SECRETARIA GENERAL
DECRETACION
EHW/PDG/CMI/mcc

UNIVERSIDAD DE LA FRONTERA
Aprueba Acuerdo de Colaboración entre, la Pontificia Universidad Católica de Chile y la Universidad de La Frontera en Proyecto de Investigación Chile Bils.

TEMUCO, 31 AGO. 2018

RESOLUCION **EXENTA** 2202

VISTOS: Los DFL de Educación Nºs 17 y 156 de 1981, D.U. Nº314 de 2010.

CONSIDERANDO

Lo solicitado por la Director del Departamento de Anatomía Patológica de la Facultad de Medicina Sr. Miguel Villaseca Hernández, en Documento de fecha 08 de agosto de 2018.

R E S U E L V O

APRUEBASE convenio de colaboración, suscrito con fecha 23 de julio de 2018 entre, la **PONTIFICA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CHILE**, R.U.T. N°**81.698.900-0**, representada por su Vicerrector de Investigación don Pedro Bouchon Aguirre, domiciliados ambos en Avenida Libertador Bernardo O' Higgins N°340, comuna de Santiago, Región Metropolitana, Chile, en adelante e indistintamente denominada como **"UC"**, y la **UNIVERSIDAD DE LA FRONTERA**, R.U.T. N°**87.912.900-1**, representada por su Rector, don **Sergio Bravo Escobar**, ambos domiciliados en Av. Francisco Salazar N°01145, comuna de Temuco, IX Región de La Araucanía, en adelante e indistintamente denominada como **"UFRO"**, han convenido lo siguiente:

a) Que el Nacional Cancer Institute perteneciente al National Institutes of Health, en adelante "**NIH**", ha asegurado los fondos para llevar a cabo el Estudio Longitudinal de Enfermedades Biliares en Chile, en adelante "**Chile BiLS**", a ser ejecutado por la **UC**.

b) Que el objetivo principal de **Chile BiLS** es identificar factores epidemiológicos y marcadores moleculares de Cáncer de Vesícula Biliar mediante la realización de un estudio de cohorte prospectivo en mujeres con colelitiasis en Chile.

c) Que los Investigadores Principales del Estudio **Chile BiLS** son la Dra. Jill Koshiol por parte del **NIH** y la Dra. Catterina Ferreccio por parte de la **UC**.

d) Que de acuerdo al diseño del proyecto **Chile BiLS** es necesario ejecutar una parte importante del estudio en el Hospital Dr. Hernán Henríquez Aravena de la comuna de Temuco.

e) Que existe un convenio Docente Asistencial vigente entre el Hospital Dr. Hernán Henríquez Aravena y la **UFRO**, que, entre otros, entrega atribuciones a académicos de esta última institución para realizar actividades de investigación en instalaciones de dicho hospital.

f) Que se cuenta con la autorización para la ejecución del estudio dada por la autoridad competente del Hospital Dr. Hernán Henríquez Aravena de la comuna de Temuco.

g) Que con fecha 11 de julio de 2016 las partes suscribieron un Acuerdo de Colaboración en estos mismos términos, estableciéndose en su cláusula séptima una vigencia de un año renovable por acuerdo de las partes.

h) Que las partes tienen interés de seguir desarrollando en conjunto el proyecto **Chile BiLS**.

En razón de lo expuesto, las partes suscriben el presente **Acuerdo de Colaboración**, según los siguientes términos y condiciones:

Universidad de la Frontera
Contraloría Universitaria
Toma de Razón
Fecha 04 SET. 2018
Firma

GUSTAVO BECERRA AREVALO
CONTRALOR SUBROGANTE
UNIVERSIDAD DE LA FRONTERA

PRIMERO: OBJETO DEL CONVENIO.

El presente acuerdo tiene por objeto dejar constancia de los acuerdos mediante los cuales las partes UC y UFRO determinan sus aportes y participación en el proyecto para llevar a cabo los procedimientos a ser realizados por la **UFRO** dentro del proyecto **Chile BiLS**, en específico, el análisis histopatológico de las muestras de vesícula biliar, en adelante el "**Subestudio**".

El número de participantes de **Chile BiLS,** que incluye colecistectomizados y casos incidentes de cáncer de vesícula biliar (CVB) que ingresarán a este protocolo, se estima en aproximadamente 200 pacientes anuales para los primeros dos años, pudiendo llegar 350 pacientes por año una vez que el estudio esté en régimen, es decir, una vez completadas las 25.000 ecografías.

Las tareas a realizar por la UFRO y las personas responsables de cada una se resumen en la siguiente Tabla:

Tabla 1. Resumen de procedimientos de recolección, procesamiento y transferencia de especímenes quirúrgicos.

	Procedimiento	Personal Responsable
1	Transportar especímenes desde Pabellón a Patología	Auxiliar de pabellón
2	Procesar bilis recolectada en pabellón	Srta. Karie Medina
	Completar Formulario 13A-PROQ	Srta. Karie Medina
3	Estudio macroscópico inicial	Sr. Luis Campos / Sr. Jonathan Yañez
	Completar Formulario 14-MACR	Srta. Karie Medina
4	Fotografiar especímenes frescos	Sr. Luis Campos / Sr. Jonathan Yañez
5	Teñir y abrir vesícula	Sr. Luis Campos / Sr. Jonathan Yañez
	Completar Formulario 14-MACR	Srta. Karie Medina
6	Recolectar cálculos	Sr. Luis Campos / Sr. Jonathan Yañez
	Completar Formularios 13A-PROQ y 14-MACR	Srta. Karie Medina
7	Procesar tejido fresco congelado	Srta. Karie Medina
	Completar Formulario 13A-PROQ	Srta. Karie Medina
8	Procesar tejido en RNALater y congelado	Srta. Karie Medina
	Completar Formulario 13A-PROQ	Srta. Karie Medina
9	Fijar vesícula en formalina	Sr. Luis Campos / Sr. Jonathan Yañez
	Completar Formulario 14-MACR	Srta. Karie Medina
10	Fotografiar vesícula fijada (superficie mucosa)	Sr. Luis Campos / Sr. Jonathan Yañez
11	Preparar tacos de tejido	Sr. Mauricio Campos
	Completar Formulario 13A-PROQ	Srta. Karie Medina
12	Preparar resto de vesícula para mapeo	Sr. Luis Campos / Sr. Jonathan Yañez
	Completar Formulario 13A-PROQ	Srta. Karie Medina
13	Generar láminas teñidas (HE) y no teñidas para diagnóstico	Sr. Mauricio Campos
	Completar Formulario 13B-LAMI	Srta. Karie Medina
14	Generar láminas teñidas (HE) y no teñidas para estudio	Sr. Mauricio Campos
	Completar Formulario 13B-LAMI	Srta. Karie Medina
15	Realizar estudio microscópico	Patólogo
	Completar Formulario 15-MICRO	Patólogo
16	Realizar estudio de mapeo	Patólogo
	Completar Formulario 16-MAPE	Patólogo
17	Escanear láminas teñidas	Sra. Susana Aedo
18	Enviar muestras a biobanco en Santiago	Srta. Karie Medina

El Investigador Principal a cargo de estas actividades será el Director del Departamento de Anatomía Patológica de la **UFRO**, Dr. Juan Carlos Araya Oróstica.

Forman parte de este **Subestudio** y del presente acuerdo, para todo efecto legal, los Anexos A (Protocolo General del Estudio), B (Protocolo de Recolección y Manejo de Especímenes Quirúrgicos)

Universidad de la Frontera
Contraloría Universitaria
Toma de Razón
Fecha 04 SET. 2018
Firma

GUSTAVO BECERRA AREVALO
CONTRALOR SUBROGANTE
UNIVERSIDAD DE LA FRONTERA

y C (Formularios de Recolección de Datos del Análisis Histopatológico), así como las modificaciones posteriores, debidamente suscritas por las partes, que estos puedan tener.

SEGUNDO: COSTOS DEL PROYECTO Y OBLIGACIONES DE LAS PARTES.

El costo total anual del **Subestudio** asciende a $ 33.000.000.- (Treinta y tres millones de pesos), por cada año que se mantenga vigente el presente Acuerdo de Colaboración, los cuales serán financiados anualmente por las Partes y con aportes del proyecto **ChileBiLS**, adicionalmente por este año 2018, el proyecto **ChileBiLS** aportará $ 1.700.000 para efectos de co-financiar los gastos de gestión de la autorización sanitaria del Edificio de Biociencias de la Facultad de Medicina donde se ubican las oficinas del proyecto y aportará $ 1.000.000 a la Unidad de Anatomía Patológica de manera extraordinaria para realizar cortes de muestras del servicio que serán enviados al NCI (National Cancer Institute) relacionados según se muestra en la siguiente tabla y totalizando $35.700.000.

Institución	**Aporte Pecuniario ($)**	**Aporte No Pecuniario ($)**	**Total ($)**
UC	25.700.000	0	25.700.000
UFRO	0	10.000.000	10.000.000
Total Proyecto ($)			**35.700.000**

La UC se compromete a:

a) Destinar $25.700.000.- (veinticinco millones setecientos mil pesos) del presupuesto de **Chile BiLS** otorgados a la **UFRO** ($24.000.000.- al Departamento de Anatomía Patológica y $1.700.000.- al decanato de Medicina) para apoyar esta colaboración. Este monto se transferirá en una cuota, en el mes de agosto del año 2018. Contra la firma de este convenio.

b) Proporcionar las etiquetas de portaobjetos y de casettes requeridos para el procesamiento de especímenes quirúrgicos. En el caso de que la **UC** aporte una impresora de portaobjetos o una impresora de casettes, se suspenderá la entrega de etiquetas.

c) Proporcionarlos insumos requeridos para el almacenamiento de especímenes quirúrgicos (bilis, cálculos y vesícula biliar) en el Biobanco de la **UC**.

La totalidad de estos fondos tiene como origen el proyecto **Chile BiLS**, centro de costo 3883-369 y son provistos directamente desde el **NIH** concurso #Z01CP10218.

La UFRO se compromete a:

a) Destinar $10.000.000.- (Diez millones de pesos) como aporte no pecuniario, los cuales corresponden al uso de las instalaciones del Departamento de Anatomía Patológica para el procesamiento de las muestras de **ChileBiLS**.

b) Realizar íntegramente el procesamiento histológico y estudio anatomopatológico de los especímenes quirúrgicos (bilis, cálculos y vesícula biliar) de los participantes de **Chile BiLS**, según el Protocolo de General del Estudio (Anexo A), completar para cada muestra los Formularios de Recolección de datos de Patología (Anexo B) y velar que las muestras sean procesadas y almacenadas de acuerdo al Protocolo.

c) Proporcionar trabajo del personal y todos los insumos necesarios para el procesamiento histológico y anatomopatológico (no incluye etiquetas de portaobjetos y casettes).

En el caso de que la **UC** aporte una impresora de portaobjetos o una impresora de casettes, el Departamento de Anatomía Patológica de la **UFRO** proveerá los insumos requeridos para su uso, incluyendo portaobjetos y tinta específicos.

d) Escanear las láminas histológicas antes de su envío a la **UC** y enviar dichos archivos periódica y oportunamente al servidor del estudio que se defina.

e) Gestionar la autorización sanitaria de los laboratorios que se utilizarán para la ejecución del presente proyecto y que se encuentran en el Edificio de Biociencias de la Facultad de Medicina.

