que equivalente a media cucharadita cafetera, para evaluar la concentración de galectina-9 y determinar si está asociada con la presencia de la enfermedad.

Se le solicita su autorización para poder utilizar parte del tejido que se le haya retirado, ya sea como cono, biopsia o útero completo, para realizar otras pruebas de laboratorio que nos ayuden a identificar la cantidad de galectina 9. También le pedimos su autorización para conservar y almacenar las partes de las muestras de tejido no utilizadas en este estudio, para utilizarse en otros proyectos de investigación futuros que ayuden a detectar, prevenir y tratar el cáncer cervicouterino.

Así mismo, se le pedirá una muestra de sangre al concluir el tratamiento y aproximadamente cada seis meses durante su seguimiento hasta que sea dada de alta (a los 5 años), en este momento, termina su participación en el estudio.

Por ningún motivo se solicitará que usted asista al Hospital para la toma de muestra, esta se hará durante las citas de revisión que usted tenga programadas. Al respecto cuando se haga la toma de muestras de sangre de seguimiento, se tomarán algunos datos clínicos con respecto a la evolución de la enfermedad, tipo de tratamientos aplicados, resultados de laboratorio, estos datos se tomarán de su expediente concluyendo la consulta, lo que tomará máximo 5 min.

Los investigadores analizaremos los resultados y los publicaremos en Foros y revistas especializadas, sin que sea posible identificar a ninguna participante.

POSIBLES RIESGOS Y MOLESTIAS

La toma de las muestras de laboratorio no implica riesgo para usted porque será realizada por personal médico capacitado.

El raspado cervical se realiza con un cepillo desechable (solo se usa una vez) que raspa suavemente la superficie del cuello de la matriz. Las molestias que usted podría presentar son las mismas que usted ha sentido cuando le toman muestras para el Papanicolaou. En algunas ocasiones se puede presentar ligero dolor, pero éste desaparece en poco tiempo sin necesidad de recibir medicamentos

La toma de sangre le ocasionará molestias mínimas, como el leve dolor por el piquete con la aguja en el antebrazo al tomar la muestra de sangre, existiendo la posibilidad de formarse un moretón en el lugar de la toma de muestra de sangre.

Las muestras de tejido se tomarán de las de la biopsia que le fue tomada para realizar el diagnóstico de su enfermedad.

POSIBLES BENEFICIOS QUE RECIBIRÁ AL PARTICIPAR EN EL ESTUDIO

Por su participación en el estudio usted no tendrá que hacer ningún gasto y tampoco recibirá ningún pago. La atención médica, medicamentos, exámenes, tratamientos y cirugías, etc. que requiera para su enfermedad será proporcionados por el Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), gracias a que usted es derechohabiente.

Su participación en el estudio no tendrá ningún beneficio inmediato para usted, sin embargo, será importante ya que ayudará a que esta enfermedad se conozca mejor y podamos proponer mejores métodos de diagnóstico; esto beneficiará en el futuro a otras personas que sufran de la misma enfermedad.

INFORMACIÓN SOBRE RESULTADOS Y ALTERNATIVAS DE TRATAMIENTO

Ya que los resultados de este estudio no cambiarían el pronóstico, la evolución, ni el tratamiento de su enfermedad, no se considera necesario entregarle ningún reporte de este. Pero si usted está interesada en conocer los resultados del proyecto, tiene el derecho de solicitarlos al investigador responsable.

Participación o retiro. Su participación en este estudio es completamente voluntaria; si usted decide no participar en el estudio, seguirá recibiendo la atención brindada por el IMSS y se le ofrecerán los procedimientos y tratamientos habituales. De la misma forma, usted podrá abandonar el estudio en el momento que así lo decida, sin que eso afecte el seguimiento o la atención que se le proporciona en el IMSS.

Privacidad y confidencialidad. La información será guardada de manera confidencial y por separado para garantizar su privacidad. Cuando se conjunten los datos de todos los participantes en el estudio y se realice el análisis, su nombre permanecerá oculto, al igual que al presentar los resultados en una publicación o conferencia.

Solo cuando el médico tratante lo solicite se le proporcionarán los resultados obtenidos de este estudio, o bien cuando por alguna situación especial lo requiera la ley.

En caso de colección de material biológico:

- No autorizo que se tome la muestra.
- Si autorizo que se tome la muestra solo para este estudio.
- Si autorizo que se tome la muestra para este estudio y estudios futuros. Las muestras serán almacenadas por un período de 10 años.

BENEFICIOS AL TÉRMINO DEL ESTUDIO

Al término del estudio, los resultados generados permitirán evaluar si la determinación de galectina-9 puede ser utilizada como un marcador para dar seguimiento a las pacientes con CaCu y determinar de manera más temprana su exista una recaída o persistencia de la enfermedad.

Si tiene usted preguntas o desea hablar con alguien del equipo médico, puede comunicarse con el Responsable Médico del Proyecto en su Unidad:

Dr. _____ Teléfono: _____ correo: _____

En caso de dudas o aclaraciones relacionadas con el estudio podrá dirigirse con su médico o con la investigadora responsable del estudio la Dra. Verónica Vallejo Ruiz al teléfono (244) 444 01 22 de lunes a viernes de las 8:00 a las 16:00 horas o cualquier día de la semana al celular 22 21 60 21 54, con sede en la Ciudad de Puebla México. En caso de requerir mayor y más detallada información, puede escribir al correo veronica.vallejo@imss.gob.mx

En caso de dudas o aclaraciones sobre sus derechos como participante podrá dirigirse a la Comisión de Ética de la Comisión Nacional de Investigación Científica del IMSS: Avenida Cuauhtémoc 330 4° piso Bloque "B" de la Unidad de Congresos, Col. Doctores. México, D.F., CP 06720. Teléfono (55) 56276900 extensión 21230, Correo electrónico: comiteeticainv.imss@gmail.com

DECLARACION DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Se me ha explicado con claridad en qué consiste el estudio, además he leído el contenido de este formato de consentimiento; se me ha dado la oportunidad de hacer preguntas y todas mis dudas se han aclarado; consta en esta carta con mi firma mi participación voluntaria.

Nombre y firma del participante

FIRMA DEL ENCARGADO DE OBTENER EL CONSENTIMIENTO INFORMADO

Le he explicado el estudio de investigación al participante y he contestado todas sus preguntas. Creo que ella entiende la información descrita en este documento y libremente da su consentimiento a participar en este estudio de investigación.

Nombre del encargado de obtener el consentimiento informado

Firma del encargado de obtener el Consentimiento Informado

Fecha

Testigo 1 (Nombre, dirección, relación con el paciente y firma)

Testigo 2 (Nombre, dirección, relación con el paciente y firma)

MATERIAL SUPLEMENTARIO 2: DESCRIPCIÓN DE VARIABLES DE ESTUDIO

La descripción de las variables de estudio se detalla en las siguientes tablas.

VARIABLES EXPERIMENTALES

Tabla suplementaria S1. Niveles séricos de TIM-3 y Gal-9

<i>Niveles séricos de TIM-3 y Gal-9</i>						
Nombre de la variable	Tipo de variable	Definición conceptual	Definición operacional	Unidades	Método	Indicadores
Niveles séricos de TIM-3	Cuantitativa y continua	Cantidad de proteína de TIM-3 soluble presente en la fracción sérica de la sangre	Número de nanogramos de proteína de TIM-3 soluble por mililitro de suero	$\frac{ng}{mL}$	Indirecto (ELISA)	Número de nanogramos de proteína de TIM-3 soluble en proporción a los valores de absorbancia obtenidos de la lectura por espectrofotometría de la muestra de suero
Niveles séricos de Gal-9	Cuantitativa y continua	Cantidad de proteína de Gal-9 presente en la fracción sérica de la sangre	Número de nanogramos de proteína de Gal-9 por mililitro de suero	$\frac{ng}{mL}$	Indirecto (ELISA)	Número de nanogramos de proteína de Gal-9 en proporción a los valores de absorbancia obtenidos de la lectura por espectrofotometría de la muestra de suero

La definición conceptual e indicadores se describieron con apoyo en el manual de usuario del kit de ELISA *Human TIM-3 SimpleStep* de *Abcam*, y kit *Quantikine ELISA Human Gal-9 Immunoassay* de *R&D Systems*.

CARACTERÍSTICAS CLÍNICO-HISTOPATOLÓGICAS

Tabla suplementaria S2. Características clínicas

<i>Características clínicas</i>						
Nombre de la variable	Tipo de variable	Definición conceptual	Definición operacional	Categorías	Método	Indicadores
Estadio FIGO	Cualitativa, ordinal, y politómica	Clasificación internacional de las etapas tumorales de CaCu	Etapas del tumor de cérvix primario en el paciente	Estadio I Estadio II Estadio III Estadio IV	Examen clínico: Tacto Estudios de imagen Medición histopatológica	Tamaño y extensión anatómica del tumor de cérvix primario en el paciente
Tamaño de tumor	Cuantitativa, e intervalo	Tamaño de la mayor dimensión de una masa de células transformadas, con crecimiento, y multiplicaciones anormales	Tamaño en centímetros de la mayor dimensión del tumor	≤6 cm en su mayor dimensión >6 cm en su mayor dimensión	Cirugía: Extirpación de masa tumoral total Examen clínico: Tacto Informe anatomopatológico Estudios de imagen	Número de centímetros que mide la mayor dimensión del tumor

Las definiciones conceptuales e indicadores se basaron en los siguientes reportes: estadio FIGO (Merz et al., 2020), y tamaño de tumor (RAE, 2020; Salvo et al., 2020).

Tabla suplementaria S3. Características histopatológicas

<i>Características histopatológicas</i>						
Nombre de la variable	Tipo de variable	Definición conceptual	Definición operacional	Categorías	Método	Indicadores
Tipo histológico	Cualitativa, nominal, y politómica	Tipo de tejido del cérvix en el que se origina el cambio maligno, y características tisulares	Origen tisular del tumor en el cérvix, y patrones histológicos	CCE AC AE	Informe anatomopatológico	<p>Carcinoma de células escamosas: Se observan nidos de células epiteliales escamosas que surgen de la epidermis y se extienden a través de la membrana basal hacia la dermis. Las células poseen núcleos atípicos</p> <p>-Adenocarcinoma: El epitelio neoplásico tiene una disposición columnar pseudoestratificada con un agotamiento relativo de la mucina intracitoplasmática, en algunos casos se observa mucina intracitoplasmática</p> <p>Carcinoma adenoescamoso: Posee patrones histológicos de adenocarcinoma y carcinoma de células escamosas</p>
Queratinización	Cualitativa, nominal, y dicotómica	Subclasificación en función de la cantidad de queratina presente en tejidos de carcinoma de células escamosas	Cantidad de queratina presente en tejidos de carcinoma de células escamosas	Q NQ	Informe anatomopatológico	<p>Queratinizante: Alta cantidad de queratina, y presencia de estructuras perladas en tejido</p> <p>No queratinizante: Baja cantidad de queratina presente en tejido</p>
Grado de diferenciación	Cualitativa, ordinal, y dicotómica	Subclasificación de los carcinomas de células escamosas en función del grado de atipia celular	Patrones atípicos de núcleos, grado de parecido con las células del tejido de origen, y ritmo de crecimiento celular	BD y MD PD	Informe anatomopatológico	<p>Bien o moderadamente diferenciado: Se aprecian núcleos hipercromáticos ligeramente agrandados con abundantes cantidades de citoplasma, parecido a células de origen y mitosis regular</p> <p>Poco diferenciado: Se observan núcleos pleomórficos muy agrandados que demuestran un alto grado de atipia, poco o nulo parecido a células de origen, y mitosis alta</p>

Las definiciones conceptuales e indicadores se basaron en: (Dallenbach & Knebel, 2018; Soslow et al., 2021).

