

ANEXOS

ANEXO 1:

**PROTOCOLO: ASOCIACIÓN DE INFECCIONES CONCURRENTES DE VPH Y OTROS
VIRUS DNA GENITALES CON LA PROMOCION DE CANCER DE CERVIX**

Clave del Paciente _____
Fecha: _____
Nombre: _____ No. _____ De
Expediente: _____ años
Edad: _____
Domicilio: _____
Teléfono: _____ Escolaridad _____
Ocupación _____

ANTECEDENTES HEREDO FAMILIARES

Antecedentes de Cáncer (SI) (NO) Quién _____ Tipo de
HCáncer _____
Quién _____ Tipo de Cáncer _____
Diabetes _____

Otras
enfermedades _____

ANTECEDENTES PERSONALES NO PATOLÓGICOS

Tabaquismo (NO) (SI) N° de años _____ N° de cigarrillos/día _____ Activo (SI) Inactivo
desde hace _____
Alcoholismo (NO) (SI) N° de años _____ Cantidad _____ Tipo de
bebida _____
Activo (SI) Inactivo desde hace _____

ANTECEDENTES GINECO-OBSTÉTRICOS

Menarquia _____ Regla _____ X _____ días Menopausia (año) _____
I.V.S. _____
C.S. _____
Gestas _____ Partos _____ Cesáreas _____ Abortos
_____ Ectópicos _____
M.P.F. (SI) (NO) Tipo y tiempo de uso: Condón _____ DIU _____
OTB _____

Hormonal Oral (nombre/tiempo) _____ Hormonal Parenteral
(nombre/tiempo) _____

(especifique) _____ Otros

ANTECEDENTES PERSONALES PATOLÓGICOS

Enfermedad	Año de Diagnóstico	Tratamiento	Evolución.	Como fue la respuesta
Diabetes	_____	_____	_____	_____
Hipertensión	_____	_____	_____	_____
Artritis Reumatoide	_____	_____	_____	_____
Obesidad	_____	_____	_____	_____
Otras	_____	_____	_____	_____

ENFERMEDADES TRANSMISIÓN SEXUAL

Papilomatosis vulvar o vaginal, condiloma acuminado o atípico, gonorrea, sífilis, chancro blando, tricomoniasis, clamidiasis, SIDA, Hepatitis B o C, vaginosis inespecífica, candidiasis. Otras.

Cervicitis Crónica : _____

NEOPLASIAS BENIGNAS

Resultado
Anatomopatológico _____

HISTORIA DE CITOLOGÍAS CERVICALES

Mencionar si existe infección por HPV u otro microorganismo. Se detectó HPV (SI) (NO)

Fecha _____
Resultado _____
Fecha _____ Resultado _____
Fecha _____ Resultado _____

Cáncer Cérvico-Uterino.

Fecha de Diagnóstico _____

Estadio Clínico _____

Diagnóstico de Biopsia _____

COMENTARIOS

ANEXO 2:

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN: DETERMINACIÓN DE POLIMORFISMOS EN FACTORES DE TRANSCRIPCIÓN CELULARES QUE AFECTAN LA EXPRESIÓN DE GENES DEL VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO.

INVESTIGADOR PRINCIPAL: Dra. Rocío Ortiz López, profesora, Dpto. de Bioquímica, Fac. de Medicina, UANL.

Co-INVESTIGADORE

- Dr. Hugo A. Barrera Saldaña, jefe Dpto. de Bioquímica, Fac. de Medicina, UANL.
- Dr. Augusto Rojas Martínez, profesor, Dpto. de Bioquímica, Fac. de Medicina, UANL.
- Dr. Oscar Vidal Gutiérrez, profesor, Serv. Ginecología, Hospital Universitario, UANL.
- Dra. Oralia Barboza Quintana, profesora, Serv. Patología, Hospital Universitario, UANL.
- Q.F.B Luis Miguel Canseco Avila, estudiante colaborador, Dpto. de Bioquímica, Fac. de Medicina, UANL.

Los investigadores del proyecto mencionado arriba me han solicitado participar de manera voluntaria en su estudio. Entiendo que la colaboración que solicitan es la donación de una pequeña muestra de biopsia del tumor de cuello uterino y /o 5 ml de sangre, el cual será utilizado para realizar estudios científicos que podrían generar conocimientos sobre el comportamiento del Cáncer Cervico Uterino y de cómo tratarlo. Entiendo que estoy en mi derecho de solicitar cualquier aclaración y obtener información sobre la investigación que solicite en cualquier momento del desarrollo de la misma. Además, entiendo que si no deseo participar en este estudio, esta decisión no me afectará en futuros tratamientos que requiera en el Hospital Universitario.

Los resultados de esta investigación podrán ser presentados en publicaciones especializadas o reuniones de carácter científicos. Entendiendo que la información de la investigación presentada será manejada en forma confidencial y que nunca violará mi privacidad, que todas las marcas de identificación de las muestras de tejido y/o de sangre tomadas serán borradas por el investigador o su asistente al momento de ser colectadas y que en ningún momento se violará mi privacidad.