GUSTAVO BECERRA AREVALO
CONTRALOR SUBROGANTE
UNIVERSIDAD DE LA FRONTERA

Universidad de la Frontera
Contraloría Universitaria
Toma de Razón
Fecha 04 SET. 2018
Firma

TERCERO: COORDINADORES.

Para coordinar las relaciones entre las Partes en relación a este contrato, cada Parte designa a las siguientes personas como interlocutores válidos:

- La **UC** designa como su coordinador a la Dra. Catterina Ferreccio, Profesor Titular del Departamento de Salud Pública de la Escuela de Medicina, e-mail: catferrec@med.puc.cl, teléfono: +56223543038, o a quien la institución designe en su reemplazo;

- La **UFRO** designa como su coordinador al Dr. Juan Carlos Araya Oróstica, Director del Departamento de Anatomía Patológica de la Facultad de Medicina, teléfono:+56995428666, correo electrónico: juan.araya@ufrontera.cl , o a quien la institución designe en su reemplazo.

Cada Parte podrá sustituir temporal o definitivamente a las personas designadas para desempeñarse como coordinadores entre ellas por otros académicos, previa comunicación escrita de esa denominación a la otra Parte.

Ambas partes, mantendrán una comunicación abierta entre sí y realizarán conferencias telefónicas periódicas para intercambiar información referente a **Chile BiLS**.

CUARTO: PROPIEDAD INTELECTUAL.

Las Partes se comprometen a realizar todas las acciones que sean necesarias con el objeto de salvaguardar los derechos de propiedad intelectual sobre eventuales productos derivados de la ejecución de este Proyecto. Sin perjuicio de lo anterior, y antes de la próxima renovación del presente convenio, las partes se comprometen a regular las materias sobre propiedad intelectual, en acuerdos específicos que se tendrán por incorporados en el presente convenio.

QUINTO: CONFIDENCIALIDAD.

La **UFRO** y la **UC** se comprometen a no revelar, en cualquier forma, sin el previo consentimiento de la otra Parte, cualquier información científica o técnica en relación a la otra Parte a la que puedan haber tenido acceso en el curso de cualquier actividad prevista en el presente Acuerdo, siempre y cuando dicha información no sea de dominio público.

Al respecto, las Partes declaran que durante el transcurso del Proyecto, se proporcionarán, recíprocamente, información y se comprometen a que dicha información tendrá el carácter de confidencial. Para los efectos de este acuerdo, se entiende por información confidencial todos los antecedentes, procesos, efectos de procesos, conocimientos y/o datos, escritos o verbales, contenidos en documentos, informes, base de datos, registros, soportes informáticos u otros materiales, y en general todo soporte y/o vehículo apto para la incorporación, almacenamiento, tratamiento, trasmisión y/o comunicación de datos de manera gráfica, sonora, visual, audiovisual, escrita o de cualquier tipo a los cuales las Partes accedan, puedan acceder o hayan tenido acceso, directa o indirectamente, por cualquier medio derivados del desarrollo y ejecución del Proyecto.

El deber de confidencialidad se aplicará, especialmente, a todo dato, antecedente o conocimiento relacionado con la institución de la que emana, en particular aquellos de carácter industrial, de investigación, financiero-contable, económico, comercial, de mercado, administrativo, legal y cualquier otro que las Partes lleguen a conocer en razón de la ejecución conjunta del Proyecto y sobre todo conocimiento o resultado obtenido en el Proyecto que sea susceptible de ser protegido mediante una patente de invención u otra protección análoga.

A) Obligaciones en relación a la información confidencial:

1. Las Partes acuerdan mantener en secreto la Información Confidencial y a no divulgarla a terceros bajo forma alguna, a no ser que se autorice expresamente para ello, por escrito, por la otra Parte.

2. Las Partes se obligan a no usar la Información Confidencial de su Contraparte para cualquier otro fin que no sea la ejecución de este Convenio o del Proyecto.

Universidad de la Frontera
Contraloría Universitaria
Toma de Razón
Fecha 04 SET. 2018
Firma

GUSTAVO BECERRA AREVALO
CONTRALOR SUBROGANTE
UNIVERSIDAD DE LA FRONTERA

3. Las Partes se obligan a devolver o destruir cualquier información confidencial de su Contraparte, recibida al amparo de este acuerdo, siempre que así le sea solicitado por ella, así como también, a impedir cualquier uso de esta información y a confirmar por escrito a la otra Parte, que estas medidas han sido adoptadas, cuando le sea solicitado.

4. Las Partes se comprometen a adoptar, permanentemente, todas las medidas de carácter técnico, administrativo y de cualquier otra índole, que fueren necesarias para garantizar por parte de sus empleados, el cabal cumplimiento de la obligación de confidencialidad de que trata el presente acuerdo. De esta manera, se comprometen a suscribir acuerdos de Confidencialidad con las personas que trabajarán en el Proyecto, llevando los registros correspondientes.

5. La Información Confidencial seguirá siendo de propiedad de aquella Parte que la hubiere entregado o dado a conocer con ocasión del desarrollo del Proyecto.

6. La entrega de cualquier información no concede, ni expresa ni implícitamente, autorización, permiso o licencia de uso de marcas comerciales, patentes, secretos industriales, derechos de autor o de cualquier otro derecho de propiedad industrial o intelectual, salvo que se conceda expresamente en virtud del presente Convenio.

La Parte infractora de cualquiera de las obligaciones mencionadas en esta cláusula, deberá indemnizar completamente a la otra por todos los daños, costos, reclamos, impuestos, costas y gastos que provengan directa o indirectamente de tal incumplimiento, sin prejuicio de perseguir las demás responsabilidades penales, civiles y administrativas que puedan concurrir.

Ambas Partes serán responsables, expresamente, de las infracciones que hayan sido resultado de la acción u omisión de alguno de sus empleados o cualquier persona bajo su tutela o responsabilidad.

Las Partes se comprometen a mantener la Confidencialidad hasta 5 años después de finalizado el Proyecto o hasta que la información confidencial sea de dominio público, lo que ocurra primero.

Las obligaciones establecidas en esta cláusula son aplicables a las Partes, sus directores, funcionarios, asesores, u otros que, por cualquier motivo, tengan acceso a la Información Confidencial proporcionada en virtud del presente Acuerdo, asumiendo cada Parte la obligación de hacer que estas personas cumplan con las obligaciones de confidencialidad contenidas en el presente Acuerdo.

B) Se exceptúa del carácter de confidencialidad y reserva aquella información que:

1. La respectiva Parte pruebe que, en tiempo de su entrega, era de dominio público, había sido desarrollada por ella con anterioridad o había sido puesta a su disposición por un medio y dueño legítimo distinto al indicado en este Convenio.

2. Con posterioridad a su entrega, llegue a ser de dominio público, en cualquier forma que no signifique violación al contenido de este Convenio.

3. Se deba divulgar o entregar por mandato legal u orden emanada de autoridad competente. En estos casos, se deberá entregar sólo aquella parte de la información que la ley u orden afecte y se deberá comunicar de este hecho, dentro del plazo de 24 horas siguientes, a la contraparte, de modo que ésta pueda intentar las acciones que estime procedentes.

SEXTO: DIFUSIÓN Y AUTORÍA DE LAS PUBLICACIONES.

Las partes acuerdan establecer la coautoría de las publicaciones científicas que se originen producto de este convenio, de acuerdo a los criterios para ser autor de un artículo científico según el International *Committee of Medical Journal Editors* (ICMJE) que indican: 1) contribución substancial a la concepción y diseño, o a la adquisición de datos, o al análisis e interpretación de datos; 2) escribir el artículo o revisarlo críticamente en cuanto a su contenido intelectual importante; y 3) aprobación final de la versión a ser publicada.

SÉPTIMO: VIGENCIA.

El presente convenio tendrá una duración de un (1) año a partir de esta fecha, renovable automáticamente por periodos iguales y sucesivos de un año. Sin perjuicio de lo anterior, cualquiera de las partes podrá ponerle término mediante un aviso escrito que manifieste su intención de no continuar con el convenio, en cualquier momento, enviando por carta certificada al domicilio de la otra, con una anticipación mínima de noventa (90) días a la fecha en que se desea hacer efectivo el término de convenio. En este último caso la **UFRO** se obliga a restituir el aporte remanente

Universidad de la Frontera
Contraloría Universitaria
Toma de Razón
Fecha 04 SET 2018
Firma

GUSTAVO BECERRA AREVALO
CONTRALOR SUBROGANTE

entregado por la **UC**, que no hubiese sido utilizado en el desarrollo de las actividades del proyecto **Chile BiLS.**

OCTAVO: COMPARECENCIA ESPECIAL.

Comparecen en este acto, doña Catterina Ferreccio Readi y don Juan Carlos Araya Oróstica, ya singularizados, quienes declaran que están en pleno conocimiento y aceptan las estipulaciones y acuerdos que en virtud de presente instrumento asumen las respectivas Universidades a las que pertenecen y le corresponden a los Departamentos referidos en la cláusula tercera.

NOVENO: RESOLUCIÓN DE CONFLICTO.

Cualquier dificultad, diferencia o controversia que se produzca entre las partes comparecientes con motivo de la aplicación, interpretación, duración, validez, ejecución y/o efectos del presente acuerdo o por cualquier otra causa será resuelta por los coordinadores.

DÉCIMO: DOMICILIO.

Para todos los efectos legales, las partes fijan su domicilio en la ciudad de Santiago y para el evento que no logren resolver los conflictos de acuerdo a lo señalado en la cláusula precedente, se someten a la competencia y jurisdicción de sus Tribunales Ordinarios de Justicia.

UNDÉCIMO: EJEMPLARES.

El presente acuerdo se suscribe en 4 ejemplares de idéntico tenor y fecha, quedando dos de ellos en poder de cada parte.

DUODÉCIMO: PERSONERÍAS.

La personería de don Pedro Bouchon Aguirre para representar a la Pontificia Universidad Católica de Chile, en su calidad de Vicerrector, consta de Escritura Pública de fecha 30 de marzo de 2017, otorgada ante la Notario Público Titular de la Décima Notaría de Santiago, doña Valeria Roncheria Flores, repertorio 2.948-2017.

La personería de Sergio Bravo Escobar, para representar a la Universidad de la Frontera consta del Decreto Supremo Nº 296 del 07 de Julio del 2014, del Ministerio de Educación, y de lo dispuesto en artículo 1º del D.F.L. Nº 156, de 11 de Diciembre de 1981.

ANEXO A: PROTOCOLO GENERAL DEL ESTUDIO

PROTOCOLO
ESTUDIO LONGITUDINAL DE ENFERMEDADES BILIARES EN CHILE (CHILEBILS)

Fecha de revisión: 03 de julio de 2015

INVESTIGADOR PRINCIPAL CHILE: Catterina Ferreccio, Pontificia Universidad Católica de Chile.
INVESTIGADOR PRINCIPAL USA: Jill Koshiol, National Cancer Institute, National Institutes of Health, USA.

CO-INVESTIGADORES:
National Cancer Institute(NCI) de Estados Unidos: Ruth Pfeiffer, Allan Hildesheim, Ligia Pinto.