MARCADORES DE INFLAMACIÓN

Tabla suplementaria S4. Marcadores de inflamación grupo 1

<i>Marcadores de inflamación grupo 1</i>						
Nombre de la variable	Tipo de variable	Definición conceptual	Definición operacional	Unidades	Método	Indicadores
Plaquetas	Cuantitativa y continua	Fragmentos de megacariocitos circulantes en la sangre	Número de plaquetas por microlitro de sangre	$\frac{\text{Número de células} \cdot 10^3}{\mu\text{L}}$	Análisis automatizado de sangre	Número de plaquetas detectadas individualmente por el láser de helio-neón, y que generaron los patrones de difracción de la luz asociados con sus características morfológicas
Leucocitos	Cuantitativa y continua	Células inmunitarias nucleadas que incluyen a los neutrófilos, linfocitos, monocitos, basófilos y eosinófilos presentes en la sangre	Número de leucocitos por microlitro de sangre	$\frac{\text{Número de células} \cdot 10^3}{\mu\text{L}}$	Análisis automatizado de sangre	Número de leucocitos detectados individualmente por el láser de helio-neón, y que generaron los patrones de difracción de la luz asociados con sus características morfológicas
Linfocitos	Cuantitativa y continua	Células de núcleo redondo, de origen linfoide, presentes en la sangre. Este conjunto incluye a las células naturales asesinas, linfocitos B y T	Número de linfocitos por microlitro de sangre	$\frac{\text{Número de células} \cdot 10^3}{\mu\text{L}}$	Análisis automatizado de sangre	Número de linfocitos detectados individualmente por el láser de helio-neón, y que generaron los patrones de difracción de la luz asociados con sus características morfológicas
Monocitos	Cuantitativa y continua	Células fagocíticas con un solo núcleo ovalado, de origen mielóide, presentes en la sangre	Número de monocitos por microlitro de sangre	$\frac{\text{Número de células} \cdot 10^3}{\mu\text{L}}$	Análisis automatizado de sangre	Número de monocitos detectados individualmente por el láser de helio-neón, y que generaron los patrones de difracción de la luz asociados con sus características morfológicas
Neutrófilos	Cuantitativa y continua	Células fagocíticas que presentan un núcleo con 2 a 5 lóbulos conectados por puentes delgados, de origen mielóide, presentes en la sangre	Número de neutrófilos por microlitro de sangre	$\frac{\text{Número de células} \cdot 10^3}{\mu\text{L}}$	Análisis automatizado de sangre	Número de neutrófilos detectados individualmente por el láser de helio-neón, y que generaron los patrones de difracción de la luz asociados con sus características morfológicas
Eosinófilos	Cuantitativa y continua	Células con núcleo bilobulado, con gránulos grandes, presentes en la sangre	Número de eosinófilos por microlitro de sangre	$\frac{\text{Número de células} \cdot 10^3}{\mu\text{L}}$	Análisis automatizado de sangre	Número de eosinófilos detectados individualmente por el láser de helio-neón, y que generaron los patrones de difracción de la luz asociados con sus características morfológicas
Basófilos	Cuantitativa y continua	Células con núcleo polilobulado, con gránulos finos, presentes en la sangre	Número de basófilos por microlitro de sangre	$\frac{\text{Número de células} \cdot 10^3}{\mu\text{L}}$	Análisis automatizado de sangre	Número de basófilos detectados individualmente por el láser de helio-neón, y que generaron los patrones de difracción de la luz asociados con sus características morfológicas

Las definiciones conceptuales se realizaron con base en los siguientes reportes: plaquetas (Ru et al., 2016), leucocitos totales (Conrad, 2021), linfocitos (NCI, 2020), neutrófilos (Yam-Puc et al., 2012), monocitos (Karlmark et al., 2012), eosinófilos (Rosenberg et al., 2013), y basófilos (Marone et al., 2020). Las descripciones de los indicadores se detallan de acuerdo con el manual de usuario del citómetro de flujo *CELL-DYN Ruby* de la casa comercial *Abbott*.

Tabla suplementaria S5. Marcadores de inflamación grupo 2

<i>Marcadores de inflamación grupo 2</i>						
Nombre de la variable	Tipo de variable	Definición conceptual	Definición operacional	Unidades	Método	Indicadores
$\frac{\text{Índice Plaquetas}}{\text{Linfocitos}}$	Cuantitativa y continua	Relación entre la cantidad de plaquetas y linfocitos presentes en la sangre	Razón matemática del número de plaquetas y linfocitos por microlitro de sangre	Adimensional	Cálculo matemático	Número resultante de la ecuación: $\frac{\text{Número de plaquetas}}{\text{Número de linfocitos}}$
$\frac{\text{Índice Neutrófilos}}{\text{Plaquetas}}$	Cuantitativa y continua	Relación entre la cantidad de neutrófilos y plaquetas presentes en la sangre	Razón matemática del número de neutrófilos y plaquetas por microlitro de sangre	Adimensional	Cálculo matemático	Número resultante de la ecuación: $\frac{\text{Número de neutrófilos} \cdot (1000)}{\text{Número de plaquetas}}$
$\frac{\text{Índice Monocitos}}{\text{Linfocitos}}$	Cuantitativa y continua	Relación entre la cantidad de monocitos y linfocitos presentes en la sangre	Razón matemática del número de monocitos y linfocitos por microlitro de sangre	Adimensional	Cálculo matemático	Número resultante de la ecuación: $\frac{\text{Número de monocitos}}{\text{Número de linfocitos}}$
$\frac{\text{Índice Neutrófilos}}{\text{Linfocitos}}$	Cuantitativa y continua	Relación entre la cantidad de neutrófilos y linfocitos presentes en la sangre	Razón matemática del número de neutrófilos y linfocitos por microlitro de sangre	Adimensional	Cálculo matemático	Número resultante de la ecuación: $\frac{\text{Número de neutrófilos}}{\text{Número de linfocitos}}$
$\frac{\text{Índice Eosinófilos}}{\text{Linfocitos}}$	Cuantitativa y continua	Relación entre la cantidad de eosinófilos y linfocitos presentes en la sangre	Razón matemática del número de eosinófilos y linfocitos por microlitro de sangre	Adimensional	Cálculo matemático	Número resultante de la ecuación: $\frac{\text{Número de eosinófilos}}{\text{Número de linfocitos}}$
Índice de PIV	Cuantitativa y continua	Relación entre la cantidad de plaquetas, neutrófilos y monocitos con los linfocitos presentes en la sangre	Razón matemática del número de plaquetas, neutrófilos y monocitos entre el número de linfocitos por microlitro de sangre	Adimensional	Cálculo matemático	Número resultante de la ecuación: $\frac{(\text{Número de plaquetas}) \cdot (\text{Número de neutrófilos}) \cdot (\text{Número de monocitos})}{\text{Número de linfocitos}}$
Índice de SIRI	Cuantitativa y continua	Relación entre la cantidad de plaquetas y neutrófilos con de linfocitos presentes en la sangre	Razón matemática del número de plaquetas y neutrófilos entre el número de linfocitos por microlitro de sangre	Adimensional	Cálculo matemático	Número resultante de la ecuación: $\frac{(\text{Número de plaquetas}) \cdot (\text{Número de neutrófilos})}{\text{Número de linfocitos}}$

Las definiciones conceptuales e indicadores se realizaron con respaldo en los siguientes reportes: índice de plaquetas/linfocitos (Ma et al., 2018), neutrófilos/plaquetas (Watt et al., 2015), monocitos/linfocitos (X. Zhu et al., 2019), neutrófilos/linfocitos (Howard et al., 2019), eosinófilos/linfocitos (Z. Huang et al., 2019), PIV (Fucà et al., 2020), y SIRI (Chao et al., 2020). **Abreviaturas.** Índice PIV: Índice Pan-Inmuno-Inflamatorio. Índice SIRI: Índice de Respuesta a la Inflamación sistémica.

MARCADORES DE ANEMIA

Tabla suplementaria S6. Marcadores de anemia

<i>Marcadores de anemia</i>						
Nombre de la variable	Tipo de variable	Definición conceptual	Definición operacional	Unidades	Método	Indicadores
Recuento de eritrocitos	Cuantitativa y continua	Células rojas no nucleadas de forma ovalada que contienen hemoglobina, presentes en la sangre	Número de eritrocitos por microlitro de sangre total	$\frac{\text{Células} \cdot 10^6}{\mu\text{L}}$	Análisis automatizado de sangre total	Número de eritrocitos detectados individualmente por el láser de helio-neón, y que generaron los patrones de difracción de la luz asociados con sus características morfológicas
Hemoglobina	Cuantitativa y continua	Cantidad de proteína transportadora de O ₂ y dióxido de carbono en sangre periférica	Gramos de hemoglobina por decilitro de sangre total	$\frac{g}{dL}$	Análisis automatizado de sangre total	Cantidad de gramos de hemoglobina por eritrocitos en proporción a las lecturas de absorbancia resultantes de su escisión por una fuente de luz LED
VCM	Cuantitativa y continua	Volumen medio de los eritrocitos	Femtolitros promedio de los eritrocitos	ft	Cálculo matemático	Número resultante de la ecuación: $\frac{\text{Hematocrito} \cdot 10}{\text{Número de eritrocitos}}$
RDW	Cuantitativa y continua	Variación del diámetro de los eritrocitos	Porcentaje de variación del diámetro de los eritrocitos	%	Cálculo matemático	Número resultante de la ecuación: $\frac{\sigma \text{ del volumen de eritrocitos} \cdot 100}{\text{Coeficiente de variación medio}}$
Hematocrito	Cuantitativa y continua	Relación entre el volumen de eritrocitos sobre el volumen de la sangre	Relación entre los mililitros de eritrocitos sobre los mililitros de la sangre	%	Cálculo matemático	Número resultante de la ecuación: $\frac{(\text{Número de eritrocito}) \cdot (VCM)}{10}$
HCM	Cuantitativa y continua	Cantidad promedio de hemoglobina por eritrocito	Picogramos promedios de hemoglobina por eritrocito	pg	Cálculo matemático	Número resultante de la ecuación: $\frac{\text{Hemoglobina}}{\text{Número de eritrocitos}} \cdot 10$
CHCM	Cuantitativa y continua	Cantidad de hemoglobina relativa al volumen del eritrocito	Gramos de hemoglobina con relación al volumen del eritrocito	$\frac{g}{dL}$	Cálculo matemático	Número resultante de la ecuación: $\frac{\text{Hemoglobina}}{\text{Hematocrito}} \cdot 100$

Las definiciones conceptuales y las descripciones se realizaron con apoyo en el manual de usuario del citómetro de flujo *CELL-DYN Ruby* de la casa comercial *Abbott*. Todos los marcadores de anemia fueron calculados automáticamente por el equipo.

ÍNDICES BASADOS EN TIM-3, GAL-9, Y MARCADORES DE ANEMIA E INFLAMACIÓN

Tabla suplementaria S7. Niveles en sangre de índices basados en TIM-3, y marcadores de inflamación grupo 1

<i>Niveles en sangre de índices basados en TIM-3, y marcadores de inflamación grupo 1</i>						
Nombre de la variable	Tipo de variable	Definición conceptual	Definición operacional	Unidades	Método	Indicadores
$\frac{\text{Índice Leucocitos}}{\text{TIM} - 3}$	Cuantitativa y continua	Relación entre la cantidad de leucocitos y TIM-3 presente en la sangre	Razón matemática del número de leucocitos y el número de nanogramos de TIM-3 por mililitro de sangre	$\frac{\text{Células} \cdot 10^3}{\text{ng}}$	Cálculo matemático	Número resultante de la ecuación: $\frac{\text{Número de leucocitos}}{\text{ng de TIM} - 3} \cdot 1000$
$\frac{\text{Índice Linfocitos}}{\text{TIM} - 3}$	Cuantitativa y continua	Relación entre la cantidad de linfocitos y TIM-3 presente en la sangre	Razón matemática del número de linfocitos y el número de nanogramos de TIM-3 por mililitro de sangre	$\frac{\text{Células} \cdot 10^3}{\text{ng}}$	Cálculo matemático	Número resultante de la ecuación: $\frac{\text{Número de linfocitos}}{\text{ng de TIM} - 3} \cdot 1000$
$\frac{\text{Índice Monocitos}}{\text{TIM} - 3}$	Cuantitativa y continua	Relación entre la cantidad de monocitos y TIM-3 presente en la sangre	Razón matemática del número de monocitos y el número de nanogramos de TIM-3 por mililitro de sangre	$\frac{\text{Células} \cdot 10^3}{\text{ng}}$	Cálculo matemático	Número resultante de la ecuación: $\frac{\text{Número de monocitos}}{\text{ng de TIM} - 3} \cdot 1000$
$\frac{\text{Índice Neutrófilos}}{\text{TIM} - 3}$	Cuantitativa y continua	Relación entre la cantidad de neutrófilos y TIM-3 presentes en la sangre	Razón matemática del número de neutrófilos y el número de nanogramos de TIM-3 por mililitro de sangre	$\frac{\text{Células} \cdot 10^3}{\text{ng}}$	Cálculo matemático	Número resultante de la ecuación: $\frac{\text{Número de neutrófilos}}{\text{ng de TIM} - 3} \cdot 1000$
$\frac{\text{Índice Eosinófilos}}{\text{TIM} - 3}$	Cuantitativa y continua	Relación entre la cantidad de eosinófilos y TIM-3 presente en la sangre	Razón matemática del número de eosinófilos y el número de nanogramos de TIM-3 por mililitro de sangre	$\frac{\text{Células} \cdot 10^3}{\text{ng}}$	Cálculo matemático	Número resultante de la ecuación: $\frac{\text{Número de eosinófilos}}{\text{ng de TIM} - 3} \cdot 1000$
$\frac{\text{Índice Basófilos}}{\text{TIM} - 3}$	Cuantitativa y continua	Relación entre la cantidad de basófilos y TIM-3 presente en la sangre	Razón matemática del número de basófilos y el número de nanogramos de TIM-3 por mililitro de sangre	$\frac{\text{Células} \cdot 10^3}{\text{ng}}$	Cálculo matemático	Número resultante de la ecuación: $\frac{\text{Número de basófilos}}{\text{ng de TIM} - 3} \cdot 1000$
$\frac{\text{Índice Plaquetas}}{\text{TIM} - 3}$	Cuantitativa y continua	Relación entre la cantidad de plaquetas y TIM-3 presente en la sangre	Razón matemática del número de plaquetas y el número de nanogramos de TIM-3 por mililitro de sangre	$\frac{\text{Células} \cdot 10^3}{\text{ng}}$	Cálculo matemático	Número resultante de la ecuación: $\frac{\text{Número de plaquetas}}{\text{ng de TIM} - 3} \cdot 1000$