Además, el Hospital Universitario de la U.A.N.L., estará en la disposición de brindarme tratamiento médico o quirúrgico sin costo, en caso de que resultara dañada directamente por cualquiera de los procedimientos del proyecto de investigación, y en caso de daño permanente, tendré derecho a ser indemnizado de acuerdo al daño sufrido.

Nombre del Paciente: _____

Firma: _____

Dirección: _____

Teléfono: _____

Testigo: _____

Firma: _____

Dirección: _____

Teléfono: _____

Investigador/Co-investigador: _____

Firma: _____

Dirección: _____

Teléfono: _____

A _____ de _____ del _____, Monterrey, N.L.

ANEXO 3:

REACCIÓN DE SECUENCIACIÓN INICIADORES IRDye™ 800

PROTOCOLO:

1.- Preparar la mezcla de secuenciación para todas las muestras a secuenciar.

REACTIVO	PARA 1 REACCIÓN (Volumen en μl)
H ₂ O	μl
Buffer Concentrado	2.0 μl
dNTP's 2.5 mM	1.0 μl
¹ Iniciador 5' (5 μM) o ² Iniciador 3' (5 μM)	1.5 μl
³ Thermo Sequenase DNA Polymera	0.5 μl
⁴ Volumen total	μl

Mezclar bien y dar un spin.

^{1 y 2} Se debe pipetar en oscuridad: apagar la luz de la campana, porque el colorante fluorescente es fotosensible y termoestable.

A partir de este paso recuerda que siempre debes mantener los tubos en hielo y tapados

³ Sacarla de -20°C en hielo, hasta que se necesite y guardarla inmediatamente.

pipetear con puntillas blancas

⁴ Depende de la mezcla de reacción.

2. Para cada muestra a ser secuenciada, preparar la siguiente mezcla de reacción.

REACTIVO	REACCIÓN
DNA	μl
H ₂ O	μl
Mezcla de secuenciación	μl
Volumen total	27.0 μl

Mezclar bien y dar un spin.

3.- Para cada DNA a secuenciar etiquetar 4 tubos (de 0.2 ml) marcados con las letras G,A,T y C (con su numeración respectiva).

4.- En cada uno pipetear 1.2 µl de las soluciones G, A, T y C .

5.- Agregar 6.2 µl de la mezcla de reacción a cada tubo respectivamente.

Para que se pueda completar el volumen, se debe pipetear la mezcla de reaccion en la superficie. Depositar hasta el fondo, mezclar y cambiar de puntilla entre cada pipeteada.

6.- .Llevar los tubos al termociclador para iniciar el programa que consta de 30 ciclos cada uno de los cuales incluye los siguientes pasos:

EL TERMOCICLADOR DEBE TENER TAPA OSCURA.

ETAPA	Temperatura °C	Tiempo
1.- Desnaturalización inicial	94	5 min
2.- Desnaturalización	94	30 seg
3.- *Apareamiento	69	30 seg
4.- Extensión	72	45 seg
5.- Ir al paso 2, 30 ciclos		
6.- Extensión prolongada	72	10 min

* Depende de la temperatura de apareamiento del iniciador.

7.- Una vez finalizada la PCR, retirar los tubos del termociclador.

8.- Agregar 3.0 µl de solución stop. Mezclar y dar un spin.

9.- Antes de depositar al gel desnaturalizar las muestra por 10 min. a 95°C.

NOTA: siempre mantener los tubos tapados.

ANEXO 4:

PRECIPITACION CON VIVID VIOLET

PROTOCOLO:

- 1.- En un tubo de 0.2ml, agregar lo siguiente (en el orden indicado): 1.0 μ l de Acetato de Sodio 3M, 7.4 μ l de la reacción de secuenciación, 1.0 μ l de Vivid Violet y 20 μ l de etanol al 100%.
- 2.- Mezclar brevemente. Incubar 30 min a temperatura ambiente, mezclar nuevamente
- 3.- Centrifugar a 14,000 rpm por 30 min.
- 4.- Descartar el sobrenadante, utilizando una pipeta automática.
- 5.- Adicionar 100 μ l de etanol al 70%, mezclar brevemente.
- 6.- Centrifugar a 14,000 rpm por 30 min.
- 7.- Descartar el sobrenadante utilizando una pipeta automática.
- 8.- Secar al aire, ó utilizar el secador de vacío por 7 min.
- 9.- Resuspender con 3.0 μ l de solución STOP de LI-COR IR².
- 10.- Desnaturalizar a 95°C, por 10min. pasar inmediatamente en hielo, y luego depositar al gel. 1.0 a 1.5 μ l.

NOTAS

- 1) LAS MUESTRAS ESTÁN MARCADAS CON UN COLORANTE FLUORESCENTE, SE DEBEN TRABAJAR EN LA MAYOR OSCURIDAD POSIBLE, PARA QUE LOS PRODUCTOS NO SE DEGRADEN.
- 2) RECUERDA QUE ES UNA PRECIPITACIÓN SELECTIVA Y NO DEBES PASAR LOS TIEMPOS INDICADOS, PORQUE EMPIEZAN A PRECIPITAR TODOS LOS ANÁLOGOS NO INCORPORADOS