Universidad de la Frontera
Contraloría Universitaria
Toma de Razón
Fecha 04 SET. 2018
Firma

GUSTAVO BECERRA AREVALO
CONTRALOR SUBROGANTE
UNIVERSIDAD DE LA FRONTERA

Pontificia Universidad Católica de Chile: Juan Carlos Roa, Marcelo Andia, Nicolás Jarufe, Francisco Cruz, Vanessa Van De Wyngard.
Hospital Regional de Temuco: Juan Carlos Araya, Enrique Bellolio, Miguel Villaseca, Noldy Mardones.
Hospital Regional de Talca: César Muñoz, Erik Morales.
Universidad de La Frontera: Héctor Losada, Sergio Muñoz.
Universidad Católica del Maule: Andrea Huidobro.
Emory University, Estados Unidos: Volkan Adsay

RESUMEN

El cáncer de vesícula biliar es una de las principales causas de muerte por cáncer entre las mujeres de Chile, país que posee una de las más altas tasas de incidencia y mortalidad de cáncer de vesícula biliar reportadas en el mundo. El cáncer de vesícula biliar proporciona un modelo particularmente idóneo para entender el rol de la inflamación en la carcinogénesis, ya que su principal factor de riesgo, los cálculos biliares, causa inflamación substancial en la vesícula biliar. Chile también tiene una alta prevalencia de obesidad, diabetes y síndrome metabólico, que cada vez más se entienden como trastornos inflamatorios, pero se desconoce el grado en que sus efectos cancerígenos son mediados por vías inflamatorias.

Mientras que la gran mayoría de los pacientes de cáncer de vesícula biliar tienen cálculos biliares, sólo una pequeña fracción de los pacientes con cálculos biliares desarrolla cáncer de vesícula biliar. Puesto que no hay manera de identificar esta pequeña proporción de pacientes en riesgo, aquellos con cálculos biliares son colecistectomizados. Debido al gran número absoluto de personas con colelitiasis, esto resulta en sobretratamiento de unos e insuficiente tratamiento de otros en una zona de alto riesgo como Chile. La colecistectomía es el tratamiento estándar para el alivio sintomático, sin embargo, la demanda de cirugías es mayor a la oferta de cirujanos disponibles para realizarlas.. Como los individuos de 35 a 49 años tienen prioridad para el tratamiento, independientemente de los síntomas, esta práctica puede llevar a sobretratamiento en personas de 35 a 49 años e insuficiente tratamiento entre personas de 50 años o más, dado que los últimos deben esperar más tiempo para acceder a cirugía.

Así como en otros tipos de cáncer, la displasia es un importante punto epidemiológico como precursor inmediato de cáncer, puesto que la mayoría de los cánceres de vesícula biliar se desarrollan a través de una secuencia histológica continua de colecistitis crónica, metaplasia pseudopilórica, metaplasia intestinal incompleta, displasia y cáncer. Por lo tanto, nuestro objetivo es identificar factores de riesgo para la displasia y el cáncer de vesícula biliar (DCB) y potenciales métodos no invasivos de estratificación de riesgo, tales como características de ultrasonido solas o en combinación con marcadores inflamatorios y características del paciente, para comprender mejor la etiología e historia natural de DCB y ayudar a informar las estrategias para la prevención de DCB.

Mediante una colaboración entre la Pontificia Universidad Católica de Chile (PUC) y el National Cancer Institute (NCI), hemos completado con éxito un estudio piloto en Chile que ha proporcionado datos de referencia para el presente estudio propuesto. Nuestro estudio piloto demostró una alta tasa de reclutamiento de la población objetivo (80%) y altas tasas de cuestionarios completados (100%), sangre recolectada (78% de controles poblacionales) y retención de participantes (93% de los elegibles completaron una visita de seguimiento). La información obtenida durante la fase piloto fue utilizada para optimizar los procedimientos que se usarán en este estudio longitudinal. Además, en el estudio piloto encontramos que tanto los cálculos biliares como el cáncer de vesícula biliar estaban asociados con alteraciones inmunes sistémicas que, como hemos demostrado

Universidad de la Frontera
Contraloría Universitaria
Toma de Razón
Fecha 04 SET. 2018
Firma

GUSTAVO BECERRA AREVALO
CONTRALOR SUBROGANTE
UNIVERSIDAD DE LA FRONTERA

anteriormente, reflejan cambios inflamatorios en la vesícula biliar detectables en la bilis. El siguiente paso es demostrar que estos marcadores preceden a DCB, midiendo longitudinalmente sus niveles en pacientes con colelitiasis.

Proponemos evaluar prospectivamente factores de riesgo y marcadores de detección temprana para DCB mediante la realización del Estudio Longitudinal de Enfermedades Biliares en Chile (Chile BiLS), un estudio de cohorte de 6.250 individuos con colelitiasis de una población de alto riesgo en la zona centro-sur de Chile. Debido a que en las mujeres la probabilidad de tener colelitiasis y de desarrollar cáncer de vesícula biliar es el doble de la de los hombres, nuestra intención es maximizar la eficiencia del tamizaje y el número de eventos de interés, tamizando y enrolando solo mujeres. Ya que en Chile se está conformando una cohorte poblacional en la ciudad de Molina (cohorte MAUCO), que se ubica en el área de alto riesgo, nos beneficiaremos de la infraestructura que ya está en marcha y podremos comparar a las mujeres de nuestro estudio con un conjunto de hombres con colelitiasis de la cohorte de Molina. Pretendemos reclutar a mujeres con colelitiasis durante un periodo de enrolamiento de 2 años y luego seguir esta cohorte durante 6 años, realizando visitas año por medio para recopilar datos sobre las principales exposiciones de interés, marcadores inflamatorios y características de ultrasonido, así como exposiciones adicionales de interés, como infecciones, genética y factores ambientales (ej. aflatoxinas, pesticidas). La cohorte se complementará con un estudio de caso-control incidente de 300 mujeres con cáncer de vesícula y 600 controles con y sin colelitiasis obtenidos de los participantes de la cohorte.

I. ANTECEDENTES y JUSTIFICACIÓN

El cáncer de vesícula biliar es el cáncer más común del tracto biliar[1,2]y uno de los pocos cánceres que es más frecuente en mujeres que en hombres.[3]La mayoría de los pacientes son diagnosticados en una etapa avanzada y tienen un pronóstico muy poco favorable. La sobrevida media global es de 6 meses, y la sobrevida a 5 años es 5% para todas las etapas.[4]El cáncer de vesícula biliar se asemeja a otros cánceres, como el gástrico, esofágico y oral, en que más de 90% de los casos se desarrolla a través de la secuencia continua displasia-cáncer.[5]Por lo tanto, interesa identificar factores de riesgo y medidas preventivas para ambos, la displasia y el cáncer de vesícula biliar (DCB).

La inflamación es un componente clave en la etiología del cáncer de vesícula biliar. El principal factor de riesgo para el cáncer de vesícula biliar, la colelitiasis, conduce a inflamación y fibrosis de la vesícula biliar, probablemente debido a la irritación crónica de la mucosa de la vesícula biliar o la obstrucción del conducto cístico.[6]Estos cambios inflamatorios que ocurren en la vesícula biliar pueden ser detectados sistémicamente; en nuestro estudio piloto, observamos que los pacientes colelitiásicos tenían niveles alterados de marcadores inmunes circulantes en comparación con los controles poblacionales. Además, en un estudio de cáncer del tracto biliar en Shanghái se encontró que muchos marcadores inmunes estaban fuertemente asociados con el cáncer de vesícula biliar versus colelitiasis, basados en mediciones en suero y bilis: comparando el grupo con el nivel más alto versus el grupo con nivel más bajo, 19 marcadores (29%) se asociaron significativamente con el cáncer de vesícula biliar, en suero y bilis. Estos resultados sugieren que las mediciones en suero reflejan los procesos inflamatorios locales de la vesícula biliar. Además, otros factores de riesgo como diabetes, obesidad e infecciones,[7-11]están relacionados con inflamación. Enfermedades autoinmunes[12,13] y polimorfismos en genes relacionados con inmunidad/inflamación también han sido asociados a DCB.[14-16]Dada la fuerte relación con inflamación, entender la etiología de DCB puede arrojar nuevos conocimientos sobre cómo la inflamación contribuye al desarrollo de cáncer.

Los cálculos biliares están presentes en la gran mayoría de los casos de cáncer de vesícula

GUSTAVO BECERRA AREVALO
CONTRALOR SUBROGANTE
UNIVERSIDAD DE LA FRONTERA

Universidad de la Frontera
Contraloría Universitaria
Toma de Razón
Fecha 04 SET 2018
Firma

biliar. En el estudio de cáncer del tracto biliar en Shanghái, 84% de los casos de cáncer de vesícula biliar tenía colelitiasis y en el estudio piloto realizado en Temuco, casi 90% de los casos de cáncer de vesícula biliar tenía colelitiasis; dado el potencial de clasificación errónea (ej., los cálculos biliares pueden pasar inadvertidos si están inmersos en la pared vesicular, o pueden haberse perdido durante la cirugía),[17]es probable que la verdadera proporción se acerque a 100%. Tamaño, volumen/peso y número de cálculos biliares están asociados directamente con riesgo elevado de cáncer de vesícula biliar, y los cálculos biliares se forman años antes del cáncer.[18]Sin embargo, se ha estimado que sólo una pequeña proporción de pacientes con colelitiasis desarrolla cáncer de vesícula biliar.[19]Así, la colelitiasis parece reflejar un paso necesario, o casi necesario, en el desarrollo de cáncer de vesícula biliar, pero, por sí solo, ese paso no es suficiente. Una interrogante esencial es, por lo tanto, qué impulsa la progresión a DCB entre los pacientes colelitiásicos.

Aunque la inflamación está implicada en el desarrollo de DCB, los mecanismos precisos que enlazan la inflamación y la carcinogénesis de la vesícula biliar no están claros. Algunos estudios han evaluado marcadores inmunes y pronóstico,[20,21] pero pocos han evaluado el rol de marcadores relacionados con inmunidad en el desarrollo de cáncer de vesícula biliar. Esos estudios fueron pequeños y evaluaron pocos marcadores. Ningún estudio ha evaluado si las asociaciones entre el cáncer de vesícula biliar y otros factores de riesgo, como obesidad, pueden ser mediadas por inflamación. Procesos como la fibrosis pueden llevar a cambios en la vesícula biliar que pueden ser detectados con ultrasonido, al igual que cambios en el número, tamaño y volumen de los cálculos biliares, los que también pueden estar asociados a riesgo, dado que mediciones únicas de estos factores han sido previamente asociadas con riesgo de cáncer de vesícula biliar.[18]