Tabla suplementaria S8. Niveles en sangre de índices basados en TIM-3 y marcadores de anemia

Niveles en sangre de índices basados en TIM-3 y marcadores de anemia						
Nombre de la variable	Tipo de variable	Definición conceptual	Definición operacional	Unidades	Método	Indicadores
$\frac{\text{Índice Eritrocitos}}{\text{TIM} - 3}$	Cuantitativa y continua	Relación entre la cantidad de eritrocitos y TIM-3 presente en la sangre	Razón matemática del recuento de eritrocitos y el número de nanogramos de TIM-3 por mililitro de sangre	$\frac{\text{Células} \cdot 10^6}{\text{ng}}$	Cálculo matemático	Número resultante de la ecuación: $\frac{\text{Recuento de eritrocitos}}{\text{ng de TIM} - 3 \cdot 1000}$
$\frac{\text{Índice Hemoglobina}}{\text{TIM} - 3}$	Cuantitativa y continua	Relación entre la cantidad de hemoglobina, y TIM-3 presente en la sangre	Razón matemática los gramos de hemoglobina por decilitro de sangre, y el número de nanogramos de TIM-3 por mililitro de suero	$\frac{(\text{g/dL})}{(\text{ng/mL})}$	Cálculo matemático	Número resultante de la ecuación: $\frac{\text{Hemoglobina}}{\text{ng de TIM} - 3 \text{ por mL de suero}}$
$\frac{\text{Índice Hematocrito}}{\text{TIM} - 3}$	Cuantitativa y continua	Relación entre el volumen de eritrocitos sobre el volumen de la sangre, y la cantidad de TIM-3 presente en la sangre	El porcentaje del volumen de los eritrocitos con respecto al volumen de la sangre, y el número de nanogramos de TIM-3 por mililitro de suero	$\frac{\%}{(\text{ng/mL})}$	Cálculo matemático	Número resultante de la ecuación: $\frac{\text{Hematocrito}}{\text{ng de TIM} - 3 \text{ por mL de suero}}$
$\frac{\text{Índice HCM}}{\text{TIM} - 3}$	Cuantitativa y continua	Relación entre la cantidad promedio de hemoglobina por eritrocito, y la cantidad de TIM-3 presentes en la sangre	Razón matemática de los picogramos de hemoglobina por eritrocito, y el número de nanogramos de TIM-3 por mililitro de suero	$\frac{\text{pg}}{(\text{ng/mL})}$	Cálculo matemático	Número resultante de la ecuación: $\frac{\text{HCM}}{\text{ng de TIM} - 3 \text{ por mL de suero}}$
$\frac{\text{Índice CHCM}}{\text{TIM} - 3}$	Cuantitativa y continua	Relación de los gramos de hemoglobina en con respecto al volumen de los eritrocito sobre la cantidad de TIM-3 presente en la sangre	Razón matemática de los gramos de hemoglobina con respecto al volumen de los eritrocitos, y el número de nanogramos de TIM-3 por mililitro de suero	$\frac{\text{g}}{(\text{ng/mL})}$	Cálculo matemático	Número resultante de la ecuación: $\frac{\text{CHCM}}{\text{ng de TIM} - 3 \text{ por mL de suero}}$
$\frac{\text{Índice VCM}}{\text{TIM} - 3}$	Cuantitativa y continua	Relación entre el volumen medio de los eritrocitos, y la cantidad de TIM-3 presente en la sangre	Razón matemática de los femtolitros promedio de los eritrocitos, y el número de nanogramos de TIM-3 por mililitro de suero	$\frac{\text{ft}}{(\text{ng/mL})}$	Cálculo matemático	Número resultante de la ecuación: $\frac{\text{VCM}}{\text{ng de TIM} - 3 \text{ por mL de suero}}$
$\frac{\text{Índice RDW}}{\text{TIM} - 3}$	Cuantitativa y continua	Variación del tamaño de los eritrocitos con respecto al número de nanogramos de TIM-3 presentes en el suero	Razón matemática del porcentaje de variación del diámetro de los eritrocitos, y el número de nanogramos de TIM-3 por mililitro de suero	$\frac{\%}{(\text{ng/mL})}$	Cálculo matemático	Número resultante de la ecuación: $\frac{\text{Porcentaje de variación del tamaño de los eritrocitos}}{\text{ng de TIM} - 3 \text{ por mL de suero}}$

Tabla suplementaria S9. Niveles en sangre de índices basados en Gal-9, y marcadores de inflamación grupo 1

<i>Niveles en sangre de índices basados en Gal-9, y marcadores de inflamación grupo 1</i>						
Nombre de la variable	Tipo de variable	Definición conceptual	Definición operacional	Unidades	Método	Indicadores
$\frac{\text{Índice Leucocitos}}{\log(\text{Gal} - 9)}$	Cuantitativa y continua	Relación entre la cantidad de leucocitos y Gal-9 presente en la sangre	Razón matemática del número de leucocitos y el número de nanogramos de Gal-9 por mililitro de sangre	$\frac{\text{Células} \cdot 10^3}{ng}$	Cálculo matemático	Número resultante de la ecuación: $\frac{\text{Número de leucocitos}}{ng \text{ de Gal} - 9} \cdot 1000$
$\frac{\text{Índice Linfocitos}}{\log(\text{Gal} - 9)}$	Cuantitativa y continua	Relación entre la cantidad de linfocitos y Gal-9 presente en la sangre	Razón matemática del número de linfocitos y el número de nanogramos de Gal-9 por mililitro de sangre	$\frac{\text{Células} \cdot 10^3}{ng}$	Cálculo matemático	Número resultante de la ecuación: $\frac{\text{Número de linfocitos}}{ng \text{ de Gal} - 9} \cdot 1000$
$\frac{\text{Índice Monocitos}}{\log(\text{Gal} - 9)}$	Cuantitativa y continua	Relación entre la cantidad de monocitos y Gal-9 presente en la sangre	Razón matemática del número de monocitos y el número de nanogramos de Gal-9 por mililitro de sangre	$\frac{\text{Células} \cdot 10^3}{ng}$	Cálculo matemático	Número resultante de la ecuación: $\frac{\text{Número de monocitos}}{ng \text{ de Gal} - 9} \cdot 1000$
$\frac{\text{Índice Neutrófilos}}{\log(\text{Gal} - 9)}$	Cuantitativa y continua	Relación entre la cantidad de neutrófilos y Gal-9 presentes en la sangre	Razón matemática del número de neutrófilos y el número de nanogramos de Gal-9 por mililitro de sangre	$\frac{\text{Células} \cdot 10^3}{ng}$	Cálculo matemático	Número resultante de la ecuación: $\frac{\text{Número de neutrófilos}}{ng \text{ de Gal} - 9} \cdot 1000$
$\frac{\text{Índice Eosinófilos}}{\log(\text{Gal} - 9)}$	Cuantitativa y continua	Relación entre la cantidad de eosinófilos y Gal-9 presente en la sangre	Razón matemática del número de eosinófilos y el número de nanogramos de Gal-9 por mililitro de sangre	$\frac{\text{Células} \cdot 10^3}{ng}$	Cálculo matemático	Número resultante de la ecuación: $\frac{\text{Número de eosinófilos}}{ng \text{ de Gal} - 9} \cdot 1000$
$\frac{\text{Índice Basófilos}}{\log(\text{Gal} - 9)}$	Cuantitativa y continua	Relación entre la cantidad de basófilos y Gal-9 presente en la sangre	Razón matemática del número de basófilos y el número de nanogramos de Gal-9 por mililitro de sangre	$\frac{\text{Células} \cdot 10^3}{ng}$	Cálculo matemático	Número resultante de la ecuación: $\frac{\text{Número de basófilos}}{ng \text{ de Gal} - 9} \cdot 1000$
$\frac{\text{Índice Plaquetas}}{\log(\text{Gal} - 9)}$	Cuantitativa y continua	Relación entre la cantidad de plaquetas y Gal-9 presente en la sangre	Razón matemática del número de plaquetas y el número de nanogramos de Gal-9 por mililitro de sangre	$\frac{\text{Células} \cdot 10^3}{ng}$	Cálculo matemático	Número resultante de la ecuación: $\frac{\text{Número de plaquetas}}{ng \text{ de Gal} - 9} \cdot 1000$

La transformación a logaritmo base 10 de los niveles séricos de Gal-9 se realizó utilizando como unidades iniciales ng/mL.

Tabla suplementaria S10. Niveles en sangre de índices basados en Gal-9 y marcadores de anemia

<i>Niveles en sangre de índices basados en Gal-9, y marcadores de anemia</i>						
Nombre de la variable	Tipo de variable	Definición conceptual	Definición operacional	Unidades	Método	Indicadores
$\frac{\text{Índice Eritrocitos}}{\log(\text{Gal} - 9)}$	Cuantitativa y continua	Relación entre la cantidad de eritrocitos, y Gal-9 presente en la sangre	Razón matemática del recuento de eritrocitos y el número de nanogramos de Gal-9 por mililitro de sangre	$\frac{\text{Células} \cdot 10^6}{\text{ng}}$	Cálculo matemático	Número resultante de la ecuación: $\frac{\text{Recuento de eritrocitos}}{\text{ng de Gal} - 9 \cdot 1000}$
$\frac{\text{Índice Hemoglobina}}{\log(\text{Gal} - 9)}$	Cuantitativa y continua	Relación entre la cantidad de hemoglobina, y Gal-9 presente en la sangre	Razón matemática los gramos de hemoglobina por dL de sangre, y el número de nanogramos de Gal-9 por mililitro de suero	$\frac{(g/dL)}{(ng/mL)}$	Cálculo matemático	Número resultante de la ecuación: $\frac{\text{Hemoglobina por dL de sangre}}{\text{ng de Gal} - 9 \text{ por mL de suero}}$
$\frac{\text{Índice Hematocrito}}{\log(\text{Gal} - 9)}$	Cuantitativa y continua	Relación entre el volumen de eritrocitos sobre el volumen de la sangre, y la cantidad de Gal-9 presente en la sangre	El porcentaje del volumen de los eritrocitos con respecto al volumen de la sangre, y el número de nanogramos de Gal-9 por mililitro de suero	$\frac{\%}{(ng/mL)}$	Cálculo matemático	Número resultante de la ecuación: $\frac{\text{Hematocrito}}{\text{ng de Gal} - 9 \text{ por mL de suero}}$
$\frac{\text{Índice HCM}}{\log(\text{Gal})}$	Cuantitativa y continua	Relación de los gramos de hemoglobina en con respecto al volumen de los eritrocito sobre la cantidad de Gal-9 presentes en la sangre	Razón matemática de los picogramos de hemoglobina por eritrocito, y el número de nanogramos de Gal-9 por mililitro de suero	$\frac{pg}{(ng/mL)}$	Cálculo matemático	Número resultante de la ecuación: $\frac{\text{HCM}}{\text{ng de Gal} - 9 \text{ por mL de suero}}$
$\frac{\text{Índice CHCM}}{\log(\text{Gal})}$	Cuantitativa y continua	Relación entre la cantidad de hemoglobina en relación con el volumen de los eritrocitos, y la cantidad de Gal-9 presente en la sangre	Razón matemática de los gramos de hemoglobina en relación con el volumen de los eritrocitos, y el número de nanogramos de Gal-9 por mililitro de suero	$\frac{g}{(ng/mL)}$	Cálculo matemático	Número resultante de la ecuación: $\frac{\text{CHCM}}{\text{ng de Gal} - 9 \text{ por mL de suero}}$
$\frac{\text{Índice VCM}}{\log(\text{Gal})}$	Cuantitativa y continua	Relación entre el volumen medio de los eritrocitos, y la cantidad de Gal-9 presente en la sangre	Razón matemática de los femtolitros promedio de los eritrocitos, y el número de nanogramos de Gal-9 por mililitro de suero	$\frac{ft}{(ng/mL)}$	Cálculo matemático	Número resultante de la ecuación: $\frac{\text{VCM}}{\text{ng de Gal} - 9 \text{ por mL de suero}}$
$\frac{\text{Índice RDW}}{\log(\text{Gal})}$	Cuantitativa y continua	Variación del tamaño de los eritrocitos con respecto al número de nanogramos de Gal-9 presentes en la sangre	Razón matemática del porcentaje de variación del diámetro de los eritrocitos, y el número de nanogramos de Gal-9 por mililitro de suero	$\frac{\%}{(ng/mL)}$	Cálculo matemático	Número resultante de la ecuación: $\frac{\text{RDW}}{\text{ng de Gal} - 9 \text{ por mL de suero}}$

La transformación a logaritmo de los niveles séricos de Gal-9 se realizó utilizando como unidades iniciales ng/mL.