La genómica, las infecciones y las exposiciones ocupacionales/ambientales son también de interés. El antecedente familiar de cáncer de vesícula biliar ha sido asociado a un mayor riesgo de cáncer de vesícula biliar,[22,23]y el riesgo es máximo en las poblaciones amerindias,[3]lo que hace que los estudios de mezcla genética sean particularmente importantes en Chile. Aunque se han realizado muchos estudios de genes candidatos,[14-16,24] existe solo un GWAS de 41 pacientes japoneses con cáncer de vesícula biliar y 866 controles.[25]Los estudios de perfil tumoral son escasos; pocos estudios han evaluado la expresión del genoma.[18,26-30] Agentes infecciosos, tales como *Salmonellatyphi* (*S. typhi*) y *Helicobacter sp.*, también pueden contribuir a la patogénesis del cáncer de vesícula biliar. *S.typhi* es difícil de evaluar ya que el saneamiento moderno redujo la tasa de infección en la mayor parte del mundo, pero *S.typhi* fue endémica en Chile hasta hace poco, proporcionando una oportunidad única para poner a prueba esta hipótesis. La primera evidencia de infección por *Helicobacter* en la vesícula biliar proviene de tejido vesicular resecado y bilis de pacientes con colecistitis crónica en Chile.[31]*H. bilis* y *H. pylori* han sido encontrados en fluidos biliares y tejido biliar de pacientes con colelitiasis y cáncer de vesícula biliar,[32]pero es difícil evaluar asociaciones debido a la falta de una prueba sensible y específica para *Helicobacter sp.*, particularmente en presencia de *Helicobacter pylori*.[11,33]Nuevos ensayos para la detección de *Helicobacter sp.* están actualmente en desarrollo, resaltando la importancia de recolectar muestras ahora que puedan ser usadas para probar esta importante hipótesis en el futuro. Exposiciones ocupacionales y ambientales tales como plaguicidas y aflatoxina también pueden ser relevantes. Estudios previos han identificado asociaciones entre el cáncer de vesícula biliar y alimentos específicos que han demostrado estar contaminados con aflatoxina en Chile,[34,35]y nuestros datos del estudio piloto sugieren que la exposición a aflatoxina está asociada con cáncer de vesícula biliar (OR: 7,2; IC 95%: 2,6-20,1). Dada la naturaleza altamente agrícola de la zona de alto riesgo en Chile, particularmente el cultivo de frutas y verduras, un estudio realizado en esta zona ofrecería un gran potencial para investigar asociaciones entre cáncer y fungicidas, siendo que estudios anteriores de pesticidas han estado limitados por bajas tasas de exposición.

Universidad de la Frontera
Contraloría Universitaria
Toma de Razón
Fecha 04 SET. 2018
Firma
CLAUDIO BECERRA AREVALO
CONTRALOR SUBROGANTE
UNIVERSIDAD DE LA FRONTERA

Además, el gobierno chileno recientemente financió un estudio de cohorte de 10.000 personas en Molina, región del Maule, la cual está en el área con riesgo particularmente alto para cáncer de vesícula biliar. A todos los residentes inscritos de Molina, de edad igual o mayor a 38 años , se les aplicará un cuestionario, se les realizará un tamizaje para colelitiasis mediante ultrasonido, se les tomarán muestras biológicas y se les seguirá durante 5 a 10 años para detectar enfermedades crónicas, incluyendo cáncer de vesícula biliar. La Cohorte de Maule (MAUCO) ofrece la oportunidad de aprovechar los recursos ya existentes en nuestro país.

Los estudios de cáncer de vesícula biliar son típicamente transversales, dado lo infrecuente que es el cáncer de vesícula biliar en la mayor parte del mundo, lo que no permite la inferencia causal. Para establecer cómo la inflamación conduce a DCB, o si otros factores están asociados prospectivamente, es necesario seguir a las personas en el tiempo. Ya que los cálculos biliares reflejan un paso esencialmente necesario en el desarrollo de DCB, al menos en un país de alto riesgo como Chile, el diseño más razonable para un estudio de DCB como modelo de carcinogénesis relacionada a inflamación es una cohorte de individuos con colelitiasis. Hasta ahora no se ha desarrollado un estudio de esas características.

Ante este vacío, proponemos llevar a cabo un estudio longitudinal de mujeres con colelitiasis detectada con ultrasonido en Chile (Chile BiLS). En primer lugar, Chile es una localización ideal, porque la incidencia y mortalidad de cáncer de vesícula biliar se encuentran entre las más altas reportadas en el mundo.[42]El cáncer de vesícula biliar es una de las principales causas de muerte por cáncer en las mujeres chilenas y la prevalencia de colelitiasis y obesidad/síndrome metabólico es alta en la población general.[43]Chile también ofrece la oportunidad de estudiar exposiciones genéticas, infecciosas y ambientales únicas. En segundo lugar, las mujeres tienen el doble de probabilidad que los hombres de desarrollar colelitiasis.[36-41]

El tratamiento para la colelitiasis sintomática y el cáncer de vesícula biliar es la colecistectomía (extirpación quirúrgica de la vesícula biliar). Este tratamiento no se recomienda para pacientes colelitiásicos asintomáticos.[44] Esto se basa en datos de países occidentales con bajas tasas de incidencia de cáncer de vesícula biliar, pero no hay grandes estudios sobre la historia natural de la colelitiasis en áreas de alta incidencia, como Chile.[45]Además, puede ser difícil distinguir entre pacientes sintomáticos y asintomáticos, ya que los síntomas asociados con colelitiasis pueden ser no específicos,[25]aunque la mayoría coincide en que el síntoma cardinal es el cólico biliar (dolor abdominal constante en el cuadrante superior derecho de más de 30 minutos de duración, que puede irradiar hacia la espalda y/o estar asociado a náuseas).[46]Cerca del 80% de la población chilena está cubierta por el sistema de salud público, que prioriza a los individuos menores de 50 años de edad para colecistectomía. Sin embargo, hay un gran número absoluto de personas elegibles para colecistectomía y actualmente no hay una forma de identificar a aquellos en mayor riesgo de cáncer para ayudar a estratificar el riesgo, lo que constituye una necesidad en el país. La capacidad de estratificar el riesgo podría tener implicancias de salud pública importantes para pacientes con colelitiasis en Chile.

En este estudio proponemos determinar cómo patrones inmunes/inflamatorios y/o características de ultrasonido identificados años antes del cáncer se asocian a riesgo de DCB. Evaluar la transición desde colelitiasis a DCB es un paso clave para entender el patrón de inflamación que caracteriza a los pacientes colelitiásicos en riesgo de DCB y si técnicas de imagen no invasivas pueden ayudar a identificar este incremento en el riesgo. Planeamos reclutar a 6.250 mujeres con colelitiasis y hacerles seguimiento cada año por medio durante 6 años, con muestras de sangre, ultrasonido y cuestionarios. En términos generales, aquellas mujeres que experimenten cólicos biliares serán derivadas a cirugía y

Universidad de la Frontera
Contraloría Universitaria
Toma de Razón
Fecha 04 SET. 2015
Firma
GUSTAVO BECERRA AREVALO
CONTRALOR SUBROGANTE
UNIVERSIDAD DE LA FRONTERA

censuradas en el momento de la colecistectomía. En el momento de la cirugía, se evaluará la presencia de DCB. También recolectaremos tejido, bilis y cálculos biliares en un subconjunto de la muestra. El estudio MAUCO no sólo contribuirá a la cohorte propuesta de mujeres con colelitiasis, sino que también la complementará mediante la identificación de hombres con colelitiasis (sin costo adicional para el presente estudio), lo que podrá ser importante para futuras comparaciones. Nuestras principales exposiciones de interés son los patrones, niveles y cambios en marcadores inflamatorios y características del ultrasonido, siendo DCB el principal evento de interés.

Justificación científica

DCB es un excelente modelo para estudiar el rol de la inflamación en la carcinogénesis, dada la naturaleza altamente inflamatoria de sus factores de riesgo asociados, en particular, la colelitiasis. La mayoría de las personas con cálculos biliares no sabe que los tiene y no requieren colecistectomía. Mediante el seguimiento de pacientes colelitiásicos hasta que lleguen a cirugía, podemos evaluar los cambios en los niveles de marcadores inflamatorios circulantes a lo largo del tiempo y qué patrones de marcadores se asocian con la secuencia continua de la patología vesicular (colecistitis crónica, metaplasia pseudopilórica, metaplasia intestinal incompleta, DCB). Las tasas muy elevadas de cáncer de vesícula biliar y colelitiasis en Chile ofrecen una oportunidad única para estudiar varias hipótesis emergentes que son difíciles de examinar en otras poblaciones, como son las asociaciones con *Salmonella typhi* o*Helicobacter sp.*, así como nuevos factores de riesgo, tales como pesticidas y aflatoxina.

Justificación traslacional

Si bien la colecistectomía se emplea solamente para tratar la colelitiasis sintomática en la mayor parte del mundo, en Chile, individuos jóvenes tienen prioridad para la colecistectomía como una manera de prevenir DCB. Sin embargo, la colecistectomía puede tener efectos adversos a largo plazo, como un aumento de riesgo de otros cánceres del aparato digestivo, incluyendo el hepático, gástrico y otros cánceres del tracto biliar.[57,58]Dado que el cáncer de vesícula biliar se desarrolla solamente en una pequeña proporción de pacientes con colelitiasis,[19]la estratificación de riesgo basada en biomarcadores fácilmente obtenibles, como marcadores de inflamación o características de ultrasonido, podría evitar cirugías innecesarias en algunas personas y al mismo tiempo dar prioridad a aquellas en mayor riesgo. Además, la verificación como factor de riesgo de aflatoxinas u otros contaminantes ambientales podría llevar a nuevas oportunidades para la prevención del cáncer.

II. RESULTADOS PRELIMINARES

Ya hemos completado un estudio piloto, cuyos objetivos fueron: 1) demostrar altas tasas de reclutamiento, recolección de muestras y seguimiento, 2) obtener estimaciones de riesgos relativos, prevalencia de factores de riesgo y prevalencia de eventos de interés para facilitar el diseño del estudio de cohorte, y 3) afinar procedimientos del estudio y establecer las colaboraciones necesarias. Como se describe a continuación, hemos alcanzado con éxito estos objetivos:

1. *Demostrar altas tasas de reclutamiento, recolección de muestras y seguimiento*:

Como se describe en la tabla a continuación, observamos excelentes tasas de respuesta de los controles poblacionales invitados. Se obtuvieron datos de cuestionario y muestras de sangre de todos los reclutados. También demostramos que podemos obtener muestras de tejido de individuos sometidos a colecistectomía y realizar mapeo completo de las vesículas de estos pacientes. Pudimos obtener especímenes quirúrgicos adicionales más difíciles de recolectar de un subconjunto de los pacientes de colecistectomía. Nuestro análisis

Universidad de la Frontera
Contraloría Universitaria
Toma de Razón
Fecha 04 SET. 2018
Firma

GUSTAVO BECERRA AREVALO
CONTRALOR SUBROGANTE
UNIVERSIDAD DE LA FRONTERA

preliminar incluye 52 casos de cáncer de vesícula biliar, 162 pacientes que fueron colecistectomizados y 192 controles poblacionales. Entre los controles poblacionales elegibles, seguimos al 93%, lo que podría mejorar al continuar los esfuerzos.