Tabla suplementaria S11. Niveles séricos de Gal-9/TIM-3

<i>Niveles séricos de Gal-9/TIM-3</i>						
Nombre de la variable	Tipo de variable	Definición conceptual	Definición operacional	Unidades	Método	Indicadores
$\frac{\text{Índice de Gal-9}}{\text{TIM-3}}$	Cuantitativa y continua	Relación entre la cantidad de Gal-9 y TIM-3 presente en la sangre	Razón matemática del número de nanogramos de Gal-9 y TIM-3 por mililitro de sangre	Adimensional	Cálculo matemático	Número resultante de la ecuación: $\frac{\text{ng de Gal-9}}{\text{ng de TIM-3}}$

MATERIAL SUPLEMENTARIO 3: PROTOCOLO DEL KIT HUMAN TIM-3 SIMPLESTEP ELISA DE ABCAM

Código del kit: ab231932.

Preparar los agentes, y diluciones seriadas de la proteína recombinante de TIM-3 como indica el inserto. Diluir las muestras de suero 1:2 con el diluyente de muestra NS. Añadir 50 µL de las diluciones seriadas o muestras de suero, y después adicionar 50 µL por pozo del cóctel de anticuerpos, que incluye tanto al anticuerpo de captura como al detector. Sellar la placa, e incubar a temperatura ambiente por 1 hora con agitación a 400 RPM. Aspirar y lavar cada pozo 3 veces con 350 µL del búfer de lavado 1X. Agregar 100 µL de solución de sustrato de tetrametilbencidina, e incubar 10 minutos. Detener la reacción colorimétrica con 100 µL de la solución de parada. Mezclar en un agitador de platos durante 1 minuto. Registrar la densidad óptica de la placa a 450 nm en un espectrofotómetro.

MATERIAL SUPLEMENTARIO 4: PROTOCOLO DEL KIT QUANTIKINE ELISA HUMAN GAL-9 IMMUNOASSAY DE R&D SYSTEMS

Código del kit: DGAL90.

Preparar los agentes, y diluciones seriadas de la proteína recombinante de Gal-9 como indica el instructivo. Diluir las muestras de suero 1:4 con el calibrador RD6-35. Agregar 100 µL de las muestras o diluciones seriadas, y 100 µL del diluyente del ensayo RD1-9 por cada pozo. Cubrir la placa con la calcomanía, e incubar a temperatura ambiente por 2 horas con agitación a 500 RPM. Aspirar y lavar 4 veces cada pozo con 400 µL del búfer de lavado. Descartar restos del último lavado invirtiendo la placa, y añadir 200 µL del anticuerpo secundario anti-Gal-9 por pozo. Sellar la placa con la calcomanía, e incubar a temperatura ambiente por 2 horas con agitación a 500 RPM. Nuevamente, realizar 4 lavados con 400 µL del búfer de lavado por pozo. Decantar la placa para remover remanentes de los lavados, agregar 200 µL de solución de sustrato de tetrametilbencidina, e incubar 30 minutos. Parar la reacción con 50 µL de ácido sulfúrico 2 N. Determinar la densidad óptica por espectrofotometría a 450 nm, y 540 nm. Restar las lecturas de corrección a 540 nm a los valores de absorbancia obtenidos a 450 nm.

MATERIAL SUPLEMENTARIO 5: OTROS RESULTADOS

Tabla suplementaria S12. Correlaciones entre los niveles en sangre de TIM-3 y marcadores de anemia e inflamación de pacientes con CaCu

Marcadores	Normal	n	r	R ²	Mediana	IC al 95%		Valor p
						Inferior	Superior	
Leucocitos	No	31	0.39	0.33	7.60	6.00	8.00	0.0304
Linfocitos	No	31	-0.11	0.01	1.86	1.59	2.10	0.5694
Monocitos	No	29	0.45	0.38	0.47	0.41	0.58	0.0156
Eosinófilos	No	30	0.07	0.00	0.17	0.10	0.23	0.7256
Basófilos	No	30	0.28	0.17	0.07	0.05	0.08	0.1406
Neutrófilos	No	31	0.48	0.45	4.53	3.72	5.47	0.0061
Plaquetas	No	31	-0.11	0.00	307.00	243.00	356.00	0.5588
Neutrófilos/Linfocitos	No	31	0.36	0.08	2.72	2.07	3.11	0.0436
Plaquetas/Linfocitos	No	31	0.11	0.00	187.10	131.80	239.80	0.5654
Monocitos/Linfocitos	No	29	0.42	0.07	0.25	0.21	0.33	0.0228
Neutrófilos/Plaquetas	No	31	0.47	0.22	13.92	12.28	18.18	0.0073
Eosinófilos/Linfocitos	No	28	0.07	0.02	0.11	0.07	0.17	0.7199
Índice SIRI	No	31	0.28	0.06	817.50	557.90	1095.00	0.1325
Índice PIV	No	29	0.40	0.14	353.00	222.80	673.90	0.0314
Eritrocitos	No	31	-0.13	0.02	4.38	4.17	4.62	0.4869
Hemoglobina	No	31	-0.02	0.00	12.50	11.60	14.10	0.9334
Hematocrito	No	31	-0.04	0.00	38.60	34.30	41.10	0.8113
VCM	No	31	0.23	0.04	89.80	83.60	92.10	0.2214
HCM	No	31	0.17	0.02	29.00	27.60	30.70	0.3516
CHCM	No	31	-0.03	0.00	33.00	32.20	33.50	0.8871
RDW	No	31	0.27	0.02	13.80	13.10	15.90	0.1387

Abreviaturas. Normal: Distribución normal.

Tabla suplementaria S13. Correlaciones entre los niveles en sangre de Gal-9, y los marcadores de anemia e inflamación de pacientes con CaCu

Marcadores	Normal	n	r	R ²	Mediana	IC al 95%		Valor p
						Inferior	Superior	
Leucocitos	No	40	0.27	0.21	7.30	6.64	7.88	0.0976
Linfocitos	No	39	-0.21	0.05	1.90	1.62	2.11	0.193
Monocitos	No	34	0.25	0.24	0.48	0.45	0.53	0.1601
Eosinófilos	No	33	0.06	0.00	0.18	0.13	0.26	0.7295
Basófilos	No	35	0.13	0.04	0.07	0.05	0.08	0.4591
Neutrófilos	No	39	0.42	0.35	4.40	3.72	4.92	0.0071
Plaquetas	No	40	-0.11	0.01	300.00	276.00	354.00	0.5087
Neutrófilos/Linfocitos	No	39	0.33	0.17	2.61	2.07	2.94	0.0375
Plaquetas/Linfocitos	No	39	0.08	0.06	192.40	140.50	216.00	0.6341
Monocitos/Linfocitos	No	34	0.30	0.14	0.26	0.23	0.32	0.0825
Neutrófilos/Plaquetas	No	39	0.46	0.16	13.92	12.30	16.62	0.0034
Eosinófilos/Linfocitos	No	33	0.22	0.06	0.11	0.08	0.17	0.2227
Índice SIRI	No	39	0.25	0.23	791.20	560.40	1095.00	0.1187
Índice PIV	No	33	0.40	0.33	353.00	238.90	584.70	0.0219
Eritrocitos	No	40	-0.29	0.18	4.45	4.22	4.62	0.0696
Hemoglobina	No	40	-0.26	0.18	12.45	11.80	13.40	0.1116
Hematocrito	No	40	-0.25	0.17	38.82	36.00	40.90	0.1264
VCM	No	40	0.03	0.01	88.77	85.00	92.00	0.8459
HCM	No	39	-0.08	0.03	28.70	27.60	30.00	0.6153
CHCM	No	40	-0.18	0.03	32.60	32.20	33.10	0.2575
RDW	No	39	0.35	0.12	14.37	13.60	15.70	0.031

Abreviaturas. Normal: Distribución normal.

Tabla suplementaria S14. Relación de los niveles en sangre de marcadores de anemia e inflamación con los estadios FIGO en pacientes con CaCu

Marcadores	n	Estadios FIGO				Valor p
		Estadio I Mediana (IC al 95%)	Estadio II Mediana (IC al 95%)	Estadio III Mediana (IC al 95%)	Estadio IV Mediana (IC al 95%)	
Leucocitos	44	7.800 (5.90-10.20)	6.895 (4.40-7.930)	7.500 (5.70-8.40)	8.450 (5.60-9.30)	0.1565
Neutrófilos	43	4.970 (3.84-6.90)	4.343 (2.82-4.67)	5.261 (3.36-6.71)	5.418 (2.80-6.56)	0.2415
Monocitos	38	0.473 (0.24-0.71)	0.450 (0.37-0.55)	0.470 (0.42-0.58)	0.600 (0.40-0.72)	0.6610
Eosinófilos	37	0.300 (0.12-0.76)	0.145 (0.09-0.20)	0.150 (0.09-0.24)	0.400 (0.08-1.43)	0.1056
Basófilos	33	0.079 (0.06-0.10)	0.060 (0.04-0.09)	0.060 (0.05-0.08)	0.080 (0.02-0.100)	0.3884
Neutrófilos/Linfocitos	43	2.033 (1.30-3.28)	2.378 (1.86-3.11)	2.798 (2.21-4.56)	3.001 (1.21-4.16)	0.2919
Neutrófilos/Plaquetas	43	19.48 (11.83-33.09)	13.55 (9.38-18.18)	18.95 (10.98-25.25)	11.80 (5.83-14.69)	0.0748
Monocitos/Linfocitos	38	0.176 (0.15-0.33)	0.251 (0.18-0.84)	0.285 (0.24-0.51)	0.321 (0.21-1.50)	0.1929
Eosinófilos/Linfocitos	37	0.142 (0.06-0.26)	0.106 (0.05-0.17)	0.111 (0.04-0.20)	0.200 (0.15-0.26)	0.2609
Índice SIRI	43	471.1 (382.1-962.7)	673.4 (553.1-1329)	925.6 (505.5-1367)	1502 (584.3-1916)	0.0701
Índice PIV	38	222.8 (133.9-673.9)	511.3 (219.6-681.7)	391.6 (232.5-697.3)	893.8 (400.2-1001)	0.0640
RDW	42	14.80 (13.10-20.00)	13.66 (12.90-14.80)	14.47 (13.10-15.80)	19.38 (11.60-23.60)	0.0800

Tabla suplementaria S15. Relación de los niveles en sangre de marcadores de anemia e inflamación con el tamaño de tumor en pacientes con CaCu

Marcadores	n	Tamaño de tumor		Valor p
		≤6 cm Mediana (IC al 95%)	>6 cm Mediana (IC al 95%)	
Basófilos	28	0.074 (0.05-0.09)	0.080 (0.02-0.14)	0.9901
Neutrófilos/Linfocitos	35	2.606 (1.86-2.84)	2.747 (1.69-4.94)	0.4240
Monocitos/Linfocitos	32	0.298 (0.25-0.36)	0.232 (0.18-1.38)	0.7441
Plaquetas/Linfocitos	36	208.7 (136.6-266.5)	191.4 (61.44-460.00)	0.7744
Eosinófilos/Linfocitos	31	0.113 (0.05-0.12)	0.132 (0.04-1.59)	0.2499
Índice SIRI	35	773.3 (511.1-1092)	1916 (382.1-4655.0)	0.0941
RDW	35	14.30 (13.60-15.70)	14.90 (10.60-20.00)	0.7347
CHCM	36	32.50 (31.90-33.30)	32.20 (29.80-33.30)	0.2543
HCM	35	29.00 (27.60-31.00)	26.70 (22.10-30.80)	0.1535
VCM	36	91.10 (85.00-94.00)	88.0 (72.80-93.00)	0.2475