Componente de estudio	Tasa de respuesta
Controles poblacionales	
Participación de sujetos elegibles [a]	79%
Cuestionario llenado [a]	100%
Recolección de sangre [a]	100%
Ultrasonido completado [a]	93%
Visita de seguimiento a los 4-12 meses de pacientes con colelitiasis [b]	93%
Pacientes de colecistectomía	
Participación de sujetos elegibles [a]	80%
Cuestionario llenado[a]	100%
Recolección de muestras biológicas [a]	
Sangre	100%
Bloques fijados en parafina (FFPE)	100%
Cálculos biliares	58%
Tejido congelado fresco	43%
Bilis	34%

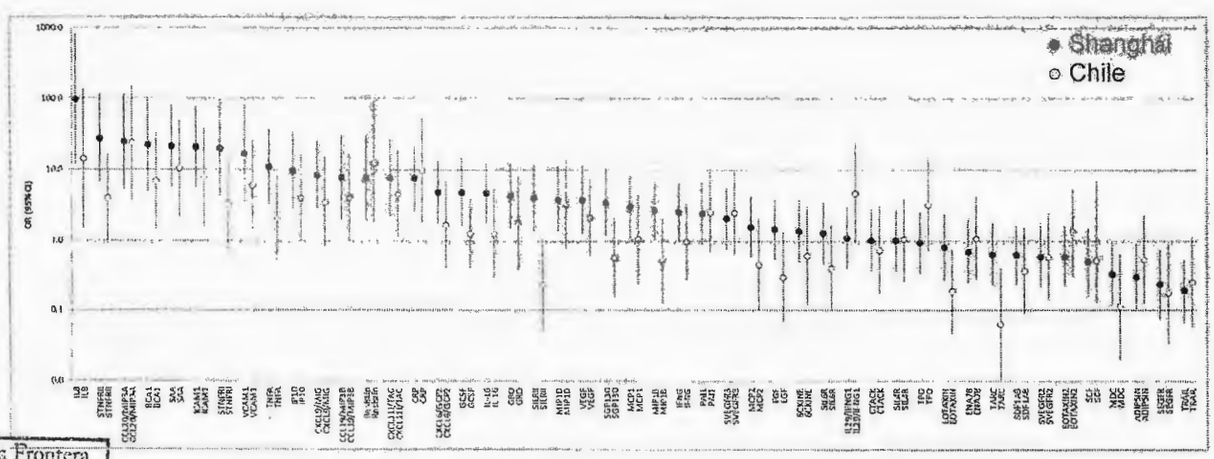
[a] Basado en reclutamiento hasta junio de 2014. Obtendremos sangre de todos los participantes y bloques FFPE de los que van a cirugía. Estamos creando un sistema de comprobación rápida para recolectar las muestras quirúrgicas más difíciles de obtener (tejido fresco congelado, bilis y cálculos biliares) de cirugías en Temuco, de donde esperamos obtener dos tercios de nuestros sujetos. [b] Datos hasta de junio de 2014.

2. *Obtener estimaciones de riesgos relativos, prevalencia de factores de riesgo y prevalencia de eventos de interés para facilitar el diseño del estudio de cohorte*

A. Exposiciones primarias

Para **obtener estimaciones de riesgos relativos** para los marcadores inflamatorios, probamos marcadores inflamatorios en muestras de suero del estudio piloto. Los niveles de marcadores y el patrón de ORs para cáncer de vesícula en comparación con colelitiasis fueron similares a lo que se observó en el estudio de cáncer del tracto biliar en Shanghái (Figura 1), confirmando la calidad de las muestras recolectadas en el piloto.

Figura 1. ORs e IC 95% para 47 marcadores inmunes con valores detectables ≥25% (categoría mayor versus categoría menor) y cáncer de vesícula biliar versus colelitiasis en los estudios de Shanghái y Chile.



Universidad de la Frontera
Contraloría Universitaria
Toma de Razón
04 SET. 2018
Fecha
Firma
GUSTAVO BECERRA AREVALO
CONTRALOR SUBROGANTE
UNIVERSIDAD DE LA FRONTERA

También exploramos asociaciones entre marcadores inflamatorios y colelitiasis en el estudio piloto. Algunos marcadores (ej., CRP, IL-8) parecían estar asociados independientemente tanto a colelitiasis en comparación con controles poblacionales, como a cáncer de vesícula biliar en comparación con colelitiasis, lo que sugiere que los cálculos biliares se asocian a cambios inflamatorios sistémicamente observables. Dado que los cálculos biliares ocurren años antes del cáncer de vesícula biliar, es poco probable que las asociaciones con cáncer de vesícula biliar en la Figura 1 se deban enteramente a la presencia de cáncer. Chile BiLS nos permitirá examinar esta hipótesis.

B. Exposiciones secundarias

Genómica

ADN de línea germinal:

Con el estudio piloto demostramos la capacidad de recolectar muestras de alta calidad para estudios genómicos. El Cancer Genomics Research Laboratory del NCI (CGR) extrajo con éxito suficiente ADN de línea germinal del 99% de los sujetos probados el cual resultó concordante en género y perfil en 98% (Tabla Suplementaria 1).

Muestras frescas congeladas:

Se extrajo ADN y ARN de 18 muestras en el Laboratorio de Sternberg, del instituto Caltech en Estados Unidos. El ADN fue preparado y evaluado exitosamente, obteniéndose ADN bicatenario intacto de 89% de ellas (Tabla Suplementaria 1). La calidad del RNA fue mejor en tejidos conservados en el medio RNAlater. (Tabla Suplementaria 1), indicando un retraso en el tiempo hasta la congelación instantánea. Basándose en estos hallazgos, revisamos y corregimos el protocolo para agilizar el proceso y reducir el tiempo previo a la congelación del tejido.

Infecciones

Estamos colaborando con Myron Levine de la Universidad de Maryland, Baltimore, para evaluar la exposición crónica a *S. typhi* mediante la medición de seropositividad al antígeno de *Salmonella typhi*VI. En el estudio piloto, encontramos una seroprevalencia mayor a 20% de este antígeno. Además, estamos trabajando con el Dr. Jacques Ravel de la Universidad de Maryland y el Dr. Paul Brindley de la Universidad George Washington en el desarrollo de métodos para evaluar el microbioma de la bilis.

Exposiciones ambientales/ocupacionales

Dada la potencial contaminación por aflatoxinas en Chile,[34,35]colaboramos con John Groopman de la Universidad Johns Hopkins para examinar muestras de plasma del estudio piloto para la detección de aductos aflatoxina-albúmina, que son indicadores de exposición crónica a la aflatoxina.[59]La prevalencia de aductos aflatoxina-albúmina fue 37%. El OR para positividad a aflatoxina fue de 7,2 (IC 95%: 2,6-20,1) para el cáncer de vesícula biliar en comparación con controles poblacionales.

C. Eventos de interés y diseño del estudio

Coordinamos la revisión histopatológica en consenso entre los patólogos en Temuco, Santiago y los Estados Unidos. Entre los pacientes de colecistectomía con mapeo completo de la vesícula biliar (N = 67), 8% presentaba DCB, 9% tenía atipia reactiva/posible displasia (precursores potenciales que no cumplen con la definición estricta de displasia pero se cree representa mayor riesgo), 14 (21%) tenía metaplasia intestinal incompleta, 24 (36%) tenían metaplasia pseudopilórica y 17 (25%) tenían colecistitis o histología normal. Los patólogos estudiaron los casos de displasia con especial cuidado para lograr un consenso. Basado en estos datos, se estimó la razón displasia/cáncer en 1:1.

Universidad de la Frontera
Contraloría Universitaria
Toma de Razón
Fecha 04 SET. 2018
Firma

GUSTAVO BECERRA AREVALO
CONTRALOR SUBROGANTE
UNIVERSIDAD DE LA FRONTERA

Característica/evento	Estimación
Histología de precursores (n=67 pacientes)	
Normal/colecistitis	25%
Metaplasia pseudopilórica	36%
Metaplasia intestinal incompleta	21%
Atipia reactiva/posible displasia	9%
Displasia y cáncer de vesícula biliar (DCB)	8%

En el estudio piloto, tomando en cuenta a quienes no pudimos ubicar, los no elegibles y los que se negaron, enrolamos a 71% de la población objetivo para el tamizaje con ultrasonido, con una tasa de reclutamiento de 80% entre los elegibles. Basado en los datos de colecistectomía y las tasas de incidencia de cáncer en esta región de alto riesgo, estimamos que para identificar aproximadamente 275 casos de DCB, necesitamos seguir por 6 años a 6.250 mujeres con colelitiasis de entre 50 y 74 años de edad. En nuestro estudio piloto los casos de colelitiasis se identificaron mediante ultrasonido en el 27% de los controles poblacionales. Bajo el supuesto de que 25% tendrá colelitiasis, necesitamos hacer tamizaje a 25.000 mujeres para identificar una cohorte de 6.250 con cálculos biliares (ver figura del diseño del estudio más abajo).

3. Afinar procedimientos del estudio y desarrollar colaboraciones necesarias:

Durante el transcurso del estudio piloto, pusimos a prueba todos los procedimientos del estudio. Realizamos con éxito el tamizaje de individuos sanos de la comunidad para identificar a una cohorte de mujeres con colelitiasis. Identificamos las áreas problemáticas y actualmente estamos en el proceso de modificar apropiadamente los formularios del estudio, las bases de datos y los protocolos de recolección y procesamiento de muestras. Hemos recibido con éxito bioespecímenes de la visita inicial de todos los pacientes reclutados en el estudio hasta el 21 de octubre de 2013 y hemos demostrado la calidad de las muestras, como se describió anteriormente. El estudio propuesto está bien posicionado, ya que hemos establecido equipos de trabajo de personal de campo y del hospital en Temuco. Hemos establecido colaboraciones entre patólogos en Santiago, Temuco y los Estados Unidos e iniciado colaboraciones con investigadores de laboratorio, por ejemplo, Myron Levine para *S. typhi* y John Groopman para aflatoxina. También nos estamos beneficiando de los métodos probados y comprobados que la Dra. Catterina Ferreccio está utilizando actualmente para estudios epidemiológicos en Chile; por ejemplo, los mismos métodos de reclutamiento basados en censo están siendo usados en Antofagasta para un proyecto de IARC-NCI para evaluar *Helicobacter pylori* y cáncer gástrico (ENIGMA 1). Además, ya hay un equipo establecido en Molina para el estudio MAUCO, de lo cual nos beneficiaremos.

III. OBJETIVOS

Nuestro objetivo principal es identificar factores epidemiológicos y marcadores moleculares de DCB mediante la realización de un estudio de cohorte prospectivo en mujeres con colelitiasis en Chile, donde las tasas de cáncer de vesícula biliar son altas y existen en el contexto único de ascendencia amerindia, historial de exposición crónica a *Salmonella typhi* y otras exposiciones ambientales (ej., aflatoxina, fungicidas). Dada la alta prevalencia de obesidad, diabetes y síndrome metabólico, Chile es también una población ideal en la cual evaluar el papel de estos factores en la etiología del cáncer de vesícula biliar y si sus efectos son mediados por vías inflamatorias. Por último, el estudio de características de ultrasonido como predictores potenciales de DCB puede ayudar a identificar una manera eficaz y no invasiva de monitorear a pacientes de riesgo de DCB en pacientes con colelitiasis.

Universidad de la Frontera
Contraloría Universitaria
Toma de Razón
Fecha 04 SET. 2018
Firma
GUSTAVO BECERRA ARAVENA
CONTRALOR SUBROGANTE
UNIVERSIDAD DE LA FRONTERA

Planeamos reclutar a 6.250 mujeres con colelitiasis detectada mediante ultrasonido durante un período de 2 años y seguir a estas mujeres cada año por medio durante 6 años con ultrasonido, muestra de sangre, cuestionario y mediciones antropométricas. Basado en datos publicados de Chile,[60]anticipamos que aproximadamente 50% de estas mujeres irá a colecistectomía en el transcurso del estudio y en ellas realizaremos mapeo completo de la vesícula biliar para identificar displasia y etapas más tempranas en la progresión histológica de la patología. El evento de interés principal del estudio de cohorte Chile BiLS es DCB.