Tabla suplementaria S16. Relación de los niveles en sangre de marcadores de anemia e inflamación con el tipo histológico de tumores en pacientes con CaCu

Marcadores	n	Tipo histológico			Valor p
		AE Mediana (IC al 95%)	AC Mediana (IC al 95%)	CCE Mediana (IC al 95%)	
Leucocitos	50	7.550 (5.30-7.93)	6.950 (5.00-8.70)	7.145 (6.64-8.00)	0.9708
Neutrófilos	49	4.226 (3.18-4.65)	4.810 (2.20-6.56)	4.400 (3.50-5.47)	0.8994
Basófilos	38	0.065 (0.03-0.08)	0.090 (0.08-0.10)	0.070 (0.05-0.09)	0.1936
Plaquetas	50	330.0 (231.0-393.0)	396.5 (243.0-534.0)	285.0 (242.0-354.0)	0.8981
Neutrófilos/Linfocitos	49	1.918 (1.30-2.41)	2.191 (1.00-3.59)	2.750 (2.13-2.94)	0.1910
Neutrófilos/Plaquetas	49	12.80 (8.00-16.60)	12.60 (7.00-13.00)	14.30 (12.0-19.00)	0.2539
Eosinófilos/Linfocitos	42	0.086 (0.04-0.25)	0.048 (0.029-0.166)	0.127 (0.09-0.16)	0.1253
Plaquetas/Linfocitos	49	133.7 (109.9-235.7)	174.9 (118.0-278.2)	198.3 (139.5-219.8)	0.3993
Índice PIV	44	263.7 (133.9-391.6)	330.4 (123.6-905.5)	499.6 (238.9-681.7)	0.2765
Índice SIRI	49	555.5 (434.2-870.2)	732.7 (309.0-1741.0)	841.1 (573.2-1171)	0.3481
Eritrocitos	50	4.690 (4.45-5.20)	4.380 (3.61-5.22)	4.325 (4.21-4.58)	0.2317
Hemoglobina	50	13.90 (10.50-15.10)	11.35 (8.30-12.80)	12.35 (11.80-13.40)	0.3225
Hematocrito	50	41.550 (34.10-45.10)	35.45 (28.20-39.80)	38.47 (36.00-41.10)	0.3483
RDW	48	13.45 (13.00-15.93)	17.75 (14.20-20.20)	14.37 (13.50-15.70)	0.1479
CHCM	50	33.20 (30.75-33.60)	32.05 (29.40-32.20)	32.60 (32.00-33.20)	0.2014
HCM	49	28.55 (23.30-31.00)	24.70 (23.00-27.00)	29.00 (28.00-30.40)	0.0604
VCM	50	85.30 (75.90-94.00)	78.00 (76.00-83.80)	90.24 (86.20-92.20)	0.0546

Tabla suplementaria S17. Relación de los niveles en sangre de marcadores de anemia e inflamación con el grado de diferenciación de tumores en pacientes con CaCu

Marcadores	n	Grado de diferenciación		Valor p
		BD y MD Mediana (IC al 95%)	PD Mediana (IC al 95%)	
Leucocitos	41	6.95 (5.90-7.80)	8.00 (5.60-9.30)	0.1449
Neutrófilos	40	3.94 (3.29-5.47)	5.17 (2.80-6.22)	0.5442
Monocitos	36	0.49 (0.44-0.54)	0.53 (0.40-0.71)	0.7086
Basófilos	37	0.06 (0.03-0.08)	0.08 (0.02-0.10)	0.2365
Plaquetas	41	285.0 (267.0-346.0)	241.0 (240.0-480.0)	0.2348
Neutrófilos/Linfocitos	40	2.515 (1.727-2.846)	2.721 (1.217-3.340)	0.8946
Neutrófilos/Plaquetas	40	13.00 (11.00-15.00)	14.00 (8.00-19.00)	0.8366
Monocitos/Linfocitos	36	0.25 (0.20-0.36)	0.26 (0.21-0.33)	0.8815
Plaquetas/Linfocitos	40	198.3 (124.3-278.2)	192.4 (111.1-261.4)	0.6436
Índice PIV	36	314.0 (232.5-487.8)	376.6 (209.6-893.8)	0.1626
Índice SIRI	40	791.2 (500.3-1095)	767.3 (511.1-1490.0)	0.7061
Eritrocitos	41	4.365 (4.21-4.68)	4.220 (3.52-4.87)	0.7451
Hemoglobina	41	12.65 (11.70-14.10)	11.90 (8.50-14.60)	0.3072
Hematocrito	41	39.55 (35.72-41.90)	35.40 (30.10-44.60)	0.2514
RDW	41	14.33 (13.20-15.90)	15.35 (11.60-20.00)	0.2970
CHCM	41	32.45 (31.93-33.40)	33.00 (30.30-33.40)	0.5012
HCM	40	29.00 (27.39-30.70)	28.60 (22.10-30.00)	0.1525
VCM	41	89.77 (85.00-93.00)	86.20 (72.00-91.50)	0.0926

Tabla suplementaria S18. Relación de los niveles en sangre de marcadores de anemia e inflamación con la queratinización de tumores en pacientes con CaCu

Marcadores	n	Queratinización		Valor p
		Q Mediana (IC al 95%)	NQ Mediana (IC al 95%)	
Leucocitos	34	6.96 (5.6-8.1)	8.6 (5.1-19.80)	0.1438
Neutrófilos	33	4.00 (3.08-5.20)	5.15 (1.89-11.68)	0.1724
Basófilos	24	0.069 (0.040-0.090)	0.080 (0.060-0.100)	0.4603
Monocitos	29	0.480 (0.40-0.58)	0.580 (0.41-0.83)	0.1342
Plaquetas	34	283.0 (233.0-346.0)	338.2 (207.0-573.0)	0.1713
Neutrófilos/Linfocitos	33	2.721 (2.00-2.94)	2.435 (0.88-4.04)	0.7202
Neutrófilos/Plaquetas	33	14.00 (12.0-18.0)	15.00 (9.00-36.00)	0.6364
Monocitos/linfocitos	29	0.383 (0.23-0.41)	0.264 (0.18-0.39)	0.3181
Plaquetas/Linfocitos	33	187.7 (136.6-209.9)	181.5 (96.73-460)	0.9117
Índice PIV	29	400.2 (237.4-522.2)	474.0 (129.8-1227)	0.5820
Índice SIRI	33	767.3 (560.4-1092)	936.2 (182.8-2316)	0.7203
Eritrocitos	34	4.410 (4.170-4.870)	4.215 (3.05-4.73)	0.1261
Hemoglobina	34	13.10 (11.80-14.16)	11.99 (7.80-14.40)	0.1219
Hematocrito	34	40.02 (35.72-42.30)	36.75 (26.00-41.50)	0.1407
RDW	32	13.95 (12.90-15.90)	14.55 (13.00-16.20)	0.5142
CHCM	34	32.60 (32.00-33.40)	32.40 (26.50-34.70)	0.3099
HCM	33	29.00 (28.00-30.10)	29.18 (24.80-31.50)	0.7828
VCM	34	90.24 (85.17-93.00)	90.45 (68.20-95.00)	0.8813

Tabla suplementaria S19. Relación de los niveles séricos de Gal-9 con las características clínico-histopatológicas en pacientes con CaCu

Características clínico-histopatológicas	n	Media (ng/mL)	Intervalo de confianza al 95% (ng/mL)		Valor p
			Inferior	Superior	
Estadios FIGO					
Estadio I	3	0.81	0.66	0.93	0.1363
Estadio II	14	0.80	0.71	0.91	
Estadio III	15	0.89	0.75	0.99	
Estadio IV	5	0.98	0.69	1.31	
Tipo histológico					
AE	5	0.83	0.66	1.02	0.8537
AC	3	0.89	0.69	1.14	
CCE	32	0.86	0.78	0.96	
Grado de diferenciación					
BD y MD	23	0.86	0.7557	0.9093	0.6539
PD	11	0.88	0.7056	0.9874	
Queratinización					
No queratinizante	22	0.873	0.7557	0.9874	0.9525
Queratinizante	5	0.868	0.6947	1.165	

Tabla suplementaria S20. Relación de los niveles séricos de TIM-3 con las características clínico-histopatológicas en pacientes con CaCu

Características clínico-histopatológicas	n	Mediana (ng/mL)	Intervalo de confianza al 95% (ng/mL)		Valor p
			Inferior	Superior	
Estadios FIGO					
Estadio I	5	0.20	0.11	0.22	0.5021
Estadio II	10	0.15	0.14	0.17	
Estadio III	12	0.15	0.13	0.23	
Estadio IV	4	0.19	0.17	0.20	
Tamaño de tumor					
≤6 cm	19	0.16	0.14	0.20	0.2857
>6 cm	2	0.32	0.16	0.22	
Tipo histológico					
AE	5	0.16	0.14	0.33	0.7777
AC	3	0.14	0.14	0.20	
CCE	23	0.17	0.15	0.20	
Grado de diferenciación					
BD y MD	13	0.15	0.13	0.22	0.7097
PD	8	0.17	0.10	0.22	

Tabla suplementaria S21. Correlaciones entre los niveles en sangre de Gal-9, y marcadores de anemia e inflamación de pacientes con tumores ≤ 6 cm

Marcadores	Normal	n	r	R ²	Mediana	IC al 95%		Valor p
						Inferior	Superior	
Leucocitos	Si	25	0.15	0.02	6.53	5.30	7.75	0.4655
Linfocitos	Si	24	-0.20	0.04	1.51	1.10	2.00	0.3431
Monocitos	Si	21	0.24	0.06	0.48	0.41	0.54	0.3023
Eosinófilos	No	20	0.16	0.02	0.20	0.09	0.20	0.5069
Basófilos	No	18	0.20	0.00	0.07	0.05	0.08	0.4376
Neutrófilos	No	24	0.32	0.13	4.18	3.18	4.92	0.1312
Plaquetas	Si	25	-0.14	0.02	304.90	233.00	356.00	0.4967
Neutrófilos/Linfocitos	No	24	0.19	0.17	4.20	2.07	3.60	0.3794
Plaquetas/Linfocitos	No	24	-0.07	0.10	285.30	136.60	312.90	0.7605
Monocitos/Linfocitos	No	21	0.17	0.17	0.47	0.25	0.41	0.4701
Neutrófilos/Plaquetas	Si	24	0.39	0.15	15.13	11.69	18.55	0.0584
Eosinófilos/Linfocitos	No	20	0.28	0.11	0.15	0.05	0.17	0.2388
Índice SIRI	No	24	0.06	0.21	1261.00	553.10	1171.00	0.7837
Índice PIV	No	21	0.15	0.28	699.80	238.90	636.10	0.5144
Eritrocitos	Si	25	-0.13	0.02	4.36	4.21	4.65	0.551
Hemoglobina	No	25	0.09	0.02	12.60	11.90	14.10	0.6616
Hematocrito	Si	25	-0.07	0.00	38.69	36.00	42.30	0.7526
VCM	Si	25	0.08	0.01	89.06	85.00	93.00	0.7185
HCM	Si	24	-0.08	0.01	29.14	27.60	31.20	0.6931
CHCM	Si	25	-0.26	0.07	32.63	32.20	33.40	0.2016
RDW	Si	24	0.41	0.17	14.33	13.00	15.70	0.0475

Abreviaturas. Normal: Distribución normal.