Junto con el estudio principal, llevaremos a cabo un estudio de caso-control incidente para explorar nuevos marcadores de interés a través de la secuencia continua de normalidad, colelitiasis y cáncer, antes de evaluarlos en el estudio longitudinal. La mayoría de los sujetos del componente caso-control (todos los controles y algunos casos de cáncer de vesícula biliar) será suministrada por la cohorte; por lo tanto, el esfuerzo de reclutamiento adicional será marginal. En el transcurso del período de reclutamiento de la cohorte de 2 años, reclutaremos 300 casos de cáncer de vesícula biliar del área de captación y los compararemos con 600 controles poblacionales de la cohorte con tamizaje negativo y 600 individuos de la cohorte con tamizaje positivo.

Objetivos específicos

Primarios: Investigar predictores epidemiológicos y moleculares de DCB.

Secundarios:Examinar si las asociaciones entre índice de masa corporal, diabetes y síndrome metabólico son mediadas por vías inflamatorias.

Las principales exposiciones de interés incluyen marcadores inmunes, características de ultrasonido y obesidad/síndrome metabólico. Las exposiciones de interés secundarias incluyengenómica, infecciones (ej., *Salmonellatyphi, Helicobacter sp.*) y exposiciones ambientales/ocupacionales (ej., aflatoxina, fungicidas).

IV. MÉTODOS

A. Diseño del estudio

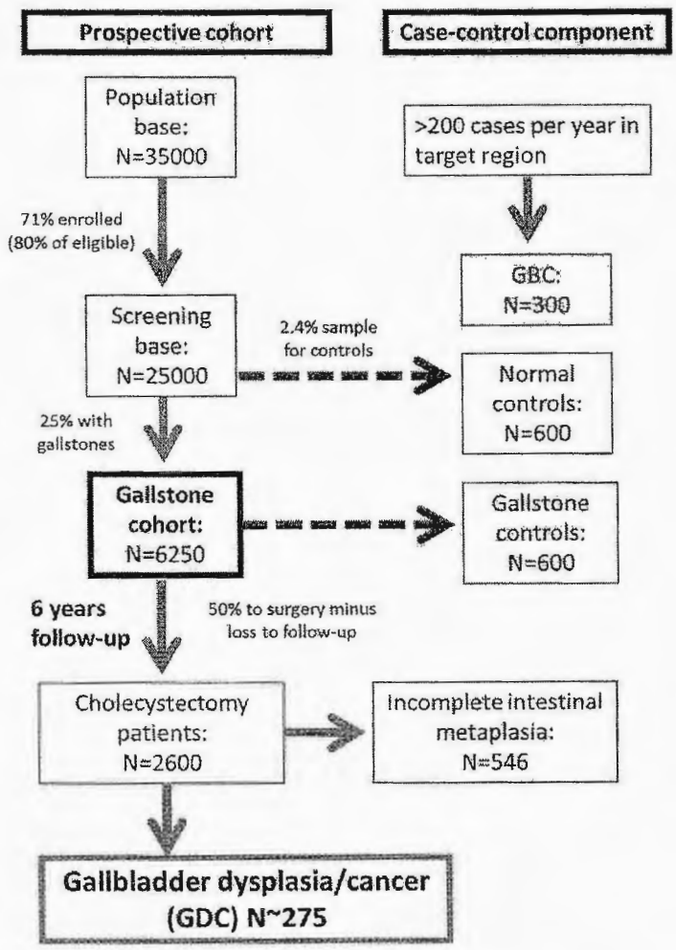
Proponemos reclutar a 6.250 mujeres de 50 a 74 de edad que tengan colelitiasis, que residan en la Región de la Araucanía (Temuco y alrededores) o la Región del Maule (Molina y alrededores) y que estén inscritas en el sistema público de salud. Ya que la prevalencia de colelitiasis es mayor en mujeres que en hombres, pondremos nuestro foco en mujeres, para una mayor eficiencia, y en edades ≥50 años debido a que la prevalencia de colelitiasis y el subsecuente riesgo de DCB son mayores a esta edad y porque no han sido priorizadas para cirugía en el sistema de salud.

El reclutamiento será realizado durante 2 años. En la zona de Molina realizaremos un censo del área de reclutamiento y citaremos a los inscritos para una ecografía en el consultorio u otro lugar apto para la realización del examen; este es el sistema actualmente utilizado en la cohorte MAUCO. En la zona de Temuco, utilizaremos los listados de mujeres inscritas en los centros de salud del área objetivo; este fue el sistema utilizado en el estudio piloto. A todas las mujeres con colelitiasis se les aplicará un cuestionario, se le tomará una muestra de sangre y mediciones antropométricas y se les realizará una ecografía por especialista.

Universidad de la Frontera
Contraloría Universitaria
Toma de Razón
04 SET. 2018
Fecha
Firma

GUSTAVO BECERRA AREVALO
CONTRALOR SUBROGANTE
UNIVERSIDAD DE LA FRONTERA

Estos procedimientos se realizarán al inicio y cada año por medio durante los 6 años siguientes. En los años que no se hará visita (años 1, 3 y 5), nos pondremos en contacto con las participantes del estudio vía teléfono, correo o visita personal (según sea necesario) para garantizar la mínima pérdida de seguimiento entre visitas del estudio. Las personas con cólico biliar serán derivadas a cirugía.



Basado en los resultados del estudio piloto, estimamos que necesitaremos una base poblacional de 35.000 mujeres para reclutar a 25.000 para el tamizaje con ultrasonido e inscribir a 6.250 con colelitiasis. Anticipamos que aproximadamente la mitad de las mujeres con colelitiasis irá a colecistectomía en el transcurso del estudio. Tomando en cuenta la pérdida de seguimiento, nuestros resultados preliminares indican que 275 mujeres tendrán DCB y 546 adicionales tendrán metaplasia intestinal incompleta, una lesión preneoplásica asociada a riesgo de cáncer gástrico[61]que puede también ser relevante para la carcinogénesis vesicular. Sin embargo, bajo un enfoque conservador, el poder del estudio solo considera el evento de DCB.

Para el componente de casos y controles, se reclutarán 300 casos de cáncer de vesícula biliar de la zona objetivo. Además, una muestra aleatoria de 2,4% de las mujeres con ultrasonido normal (N = 600) será reclutada como controles poblacionales, y un subconjunto de 600 mujeres con colelitiasis será incluido para comparación.

B. Localización del estudio

El tamizaje para detectar cálculos biliares se hará mediante ecografía en dos localidades de alto riesgo en Chile, la ciudad de Temuco y alrededores (Región de la Araucanía) y la ciudad

Universidad de la Frontera
Contraloría Universitaria
Toma de Razón
Fecha 04 SET 2018
Firma
GUSTAVO BECERRA AREVALO
CONTRALOR SUBROGANTE
UNIVERSIDAD DE LA FRONTERA

de Molina (Región del Maule). Temuco es la ciudad en que realizamos el estudio piloto para evaluar la factibilidad y facilitar el diseño del estudio. Molina es donde se está haciendo un estudio de cáncer y enfermedades cardiovasculares en una cohorte de población general (MAUCO).

C. Identificación de Sujetos y Reclutamiento

Utilizaremos dos sistemas para la identificación de sujetos, los que han sido probados con éxito en las dos localizaciones en que se realizará el estudio. En Temuco y sus alrededores, la identificación de sujetos será a través de los listados de mujeres inscritas en los centros de salud del área, a partir de los cuales se generarán listas aleatorias estratificadas, las que serán entregadas al personal de terreno; el contacto se realizará a través de llamado telefónico y visita domiciliaria. En Molina, la identificación de sujetos se iniciará con un censo del barrio objetivo para determinar el número de casas en cada cuadra (confirmando que cada dirección es una casa, no un establecimiento comercial), si una mujer vive en la casa, y su edad; usando este método, enumeraremos las cuadras en las áreas de estudio y, para cada cuadra, el número total de hogares.

Si las mujeres elegibles están ausentes, el entrevistador visitará nuevamente la casa hasta cinco veces, a diferentes horas y días, antes de eliminar a la candidata. En ese primer contacto, se entregará información del estudio y cartas de invitación con la información relacionada con el estudio y números de teléfono de contacto para consultas.

Las mujeres son elegibles si tienen entre 50 y 74 años de edad, no se les ha extraído la vesícula biliar y son beneficiarias del sistema público de salud. El sistema público cubre a la mayoría (80%) de la población de esta región. Las mujeres que han tenido una colecistectomía o tienen discapacidades mentales no son elegibles.

D. Definición de casos y Determinación/Confirmación de Enfermedad

Como se describió anteriormente, los casos incluyen a mujeres con displasia o cáncer de vesícula biliar recientemente diagnosticado (DCB). Para aquellas participantes que van a cirugía, evaluaremos la vesícula biliar para determinar la presencia de lesiones preneoplásicas y cáncer. Realizaremos mapeo completo de las vesículas de estas pacientes para revisión histopatológica y confirmación diagnóstica. Todas las diapositivas serán revisadas por al menos tres patólogos: el patólogo en Talca o Temuco, el patólogo del estudio en Chile (JC Roa) y el patólogo del estudio en Estados Unidos (V Adsay).

Para identificar a las mujeres que serán sometidas a cirugía, les pediremos a las participantes del estudio que se pongan en contacto con nosotros cuando su cirugía sea programada y que le informen a su médico que son parte del estudio. También emplearemos un sistema de determinación rápido para identificar a las participantes del estudio programados para cirugía. Dado el alto nivel de colaboración que hemos establecido con los patólogos y cirujanos en Temuco, anticipamos una alta tasa de éxito en la obtención de especímenes quirúrgicos.

Además de identificar a sujetos serán sometidos a cirugía, nuestro sistema de determinación rápida también podrá captar a cualquier participante que desarrolle cáncer pero que no es derivada a cirugía. Utilizaremos el mismo sistema para identificar los 300 casos de cáncer de vesícula biliar del componente transversal de casos-controles del estudio.

E. Recolección y Almacenamiento de Datos y Muestras Biológicas

Universidad de la Frontera
Contraloría Universitaria
Toma de Razón
Fecha 04 SET. 2018
Firma
GUSTAVO BECERRA AREVALO
CONTRALOR SUBROGANTE
UNIVERSIDAD DE LA FRONTERA

A las mujeres que acepten realizarse el tamizaje, se les programará una cita en el consultorio u otro lugar especialmente adaptado para ello, donde se les hará una ecografía abdominal para determinar si tienen cálculos biliares. A quienes tengan cálculos biliares, se les extraerá una muestra de sangre, se les aplicará un cuestionario, se les hará una inspección visual de la cavidad oral y se les tomará medidas antropométricas; luego se coordinará una hora a la que deberán asistir con al menos 4 horas de ayuno, para una ecografía más detallada con el fin de caracterizar los rasgos de la vesícula biliar. En el subgrupo de mujeres con exámenes de ultrasonido normales seleccionados al azar como controles poblacionales se realizarán los mismos procedimientos que para las personas con colelitiasis que han sido descritos anteriormente.