Tabla suplementaria S22. Correlaciones entre los niveles en sangre de Gal-9, y marcadores de anemia e inflamación de pacientes con tumores >6 cm

Marcadores	Normal	n	r	R ²	Mediana	IC al 95 %		Valor p
						Inferior	Superior	
Leucocitos	Si	4	0.92	0.84	10.93	7.50	14.10	0.0834
Linfocitos	Si	4	-0.61	0.37	1.97	0.60	3.06	0.3949
Monocitos	Si	4	0.88	0.78	0.78	0.45	1.13	0.1174
Eosinófilos	Si	4	0.93	0.87	0.22	0.15	0.28	0.066
Basófilos	Si	3	0.98	0.95	0.11	0.08	0.14	0.1426
Neutrófilos	Si	4	0.99	0.98	7.86	4.65	10.43	0.0092
Plaquetas	Si	4	0.26	0.07	317.50	188.00	413.00	0.7385
Neutrófilos/Linfocitos	Si	4	0.66	0.43	6.51	2.03	16.87	0.341
Plaquetas/Linfocitos	Si	4	0.62	0.38	226.10	61.44	460.00	0.3848
Monocitos/Linfocitos	Si	4	0.72	0.52	0.59	0.21	1.38	0.2802
Neutrófilos/Plaquetas	Si	4	0.48	0.23	26.71	11.83	36.67	0.5172
Eosinófilos/Linfocitos	Si	4	0.66	0.44	0.17	0.07	0.40	0.3395
Índice SIRI	Si	4	0.76	0.58	1987.00	382.10	4655.00	0.2383
Índice PIV	Si	4	0.89	0.79	1708.00	271.30	3864.00	0.1116
Eritrocitos	Si	4	-0.27	0.07	3.83	3.05	4.45	0.7335
Hemoglobina	Si	4	0.23	0.05	10.63	9.40	12.40	0.7704
Hematocrito	Si	4	0.16	0.03	33.00	28.30	38.60	0.839
VCM	Si	4	0.79	0.62	87.00	77.00	93.00	0.2144
HCM	Si	4	0.92	0.84	28.00	25.50	30.80	0.085
CHCM	Si	4	0.37	0.14	32.20	30.50	33.20	0.6294
RDW	Si	4	-0.24	0.06	16.83	14.90	20.00	0.764

Abreviaturas. Normal: Distribución normal.

Tabla suplementaria S23. Correlaciones entre los niveles en sangre de TIM-3, y marcadores de anemia e inflamación de pacientes con tejidos no queratinizantes

Marcadores	Normal	n	r	R ²	Mediana	IC al 95%		Valor p
						Inferior	Superior	
Leucocitos	Si	18	0.47	0.22	7.74	6.00	8.40	0.0512
Linfocitos	Si	18	0.04	0.00	1.90	1.62	2.33	0.8863
Monocitos	Si	17	0.55	0.30	0.47	0.40	0.65	0.0226
Eosinófilos	No	17	0.00	0.03	0.20	0.10	0.40	0.9913
Basófilos	Si	17	0.08	0.01	0.07	0.04	0.09	0.7646
Neutrófilos	Si	18	0.59	0.35	4.50	3.30	5.70	0.0092
Plaquetas	Si	18	-0.25	0.06	289.50	242.00	354.00	0.3179
Neutrófilos/Linfocitos	Si	17	0.52	0.27	0.03	0.02	0.04	0.0331
Plaquetas/Linfocitos	Si	18	0.80	0.63	10.91	7.79	14.62	0.0001
Monocitos/Linfocitos	Si	18	-0.42	0.17	21.38	17.75	22.83	0.0866
Neutrófilos/Plaquetas	Si	17	-0.34	0.11	3.23	2.18	3.50	0.1849
Eosinófilos/Linfocitos	Si	18	0.40	0.16	0.48	0.38	0.61	0.1045
Índice SIRI	No	17	0.80	0.70	4.38	2.95	8.50	0.0002
Índice PIV	Si	18	0.68	0.46	1356.00	731.60	2594.00	0.0021
Eritrocitos	Si	18	-0.22	0.05	4.32	4.17	4.62	0.3871
Hemoglobina	Si	18	0.04	0.00	12.20	9.80	14.30	0.8876
Hematocrito	Si	18	-0.01	0.00	38.27	32.20	41.10	0.9822
VCM	No	18	0.24	0.05	90.14	82.00	93.00	0.3443
HCM	No	18	0.25	0.04	29.00	26.70	31.60	0.3171
CHCM	No	18	0.12	0.01	32.85	31.70	34.30	0.6319
RDW	No	18	0.18	0.01	14.21	13.00	17.30	0.4649

Abreviaturas. Normal: Distribución normal.

Tabla suplementaria S24. Correlaciones entre los niveles en sangre TIM-3, y marcadores de anemia e inflamación de pacientes con tejidos queratinizantes

Marcadores	Normal	n	r	R ²	Mediana	IC al 95%		Valor p
						Inferior	Superior	
Leucocitos	Si	4	0.56	0.31	8.13	6.00	8.90	0.4419
Linfocitos	Si	4	-0.04	0.00	2.08	1.62	2.68	0.9595
Monocitos	Si	4	0.99	0.99	0.45	0.41	0.60	0.0071
Eosinófilos	Si	4	-0.39	0.15	0.55	0.18	1.11	0.6133
Basófilos	Si	4	0.82	0.67	0.08	0.06	0.10	0.1837
Neutrófilos	Si	4	0.83	0.68	4.27	3.72	5.70	0.173
Plaquetas	Si	4	0.94	0.89	338.20	240.00	522.70	0.0576
Neutrófilos/Linfocitos	Si	4	-0.53	0.28	0.03	0.03	0.03	0.4738
Plaquetas/Linfocitos	Si	4	0.04	0.00	7.36	6.55	8.43	0.962
Monocitos/Linfocitos	Si	4	0.36	0.13	22.39	18.46	23.53	0.6449
Neutrófilos/Plaquetas	Si	4	-0.98	0.95	4.09	3.50	4.25	0.0245
Eosinófilos/Linfocitos	Si	4	-0.58	0.33	0.48	0.38	0.64	0.4249
Índice SIRI	Si	4	0.83	0.69	3.52	2.75	4.38	0.1665
Índice PIV	Si	4	0.99	0.99	1129.00	730.00	2291.00	0.0063
Eritrocitos	Si	4	0.56	0.31	4.44	4.21	4.73	0.441
Hemoglobina	Si	4	-0.97	0.93	12.19	8.50	14.40	0.0344
Hematocrito	Si	4	-0.99	0.98	38.82	32.20	41.50	0.0112
VCM	No	4	-0.40	0.93	90.45	68.20	93.00	0.75
HCM	Si	4	-1.00	1.00	28.75	18.10	31.20	0.0019
CHCM	Si	4	-0.95	0.90	31.33	26.50	34.70	0.049
RDW	Si	4	0.95	0.90	14.71	13.00	23.50	0.0508

Abreviaturas. Normal: Distribución normal.

Tabla suplementaria S25. Relación de los niveles en sangre de índices basados en Gal-9, y marcadores de anemia e inflamación de pacientes con tumores ≤ 6 cm y < 6 cm

Marcadores	n	Tamaño de tumor		Valor p
		≤ 6 cm	< 6 cm	
		Mediana (IC al 95 %)	Media (IC al 95 %)	
Leucocitos/log(Gal-9)	29	8.00 (6.68-8.02)	10.34 (8.38-11.79)	0.0705
Linfocitos/log(Gal-9)	28	1.87 (1.24-2.43)	1.978 (0.52-3.29)	0.8352
Monocitos/log(Gal-9)	25	0.59 (0.47-0.75)	0.73 (0.50-0.95)	0.1524
Eosinófilos/log(Gal-9)	24	0.24 (0.12-0.23)	0.21 (0.17-0.24)	0.4771
Basófilos/log(Gal-9)	21	0.09 (0.06-0.09)	0.10 (0.09-0.12)	0.1534
Plaquetas/log(Gal-9)	29	381 (261.2-459.1)	305.9 (202.0-439.2)	0.4443
RDW/log(Gal-9)	28	17.39 (15.65-18.31)	16.40 (13.55-21.49)	0.6044

Tabla suplementaria S26. Relación de los niveles en sangre de índices basados en TIM-3, y marcadores de anemia e inflamación con la queratinización de tumores en pacientes con CaCu

Marcadores	n	Queratinización		Valor p
		Q Media (IC al 95%)	NQ Media (IC al 95%)	
Eosinófilos/TIM-3	16	1.071 (0.46-1.44)	5.44 (1.74-11.51)	0.1472
HCM/TIM-3	18	163.6 (122.1-215.8)	239.4 (105.4-323.5)	0.2083

Tabla suplementaria S27. Asociación de los niveles en sangre de los marcadores de anemia e inflamación previo al tratamiento con la respuesta terapéutica

Marcadores de anemia e inflamación previo al tratamiento	n	Grupos de pacientes		Valor p
		Pacientes respondedoras Mediana (IC al 95%)	Pacientes no respondedoras Mediana (IC al 95%)	
Leucocitos	15	7.40 (6.00-8.90)	7.32 (4.30-8.50)	0.3525
Neutrófilos	14	3.77 (3.36-5.70)	6.445 (1.50-6.56)	0.6733
Neutrófilos/Linfocitos	14	2.296 (1.244-2.850)	4.564 (0.62-13.67)	0.1766
Neutrófilos/Plaquetas	14	13.00 (10.00-14.00)	10.00 (3.00-29.00)	0.9585
Índice PIV	14	343.3 (185.7-893.8)	1038 (113.3-5255)	0.2398
Índice SIRI	14	767.3 (314.8-1490)	2015 (283.1-7298)	0.2398
Eritrocitos	16	4.55 (4.17-4.75)	3.76 (2.99-4.56)	0.0683
Hemoglobina	16	12.20 (8.50-14.50)	11.54 (8.30-13.70)	0.8565
Hematocrito	16	37.51 (31.60-44.40)	34.80 (27.70-41.60)	0.6106
RDW	16	15.30 (11.50-23.50)	13.84 (11.30-20.20)	0.5428
CHCM	16	32.00 (26.50-33.50)	32.00 (29.38-35.00)	0.4749
HCM	16	28.30 (18.10-31.60)	29.30 (23.00-33.60)	0.3189
VCM	16	85.50 (68.20-94.90)	91.65 (78.00-98.00)	0.2770

Tabla suplementaria S28. Asociación de los cambios en los niveles en sangre de marcadores de anemia e inflamación durante el tratamiento con la respuesta terapéutica

Marcadores de anemia e inflamación durante el tratamiento	n	Grupos de pacientes		Valor p
		Pacientes respondedoras Mediana (IC al 95%)	Pacientes no respondedoras Mediana (IC al 95%)	
Δ Monocitos	15	0.115 (0.00-0.24)	0.210 (0.01-0.22)	0.6385
Δ Neutrófilos/Linfocitos	14	-0.162 (-1.61-1.092)	-1.467 (-8.18-5.36)	0.4373
Δ Plaquetas/Linfocitos	16	-110.6 (-227.0-18.78)	-50.82 (-600.9-520.7)	0.9519
Δ Monocitos/Linfocitos	16	-0.10 (-0.19 – -0.02)	-0.059 (-1.114-0.90)	0.5683
Δ Índice PIV	14	187.7 (-231.9-291.9)	30.68 (-918.7-3125)	0.6064
Δ Índice SIRI	14	-3.225 (-376.5-627.2)	-114.1 (-1880-3123)	0.6903
Δ Eritrocitos	16	0.80 (-0.49-1.09)	0.71 (0.27-1.06)	0.4513
Δ Hemoglobina	16	0.60 (-5.30-2.50)	1.62 (-0.40-3.20)	0.3006
Δ Hematocrito	16	1.90 (-12.80-8.70)	6.20 (-0.600-9.20)	0.5428
Δ RDW	16	1.80 (-2.00-4.70)	-0.65 (-7.70-7.40)	0.2946
Δ CHCM	16	-1.105 (-3.80-0.00)	-0.38 (-3.00-2.40)	0.3519
Δ HCM	16	-3.64 (-8.50 – -0.40)	-0.95 (-6.70-4.50)	0.1265
Δ VCM	16	-8.895 (-21.20-0.70)	-1.550 (-16.90-10.00)	0.7680

Tabla suplementaria S29. Asociación de los niveles en sangre de marcadores de anemia e inflamación en sangre posterior al tratamiento con la respuesta terapéutica

Marcadores de anemia e inflamación posterior al tratamiento	n	Grupos de pacientes		Valor p
		Pacientes respondedoras Mediana (IC al 95%)	Pacientes no respondedoras Mediana (IC al 95%)	
Leucocitos	15	4.19 (3.00-5.30)	5.17 (3.50-8.50)	0.1244
Neutrófilos	14	2.22 (1.92-3.65)	4.60 (1.40-7.05)	0.1049
Monocitos	15	0.375 (0.20-0.53)	0.450 (0.17-0.51)	0.9075
Neutrófilos/Linfocitos	15	2.613 (1.49-3.24)	8.30 (0.74-12.27)	0.0502
Neutrófilos/Plaquetas	14	8.00 (7.00-12.30)	14.00 (3.00-26.00)	0.0887
Monocitos/Linfocitos	16	0.319 (0.20-0.45)	0.651 (0.00-1.42)	0.4278
Índice PIV	15	201.7 (91.74-522.2)	1250 (51.33-2129)	0.0793
Índice SIRI	15	781.9 (370.6-933.0)	3894 (293.3-4175.0)	0.0608
RDW	16	13.75 (11.10-19.40)	13.25 (10.90-25.00)	0.8764
CHCM	16	32.70 (32.00-33.80)	32.30 (29.40-36.00)	0.8940
HCM	16	31.15 (26.40-34.20)	31.35 (24.10-34.50)	0.9210
VCM	16	95.60 (80.40-102.0)	93.65 (82.00-101.0)	0.8561

MATERIAL SUPLEMENTARIO 6: TABLAS DE CARACTERÍSTICAS DE LAS PACIENTES

Tabla P1. Características clínico-histopatológicas de pacientes con CaCu

Características clínico-histopatológicas	n/n total de pacientes
Estadio FIGO	
I	5/50
II	16/50
III	17/50
IV	6/50
No determinado	6/50
Tamaño de tumor	
≤6 cm	29/50
>6 cm	7/50
No determinado	14/50
Tipo histológico	
CCE	40/50
AC	6/50
AE	4/50
Grado de diferenciación	
BD	3/50
MD	25/50
PD	13/50
No determinado	9/50
Queratinización	
NQ	26/50
Q	8/50
No aplica	10/50
No determinado	6/50

Notas. El grupo no determinado se conformó por pacientes cuya característica clínica o histopatológica no se reportó en el expediente clínico. En cambio, el grupo no aplica incluyó a las pacientes con tipos histológicos de adenoescamoso, y adenocarcinoma, los cuales no pueden ser clasificados de acuerdo con su queratinización.