Utilizaremos los instrumentos de estudio que fueron probados y revisados en nuestro estudio piloto. Brevemente, los sujetos de estudio contestarán un cuestionario sobre características demográficas, consumo de tabaco, historial médico, antecedentes familiares, uso de medicamentos, historia reproductiva y exposiciones ocupacionales. En las visitas de seguimiento cada dos añosse recopilará información sobre cambios recientes en el uso de tabaco y medicamentos mediante un cuestionario breve. Además, obtendremos al inicio, en las visitas de seguimiento y antes de la cirugía, una historia detallada de síntomas, incluyendo dolor pasado y actual; localización, hora y duración del dolor; y otros síntomas como ictericia.

	Basal	Visitas cada 2 años
Cuestionario completo	X	
Cuestionario breve		X
Ultrasonido	X	X
Mediciones antropométricas	X	X
2,5 ml de sangre (sangre completa PaxGene)	X	
30 ml de sangre (plasma, capa leucocitaria, glóbulos rojos, suero, coágulo sanguíneo)	X	X

Para la captura de datos, en la zona de Temuco utilizaremos un sistema de recogida de datos electrónicos autorizados por la PUC; en Molina se usará el sistema de recolección de datos en papel, con todos los formularios doble-ingresados, que actualmente se está utilizando en la cohorte MAUCO. Actualmente estamos desarrollando un sistema de administración de estudio con Westat, una corporación americana que realiza consultorías para investigación, basado en el estudio THANCS (Estudio de Cáncer de Cabeza y Cuello de Taiwán). El contar con estos sistemas permitirá el seguimiento en tiempo real de las tasas de respuesta, recolección de datos y muestras, almacenamiento y envío de muestras, y las evaluaciones de la calidad de los especímenes de manera que cualquier inconsistencia o problema pueda ser resuelto en tiempo real.

Para los participantes que van a cirugía, registraremos en el formulario de historia clínica la fecha de la cirugía, los síntomas que llevaron a la cirugía y los tratamientos pre-cirugía (medicamentos, etc.); también tomaremos una muestra de sangre pre-operatoria. Basado en datos publicados de Chile,[60]se estima que un 50% de las participantes tendrá una colecistectomía en el transcurso del estudio (N = 2.600 tomando en cuenta pérdidas durante el seguimiento). A estas mujeres les haremos un mapeo completo de la vesícula biliar y recolectaremos bloques de parafina y láminas de tejido. El tejido fresco congelado es más difícil de obtener y no es un requisito para el cumplimiento de los objetivos principales de este estudio; sin embargo, es un valor añadido, ya que facilita las evaluaciones moleculares. Por lo tanto, nos centraremos en la recolección de tejido congelado, bilis y cálculos biliares en el Hospital de Temuco, donde se estima que se harán 2/3 de las cirugías (N ~ 1.700). Basándose en los resultados del estudio piloto, esperamos

Universidad de la Frontera
Contraloría Universitaria
Toma de Razón
Fecha 04 SET 2018
Firma

GUSTAVO BECERRA AREVALO
CONTRALOR SUBROGANTE
UNIVERSIDAD DE LA FRONTERA

recoger estas muestras del 43% de las cirugías en Temuco (N = 731, 12% de la cohorte entera, 28% de quienes van a cirugía).

Todos los bioespecímenes serán procesados y alicuotados siguiendo los protocolos del NCI establecidos en el estudio piloto y almacenados a -70 °C en el consultorio u hospital antes del envío al biorepositorio (BSI-compatible) en Santiago. El encargado del biorepositorio ha recibido formación en Costa Rica por colegas involucrados en el estudio de vacuna VPH de Costa Rica, en el que colaboró el NCI y en el Wedgewood Biorepository en Estados Unidos, asociado al NCI.

Todas las muestras serán separadas para los análisis que se realizarán en Chile y para aquellos que se enviarán a EE.UU. por no poder realizarse en la PUC. Cuando haya un número suficiente de muestras para realizar un envío a la Wedgewood Biorepository, las muestras serán enviadas por World Courier (en hielo seco si son muestras congeladas).

F. Evaluación de exposición/Ensayos biológicos

Los análisis primarios se centrarán en marcadores inmunes circulantes, características de ultrasonido (ej., aspecto y espesor de la pared de la vesícula biliar, volumen, número y tamaño de los cálculos) y la mediación de la obesidad (basada en mediciones antropométricas) y otros factores de riesgo a través de las vías inflamatorias. Estudiaremos los niveles y patrones de inflamación que longitudinalmente predicen progresión a DCB en las mujeres con colelitiasis, utilizando una plataforma Luminex para medir marcadores sistémicos relacionados con inflamación. Si bien evaluaremos todos los marcadores en la plataforma de Luminex, los marcadores de interés *a priori* incluyen aquellos asociados a colelitiasis y a cáncer de vesícula biliar en el estudio piloto transversal y/o que demostraron asociaciones longitudinales con cáncer en otros estudios (ver tabla a continuación).[62,63] Vamos a hacer seguimiento en los hallazgos de inflamación sistémica examinando fuentes locales de esta inflamación en el tejido y la bilis. Los análisis secundarios investigarán el papel de genómica, infecciones (p. ej., seropositividad a *Salmonellatyphi*antígeno VI), y exposiciones ocupacionales/ambientales (p. ej., aductos aflatoxina-albúmina sérica).

Métodos	Objetivos	Material
Luminex	CRP, IL-8, MDC, SAA, sEGFR, sTNFII	Primario: suero Secundario: bilis
Secuenciación	Microbioma	Bilis
Inmunotinción	Mutaciones TP53 relacionados con aflatoxina	Tejido FFPE
Espectrometría de masas	Aductos aflatoxina-albúmina	Plasma
Secuenciación completa del genoma/exoma, expresión génica y metilación del genoma	Vía ErbB 64	Tejido fresco congelado
Espectrofotometría de masas	Metales pesados	Cálculos biliares

G. Administración de Datos y Control de Calidad

Un experto en informática de la PUC estará a cargo de la informática y se contratará a otra persona para el ingreso de datos. Se desarrollarán controles tanto de rangos como de lógica. Los controles de rango servirán para asegurar que datos específicos tengan códigos aceptables. Los controles de lógica garantizarán que exista coherencia entre elementos

Universidad de la Frontera
Contraloría Universitaria
Toma de Razón
Fecha 04 SET. 2018
Firma

GUSTAVO BECERRA AREVALO
CONTRALOR SUBROGANTE
UNIVERSIDAD DE LA FRONTERA

relacionados. Los controles de calidad de los datos se realizarán en línea y se revisarán las inconsistencias. Los bioespecímenes serán administrados usando el Sistema BioSpecimen Inventory (BSI).

Cada fase del estudio tendrá procedimientos de control de calidad. Los encargados del estudio del NCI y de la PUC se comunicarán semanalmente; además, durante el transcurso del estudio, los investigadores del NCI harán visitas a Chile. Lo que facilitará la comunicación entre las instituciones. Los procedimientos de control de calidad incluyen, pero no se limitan a, los siguientes:

1. Mantener un registro por escrito de todas las decisiones que afectan al diseño, conducta o análisis del estudio;
2. Entrenamiento de enfermeras para la obtención de datos médicos, procedimientos de entrevista y recolección de muestras biológicas de manera estandarizada, con una sesión de práctica en terreno de una semana de duración antes del inicio del estudio;
3. Validación de las instrucciones de la entrevista para garantizar que los entrevistadores pueden entenderlas fácilmente;
4. Monitoreo de los entrevistadores (por el supervisor de terreno);
5. Desarrollo de un manual de codificación, verificación de cuestionarios codificados y evaluación del ingreso de datos informáticos;
6. Solicitar a los trabajadores de terreno que registren e informen a los supervisores sobre cualquier problema que tenga en terreno;
7. Actualización de manuales detallados para la recolección, procesamiento, almacenamiento y envío de muestras biológicas.

H. Análisis Estadístico

El estudio propuesto incluye un componente de casos y controles y un componente prospectivo. En el componente de casos y controles, compararemos factores epidemiológicos y marcadores moleculares en la secuencia control-colelitiasis-cáncer. En el componente prospectivo del estudio, evaluaremos marcadores moleculares y epidemiológicos que predicen DCB entre sujetos con colelitiasis, utilizando enfoques de cohorte completa o de cohortes anidadas.Al utilizar un diseño de casos y controles anidado, los controles serán restringidos a las mujeres que se sometieron a colecistectomía, ya que los casos de DCB vendrán en gran parte de ese grupo.

Se prevé que los análisis prospectivos incluirán a aproximadamente 275 casos de DCB. Utilizaremos análisis de supervivencia para datos censurados por intervalo para evaluar riesgo de DCB y predictores epidemiológicos/moleculares. Los marcadores relacionados con inflamación serán evaluados individualmente como: 1) detectable vs. no detectable (por debajo del límite inferior de detección (LLOD)), 2) nivel de marcador inmune continuo, 3) nivel de marcador inmune categórico. Todos los marcadores objetivo (CRP, IL-8, MDC, SAA, sEGFR, sTNFII) fueron detectados en ≥75% de las muestras de sangre del estudio piloto, por lo que las categorías serán definidas según cuartiles de los valores por encima del LLOD, incluyendo a los sujetos con valores no detectables en el cuartil más bajo. También examinaremos las características de ultrasonido (espesor de la pared de la vesícula biliar, número y tamaño de los cálculos, volumen) independientemente.

En un análisis secundario, examinaremos la asociación de DCB con cambios en el tiempo en los niveles de marcadores relacionados con inflamación y en las características de ultrasonido. Además, después de evaluar los marcadores inmunes individualmente, exploraremos patrones de asociaciones mediante análisis factorial para evaluar las asociaciones con grupos (factores) de marcadores correlacionados. El análisis factorial se

Universidad de la Frontera
Contraloría Universitaria
Toma de Razón
Fecha 04 SET. 2018
Firma

GUSTAVO BECERRA AREVALO
CONTRALOR SUBROGANTE
UNIVERSIDAD DE LA FRONTERA

realizará para todos los marcadores con al menos 50% de las mediciones por encima del límite inferior de detección y utilizando niveles continuos log-transformados de marcadores.

Examinaremos el grado en que las asociaciones entre marcadores inmunes y cáncer de vesícula biliar (o marcadores inmunes y colelitiasis) pueden ser captadas por características más fácilmente medibles, como la diabetes y la obesidad, mediante el ajuste por estos factores en el modelo. Las asociaciones que queden después de ajustar por condiciones conocidas relacionadas a inflamación reflejan la medida en que la medición de marcadores inmunes captura más información que estos factores conocidos. Para entender cuánto del efecto de condiciones como obesidad o diabetes sobre el riesgo de cáncer de vesícula biliar es explicado por la respuesta inflamatoria/inmune, según lo medido por estos marcadores relacionados con inmunidad, versus otros mecanismos, utilizaremos modelos de supervivencia aditivos para descomponer el efecto total de síndrome metabólico/obesidad en efectos directos e indirectos.[65]

Además del componente prospectivo, planeamos incluir un componente transversal de caso-control con 600 controles normales, 600 mujeres con colelitiasis y 300 casos de cáncer de vesícula biliar. Utilizaremos regresión logística para analizar los factores epidemiológicos y marcadores moleculares a través de la secuencia normalidad-colelitiasis-cáncer. Con el componente de casos y controles seremos capaces de evaluar factores de riesgo nuevos e hipótesis sin resolver. Por ejemplo, podemos anticipar que ensayos serológicos confiables para *Helicobacter sp.* estarán disponibles dentro de 2 a 5 años, lo que permitiéndonos probar la hipótesis de *Helicobacter* en el estudio de caso y control para luego proceder al componente prospectivo si se justifica. Los análisis en los casos y controles se realizarán utilizando modelos de regresión logística politómica con colelitiasis y cáncer de vesícula biliar como los eventos de interés.