Tabla P2. Niveles en sangre de marcadores de inflamación de pacientes con CaCu

Niveles en sangre de células	n/n total de pacientes
Plaquetas ($10^3/\mu\text{L}$)	
Alto: ≥ 425	10/50
Normal: 142-424	39/50
Bajo: ≤ 141	1/50
Leucocitos ($10^3/\mu\text{L}$)	
Alto: ≥ 10.3	4/50
Normal: 4.6-10.2	42/50
Bajo: ≤ 4.5	4/50
Neutrófilos ($10^3/\mu\text{L}$)	
Alto: ≥ 6.48	6/50
Normal: 1.07-6.47	43/50
Bajo: ≤ 1.06	0/50
No determinado	1/50
Linfocitos ($10^3/\mu\text{L}$)	
Alto: ≥ 3.41	0/50
Normal: 0.60-3.40	45/50
Bajo: ≤ 0.59	4/50
No determinado	1/50
Monocitos ($10^3/\mu\text{L}$)	
Alto: ≥ 0.91	1/50
Normal: 0.00-0.90	43/50
No determinado	6/50
Eosinófilos ($10^3/\mu\text{L}$)	
Alto: ≥ 0.71	4/50
Normal: 0.00-0.70	41/50
No determinado	5/50
Basófilos ($10^3/\mu\text{L}$)	
Alto: ≥ 0.21	0/50
Normal: 0.00-0.20	45/50
No determinado	5/50

Nota. El grupo no determinado se conformó por pacientes cuya característica hematológica no se cuantificó en la biometría hemática.

Tabla P3. Niveles en sangre de marcadores de anemia en sangre de pacientes con CaCu

Niveles de los marcadores de anemia en sangre	n/n total de pacientes
Eritrocitos ($10^3/\mu\text{L}$)	
Alto: ≥ 6.14	0/50
Normal: 4.04-6.13	37/50
Bajo: ≤ 4.03	13/50
Hemoglobina (g/dL)	
Alto: ≥ 18.2	0/50
Normal: 12.2-18.1	27/50
Bajo: ≤ 12.1	23/50
Hematocrito (%)	
Alto: ≥ 53.8	0/50
Normal: 37-7-53.7	38/50
Bajo: ≤ 37.6	12/50
VCM (Ft)	
Alto: ≥ 97.1	2/50
Normal: 80.0-97.0	48/50
Bajo: ≤ 79.9	0/50
HCM (pg/Eritrocito)	
Alto: ≥ 32.1	5/50
Normal: 27.0-32.0	30/50
Bajo: ≤ 26.9	14/50
No determinado	1/50
CHCM (g/dL)	
Alto: ≥ 36.1	0/50
Normal: 32.0-36.0	37/50
Bajo: ≤ 31.9	13/50
RDW (%)	
Alto: 18.4	5/50
Normal: 13.9-18.3	22/50
Bajo: 13.8	21/50
No determinado	2/50

Nota. El grupo no determinado se conformó por pacientes cuya característica hematológica no se cuantificó en la biometría hemática.

Tabla P4. Características clínico-histopatológicas de pacientes respondedoras al tratamiento

Características clínico-histopatológicas	n/n total de pacientes
Estadio FIGO	
I	0/10
II	3/10
III	5/10
IV	2/10
Tamaño de tumor	
≤6 cm	6/10
>6 cm	1/10
No determinado	3/10
Tipo histológico	
CCE	9/10
AC	2/10
AE	0/10
Grado de diferenciación	
BD	0/10
MD	7/10
PD	3/10
No determinado	0/10
Queratinización	
NQ	5/10
Q	3/10
No determinado	1/10
No aplica	1/10

Notas. El grupo no determinado se conformó por pacientes cuya característica clínica o histopatológica no se reportó en el expediente clínico. En cambio, el grupo no aplica incluyó a las pacientes con tipos histológicos de adenoescamoso, y adenocarcinoma, los cuales no pueden ser clasificados de acuerdo con su queratinización.

Tabla P5. Características clínico-histopatológicas de las pacientes no respondedoras al tratamiento

Características clínico-histopatológicas	n/n total de pacientes
Estadio FIGO	
I	0/6
II	0/6
III	4/6
IV	2/6
Tamaño de tumor	
≤6 cm	2/6
>6 cm	2/6
No determinado	2/6
Tipo histológico	
CCE	5/6
AC	1/6
AE	0/6
Grado de diferenciación	
BD	1/6
MD	2/6
PD	1/6
No determinado	2/6
Queratinización	
NQ	2/6
Q	0/6
No determinado	3/6
No aplica	1/6

Notas. El grupo no determinado se conformó por pacientes cuya característica clínica o histopatológica no se reportó en el expediente clínico. En cambio, el grupo no aplica incluyó a las pacientes con tipos histológicos de adenoescamoso, y adenocarcinoma, los cuales no pueden ser clasificados de acuerdo con su queratinización.

MATERIAL SUPLEMENTARIO 7: FIGURAS SUPLEMENTARIAS

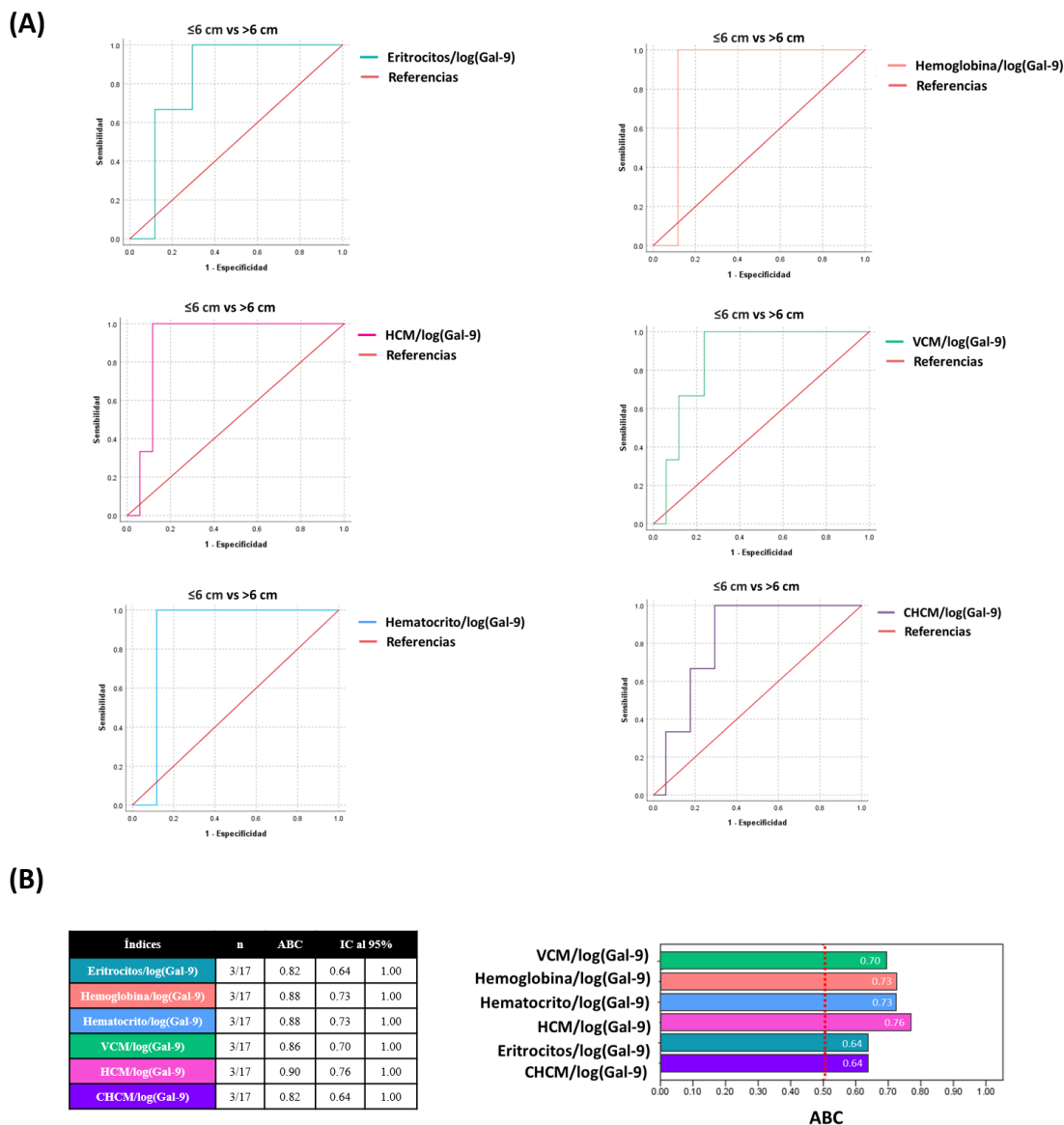


Figura S1. Los niveles en sangre de los índices de eritrocitos/log(Gal-9), VCM/log(Gal-9), HCM/log(Gal-9), hemoglobina/log(Gal-9), hematocrito/log(Gal-9), y CHCM/log(Gal-9) permiten identificar a las pacientes con tumores de cérvix ≤ 6 cm y >6 cm

(A) Vista individual de las curvas ROC de datos pareados basadas en los niveles en sangre de los índices de eritrocitos/log(Gal-9), VCM/log(Gal-9), HCM/log(Gal-9), hemoglobina/log(Gal-9), hematocrito/log(Gal-9), y CHCM/log(Gal-9) en pacientes con tumores de cérvix ≤ 6 cm y >6 cm. (B) Parámetros de curva ROC, y gráfico de calidad de modelo predictivo de cada índice. La calidad de los modelos predictivos se representa en un gráfico con los valores de ABC del límite inferior de confianza al 95 % en las barras horizontales, y la línea roja indica el umbral de referencia. **Abreviaturas.** ABC: Área bajo la curva. IC: Intervalo de confianza. log(Gal-9): El logaritmo de los niveles de Gal-9 séricos en ng/mL. ≤ 6 cm: Pacientes con tumores de cérvix ≤ 6 cm. >6 cm: Pacientes con tumores de cérvix >6 cm. ABC: Área bajo la curva. IC: Intervalo de confianza. VCM: Volumen celular medio. HCM: Hemoglobina corpuscular media. CHCM: Concentración de hemoglobina corpuscular media.

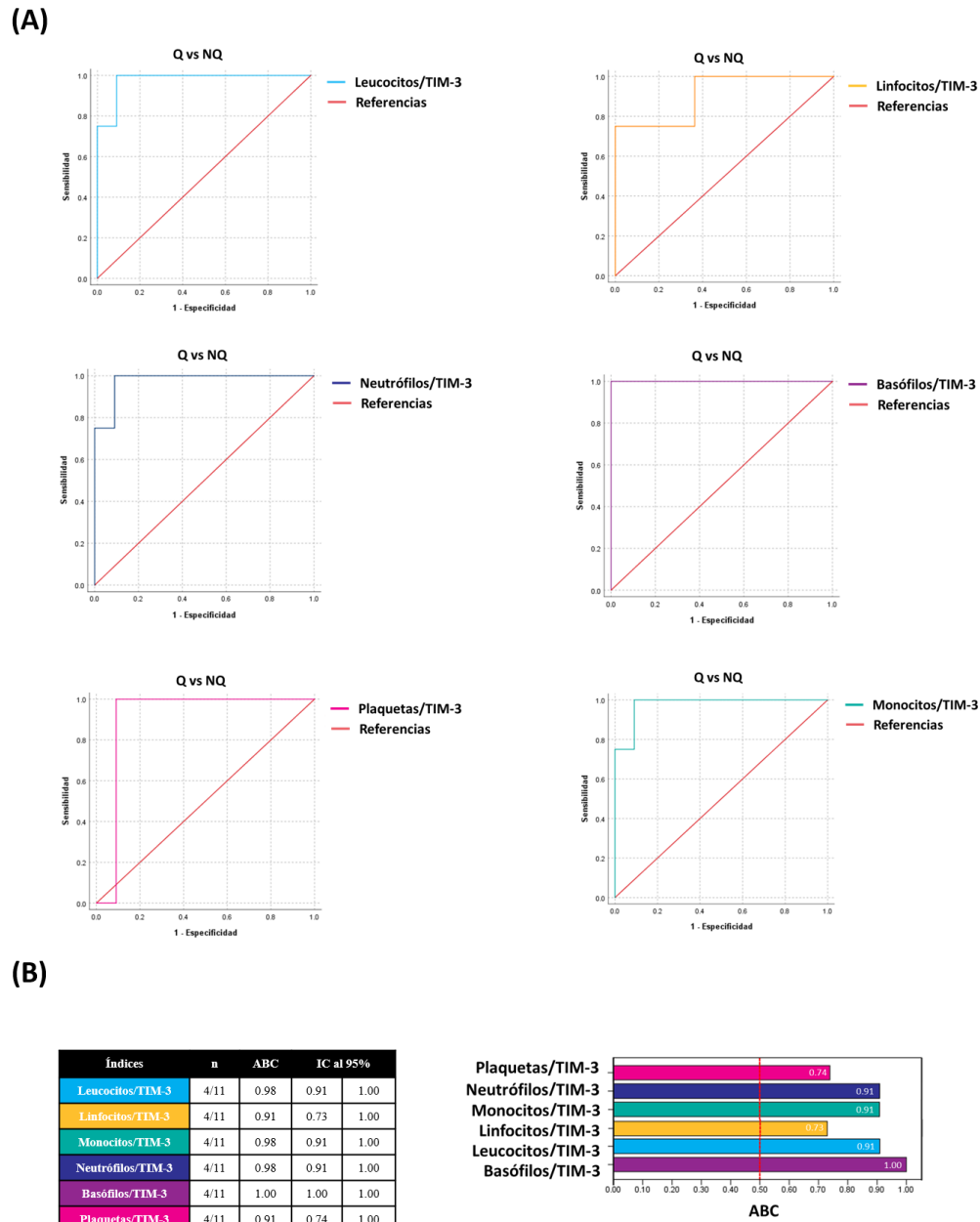
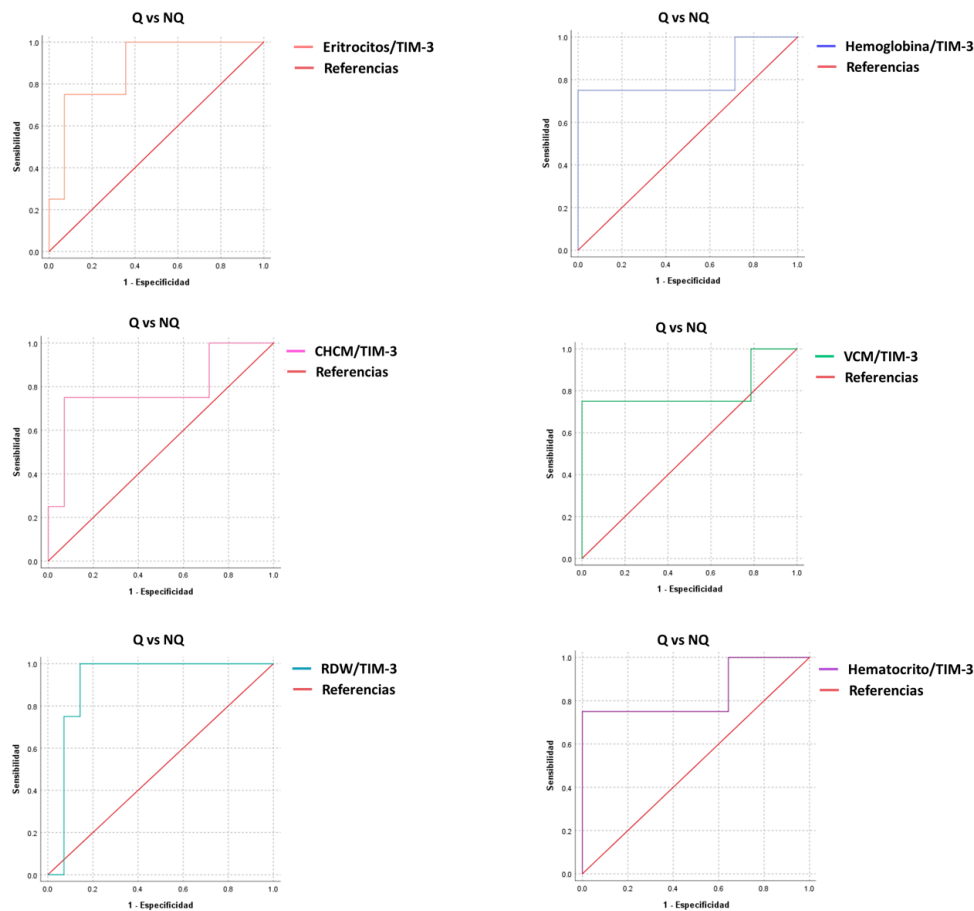


Figura S2. Los niveles en sangre de los índices de leucocitos/TIM-3, linfocitos/TIM-3, neutrófilos/TIM-3, basófilos/TIM-3, monocitos/TIM-3, y plaquetas/TIM-3 permiten diferenciar entre las pacientes con tumores de cérvix queratinizantes y no queratinizantes

(A) Vista individual de las curvas ROC de datos pareados basadas en los niveles en sangre de los índices de leucocitos/TIM-3, linfocitos/TIM-3, neutrófilos/TIM-3, basófilos/TIM-3, monocitos/TIM-3, y plaquetas/TIM-3 en pacientes con tumores de cérvix queratinizantes y no queratinizantes. (B) Parámetros de curva ROC, y gráfico de calidad de modelo predictivo de cada índice. La calidad de los modelos predictivos se representa en un gráfico con los valores de ABC del límite inferior de confianza al 95 % en las barras horizontales, y la línea roja indica el umbral de referencia. **Abreviaturas.** ABC: Área bajo la curva. IC: Intervalo de confianza. NQ: Pacientes con tumores de cérvix no queratinizantes. Q: Pacientes con tumores de cérvix queratinizantes.

(A)



(B)

Índices	n	ABC	IC al 95%	
Eritrocitos/TIM-3	4/14	0.88	0.69	1.00
Hemoglobina/TIM-3	4/14	0.82	0.51	1.00
Hematocrito/TIM-3	4/14	0.84	0.55	1.00
VCM/TIM-3	4/14	0.80	0.46	1.00
CHCM/TIM-3	4/14	0.79	0.48	1.00
RDW/TIM-3	4/14	0.91	0.77	1.00

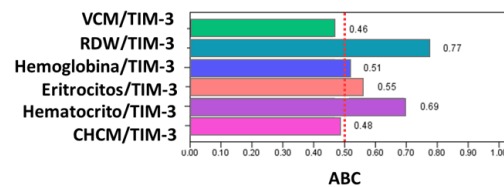


Figura S3. Los niveles en sangre de eritrocitos/TIM-3, hemoglobina/TIM-3, hematocrito/TIM-3, VCM/TIM-3, CHCM/TIM-3, y RDW/TIM-3 permiten diferenciar entre las pacientes con tumores de cérvix queratinizantes y no queratinizantes

(A) Vista individual de las curvas ROC de datos pareados basadas en los niveles en sangre de eritrocitos/TIM-3, hemoglobina/TIM-3, hematocrito/TIM-3, VCM/TIM-3, CHCM/TIM-3, y RDW/TIM-3 en pacientes con tumores de cérvix queratinizantes y no queratinizantes. (B) Parámetros de curva ROC, y gráfico de calidad de modelo predictivo de cada índice. La calidad de los modelos predictivos se representa en un gráfico con los valores de ABC del límite inferior de confianza al 95 % en las barras horizontales, y la línea roja indica el umbral de referencia. **Abreviaturas.** ABC: Área bajo la curva. IC: Intervalo de confianza. NQ: Pacientes con tumores de cérvix no queratinizantes. Q: Pacientes con tumores de cérvix queratinizantes. VCM: Volumen celular medio. CHCM: Concentración de hemoglobina corpuscular media. RDW: Amplitud de distribución eritrocitaria.

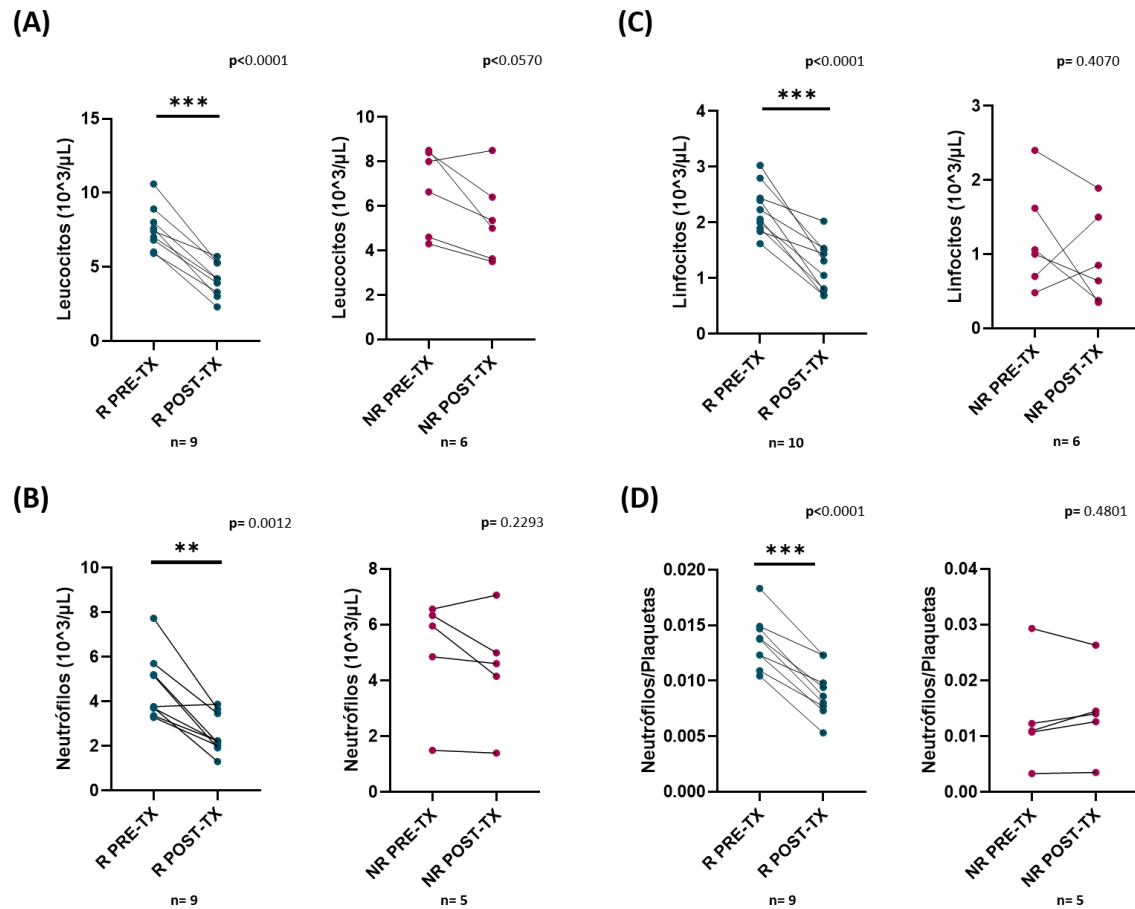


Figura S4. Cambios de los niveles en sangre leucocitos, neutrófilos, linfocitos, y neutrófilos/plaquetas previo y posterior al tratamiento de pacientes respondedoras y no respondedoras

Comparación de los niveles en sangre de **A)** leucocitos, **B)** neutrófilos, **C)** linfocitos, y **D)** neutrófilos/plaquetas previo y posterior al tratamiento en pacientes respondedoras y no respondedoras. Las comparaciones de dos grupos de datos paramétricos se analizaron con la prueba t Student pareada. Cada punto representa el dato de una paciente. **Abreviaturas.** R: Pacientes respondedoras a tratamiento. NR: Pacientes no respondedoras a tratamiento. PRE-TX: Pretratamiento. POST-TX: Postratamiento.