Adicionalmente, pretendemos realizar análisis de sensibilidad:

1. Limitados a cáncer.
2. Limitados a resultados detectados más de 3 años después de la medición basal.
3. Limitado a personas que van a cirugía (para análisis de la cohorte entera).
4. Ajustando por prevalencia basal de enfermedad utilizando una escala móvil que considere las posibles diferencias en severidad de la displasia.

Los análisis 1, 2 y 4 nos permitirán evaluar el impacto de DCB que está presente basalmente, mientras que el análisis 3 responderá a preguntas sobre asociaciones con resultados potencialmente impulsados por síntomas que conducen a cirugía.

V. PODER ESTADÍSTICO

Proporcionamos estimaciones de poder estadístico para los principales objetivos de nuestro estudio: marcadores relacionados con inflamación y características de ultrasonido relacionados con el desarrollo de DCB. Estas estimaciones se basan en 275 casos de DCB provenientes de 31.710 años-persona de seguimiento (6.250 mujeres seguidas durante 6 años con una pérdida de 10% durante el primer año y 2,5% posteriormente) (Tablas del apéndice).

1. Para factores epidemiológicos basados en cuartiles, tendremos al menos 80% de potencia (error tipo I = 5%) para detectar una razón de tasas instantáneas (Hazard Ratio o HR) de 1,6 y 90% de potencia para detectar un HR de 1,7. Después de

Universidad de la Frontera
Contraloría Universitaria
Toma de Razón
04 SET. 2018
Fecha

GUSTAVO BECERRA AREVALO
CONTRALOR SUBROGANTE
UNIVERSIDAD DE LA FRONTERA

corrección de Bonferroni para 70 comparaciones (error tipo I=0,05/70=00007), tendremos por lo menos 80% de potencia para detectar un HR de 2,0 y 90% de potencia para detectar un HR de 2,2. No aplicaremos corrección de Bonferroni para marcadores *a priori*.

2. Para factores epidemiológicos binarios con prevalencias en mujeres sin DCB desde 5% hasta 50%, tendremos al menos 80% de potencia (error tipo I = 5%) para detectar un HR de 1,9 y 90% de potencia para detectar un HR de 2,1.

Después de combinar datos de Shanghái y de Chile, 21 marcadores relacionados con inflamación pasan la corrección de Bonferroni comparando la categoría más alta de marcador inmunológico con la más baja y muchos de estos marcadores tuvieron ORs > 5,0. Por lo tanto, creemos que el estudio tiene suficiente potencia para nuestro objetivo principal.

VI. Personal del Estudio

Hemos reunido a un equipo multidisciplinario de expertos para este estudio, formado por epidemiólogos, bioestadísticos, patólogos, cirujanos, oncólogos, virólogos, microbiólogos y genetistas. El equipo de Chile es dirigido por la Dra. Catterina Ferreccio de la PUC, quien posee amplia experiencia en epidemiología del cáncer y ha realizado numerosos estudios de campo de gran envergadura en Chile. La Dra. Ferreccio colabora ampliamente con investigadores de Estados Unidos y Europa y ha realizado numerosos estudios epidemiológicos multi-céntricos. La Dra. Ferreccio tiene amplia experiencia en infecciones por *S typhi*, habiendo llevado a cabo un extenso programa de investigación en colaboración con la Universidad de Maryland y el Ministerio de Salud de Chile por 10 años. Los doctores Andrea Huidobro y Sergio Muñoz, expertos epidemiólogos, estarán a cargo del apoyo epidemiológico local en las dos localidades en que se realizará el estudio. Los doctores Héctor Losada, César Muñoz y Nicolás Jarufe, cirujanos expertos en cirugía hepato-biliar, serán los encargados del componente quirúrgico. El Dr. Juan Carlos Roa es un patólogo experto en cáncer de vesícula biliar. Como co-investigador del equipo chileno, supervisará los aspectos moleculares y el componente de patología del estudio, en consulta con los doctores Juan Carlos Araya, Enrique Bellolio, Miguel Villaseca y Erik Morales, así como el Dr. Volkan Adsay de la Universidad de Emory en Estados Unidos, un experto de renombre mundial en lesiones preneoplásicas del tracto biliar. Los Drs. Marcelo Andia, Francisco Cruz y NoldyMardones proporcionarán experiencia en ultrasonografía. El Dr. Andia también facilitará el desarrollo de algoritmos computarizados para la lectura e interpretación de las imágenes de ultrasonido. La Dra. Vanessa Van De Wyngard será la coordinadora de este estudio. El equipo de Estados Unidos es dirigido por la Dra. Jill Koshiol del NCI. La Dra. Koshiol es la Investigadora Principal del Estudio de Cáncer del Tracto Biliar de Shanghái, el Proyecto de Agrupación de Cáncer del Tracto Biliar (BiTCaPP) y el estudio piloto de cáncer de vesícula biliar en Chile. La Dra. Koshiol ha desarrollado una cartera de investigación centrada en la respuesta inmune/inflamación en la carcinogénesis, particularmente en cánceres del tracto biliar. El Dr. Allan Hildesheim ayudará al diseño del estudio y proporcionará información sobre infección y epidemiología molecular. La Dra. Ligia Pinto llevará a cabo los ensayos de marcadores inmunes. La Dra. Ruth Pfeiffer servirá como la estadístico principal del estudio.

VII. Protección de Sujetos Humanos

Esta investigación respeta los principios éticos de investigación con seres humanos.

Todos los participantes entregarán consentimiento por escrito y serán informados de que no hay riesgos ni impactos adversos si se retiran del estudio. Los sujetos de estudio tienen

Universidad de la Frontera
Contraloría Universitaria
Toma de Razón
Fecha 04 SET. 2018
Firma
GUSTAVO BECERRA AREVALO
CONTRALOR SUBROGANTE
UNIVERSIDAD DE LA FRONTERA

derecho a retirarse en cualquier momento. Si así lo solicitan, se excluirán sus datos del estudio y se descartarán sus muestras biológicas.

Todos los datos de identificación personal serán separados de los datos del estudio y estarán conectados a través de un número de identificación asignado a cada sujeto potencialmente elegible. La información identificadora en forma impresa se mantendrá en gabinetes bajo llave, con acceso limitado al personal que trabaja directamente en este aspecto específico del estudio. Los datos computarizados sobre individuos serán evaluados solo por personal del estudio.

Las imágenes de las ecografías con alteraciones diferentes a cálculos biliares serán revisadas por un médico radiólogo del estudio, quien indicará su impresión diagnóstica; con este informe, se le indicará al participante que acuda a su centro de atención primaria para evaluación médica y derivación según corresponda. Los participantes que reciban un examen físico serán entregados un informe escrito de su presión arterial y medidas antropométricas; a los que tengan mediciones alteradas se les darán las recomendaciones correspondientes.

Si como resultado de este estudio se identifica un marcador genético de riesgo específico y se determina que el conocimiento de la presencia de este marcador puede ser médicamente relevante para los participantes o sus descendientes, estos serán informados personalmente y se les dará la oportunidad de realizarse el estudio genético correspondiente, así como una ecografía de la vesícula biliar en caso de presentar el marcador de riesgo.

APÉNDICE

Tabla 1: Estimaciones de poder estadístico para la comparación de factores epidemiológicos basados en cuartiles entre aquellos que desarrollan DCB (n = 275) y aquellos que no (n =5.975) en el transcurso de 31.710 años-persona (supone 10% de pérdidas durante el seguimiento en el año 1 y 2,5% cada año después).

Hazard ratio	Poder con α =	
	0.05	0.0007 (0.05/70)
1.5	0.70	0.18
1.6	0.82	0.30
1.7	0.90	0.44
1.8	0.95	0.57
1.9	0.98	0.70
2	0.99	0.80
2.1	1	0.87
2.2	1	0.92
2.3	1	0.95
2.4	1	0.97
2.5	1	0.99

Tabla 2: Estimaciones de poder estadístico para comparación de factores epidemiológicos dicotómicos entre aquellos que desarrollan DCB (n = 275) y aquellos que no (n = 5.975) con supuestos de prevalencias de 0,05 a 0,50 en los participantes sin DCB.. Alfa = 0,05.

Universidad de la Frontera
Contraloría Universitaria
Toma de Razón
04 SET 2018
Fecha
Firma

GUSTAVO BECERRA AREVALO
CONTRALOR SUBROGANTE
UNIVERSIDAD DE LA FRONTERA

Hazard ratio	Prevalencia en los participantes sin DCB									
	0.05	0.1	0.15	0.2	0.25	0.3	0.35	0.4	0.45	0.5
1.5	0.43	0.63	0.75	0.83	0.87	0.89	0.91	0.92	0.89	0.91
1.6	0,54	0.76	0.86	0,92	0.95	0.96	0.97	0.97	0.97	0.97
1.7	0,64	0.85	0.93	0.97	0.98	0.99	0.99	0.99	0.99	0.99
1.8	0.73	0.91	0.97	0.99	0.99	1	1	1	1	1
1.9	0.8	0.95	0.99	1	1	1	1	1	1	1
2.0	0.86	0.98	1	1	1	1	1	1	1	1
2.1	0.9	0.99	1	1	1	1	1	1	1	1
2.2	0.93	0.99	1	1	1	1	1	1	1	1
2.3	0.96	1	1	1	1	1	1	1	1	1
2.4	0.97	1	1	1	1	1	1	1	1	1
2.5	0.98	1	1	1	1	1	1	1	1	1

Tabla Suplementaria 1. Evaluación de la calidad del ADN y ARN de las muestras recolectadas en el estudio piloto.

Proceso evaluado	Tipo de material	N	Criterio de control	% cumple criterio
DNA staging	Capa leucocitaria/sangre completa/glóbulos rojos	192	ADN extraído	99%
			Género & perfiles concordante	98%
Extracción de ADN	Tejido congelado rápido	9	ADN bicatenario intacto	89%
Extracción de ADN	Tejido en RNAlater	9	ADN bicatenario intacto	89%
Extracción de ARN	Tejido congelado rápido	9	Puntuación RIN > 6	22%
Extracción de ARN	Tejido en RNAlater	9	Puntuación RIN > 6	89%

ANOTESE Y COMUNIQUESE

UNIVERSIDAD DE LA FRONTERA Secretaría General
PLINIO DURAN GARCIA
SECRETARIO GENERAL

UNIVERSIDAD DE LA FRONTERA RECTOR TEMUCO
EDUARDO HEBEL WEISS
RECTOR

- Dir. Depto. Anat. y Patología
- Div. de Seguimiento de Proyectos
- Div. Operaciones Financieras

UNIVERSIDAD DE LA FRONTERA
Contraloría Universitaria
TOMA DE RAZÓN INTERNA
Recepción Legalidad 04 SET. 2018
Recep. Contralor Interno 04 SET. 2018
Fecha T. Razón
Firma

GUSTAVO BECERRA AREVALO
CONTRALOR SUBROGANTE
UNIVERSIDAD DE LA FRONTERA