



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE CHIAPAS



FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

CAMPUS IV TAPACHULA

**“POLIMORFISMOS GENÉTICOS DE TNF- α RS1800629, E IL-10 RS1800872, RS1800896,
ASOCIADOS AL DESARROLLO DE CÁNCER CERVICAL EN PACIENTES QUE ACUDEN
A UN HOSPITAL DE TERCER NIVEL”**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:
MAESTRA EN CIENCIAS EN BIOQUÍMICA CLÍNICA

PRESENTA:

ANGÉLICA ROMERO CABALLERO I141011

DIRECTOR DE TESIS:

DR. SERGIO DOMINGUEZ ARREVILLAGA

CODIRECTOR DE TESIS:

MCS. ROBERTO ALEJANDRO SANCHEZ GONZALEZ



OFICIO No. FCQ/D/0131/2023
Tapachula, Chis., a
23 de marzo del 2023

C. QFB. ANGÉLICA ROMERO CABALLERO
PASANTE DE LA MAESTRIA EN
CIENCIAS EN BIOQUIMICA CLINICA
P R E S E N T E.-

DE ACUERDO A LA RESPUESTA QUE EMITIERON LOS SINODALES QUE REVISARON EL PROYECTO DE TESIS PROFESIONAL TITULADO: **“Polimorfismos genéticos de TNF-a Rs1800629, E IL-10 RS 1800872, Rs180896, asociado al desarrollo de cáncer cervical en pacientes que acuden a un Hospital de tercer nivel”**. ME ES GRATO INFORMARLE QUE SE LE AUTORIZA LA IMPRESIÓN DE LA MISMA.

ASI COMO TAMBIEN, ME PERMITO INFORMAR A USTED QUE DE ACUERDO AL ARTÍCULO 346 DEL ESTATUTO INTEGRAL DE ESTA UNIVERSIDAD EL JURADO ASIGNADO PARA SU EXAMEN PROFESIONAL QUEDA INTEGRADO DE LA SIGUIENTE MANERA:

DR. SERGIO DOMINGUEZ ARREVILLAGA.	PRESIDENTE
DRA. LIMNY STHEPANIE MORENO BARILLAS.	SECRETARIA
M.C. ROBERTO ALEJANDRO SÁNCHEZ GONZÁLEZ.	VOCAL
DRA. CONSUELO CHANG RUEDA.	SUPLENTE
DRA. ILIANA CONCEPCION QUEZADA CRUZ.	SUPLENTE

ATENTAMENTE
“POR LA CONCIENCIA DE LA NECESIDAD DE SERVIR”


DR. LUIS MIGUEL GANSECO AVILA
DIRECTOR
Facultad de Ciencias Químicas,
Tapachula de la Selva,
y Cruz Verde, Chiapas.

c.c.p. Exp. alumno
LMCA/cmvm



Código: FO-113-05-05

Revisión: 0

CARTA DE AUTORIZACIÓN PARA LA PUBLICACIÓN ELECTRÓNICA DE LA TESIS DE TÍTULO Y/O GRADO.

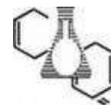
El (la) suscrito(a) ANGÉLICA ROMERO CABALLERO, Autor (a) de la tesis bajo el título de “POLIMORFISMOS GENÉTICOS DE TNF-a RS1800629, E IL-10 RS1800872, RS1800896, ASOCIADOS AL DESARROLLO DE CÁNCER CERVICAL EN PACIENTES QUE ACUDEN A UN HOSPITAL DE TERCEL NIVEL” presentada y aprobada en el año 2023 como requisito para obtener el título o grado de MAESTRA EN CIENCIAS EN BIOQUÍMICA CLÍNICA, autorizo licencia a la Dirección del Sistema de Bibliotecas Universidad Autónoma de Chiapas (SIBI-UNACH), para que realice la difusión de la creación intelectual mencionada, con fines académicos para su consulta, reproducción parcial y/o total, citando la fuente, que contribuya a la divulgación del conocimiento humanístico, científico, tecnológico y de innovación que se produce en la Universidad, mediante la visibilidad de su contenido de la siguiente manera:

- Consulta del trabajo de título o de grado a través de la Biblioteca Digital de Tesis (BIDITE) del Sistema de Bibliotecas de la Universidad Autónoma de Chiapas (SIBIUNACH) que incluye tesis de pregrado de todos los programas educativos de la Universidad, así como de los posgrados no registrados ni reconocidos en el Programa Nacional de Posgrados de Calidad del CONACYT.
- En el caso de tratarse de tesis de maestría y/o doctorado de programas educativos que sí se encuentren registrados y reconocidos en el Programa Nacional de Posgrados de Calidad (PNPC) del Consejo Nacional del Ciencia y Tecnología (CONACYT), podrán consultarse en el Repositorio Institucional de la Universidad Autónoma de Chiapas (RIUNACH).

Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, a 21 de Marzo de 2023.

ANGÉLICA ROMERO CABALLERO

Nombre y firma del Tesista o Tesistas



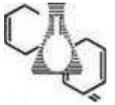
AGRADECIMIENTOS

Gracias a Dios, ya que de su mano todo es posible.

Gracias a las pacientes, por su valiente participación en este estudio, ya que a pesar del momento difícil que están pasando por su vida decidieron contribuir a la investigación.

Gracias al Hospital Regional de Alta Especialidad Ciudad Salud y a los comités de Ética en Investigación por autorizar la realización de esta investigación en sus instalaciones.

Gracias, Dr. Sergio Domínguez Arrevillaga, MCS. Roberto Sánchez González, Dra. Ma Guadalupe Trujillo Vizuet, por darme todas las facilidades dentro y fuera del laboratorio de Investigación del Hospital Regional de Alta Especialidad "Ciudad Salud", para la realización de este proyecto; así mismo a los pasantes de servicio social de la Licenciatura de Químico Fármaco Biólogo de la UNACH, por su apoyo.



DEDICATORIAS

A mis padres, Paty y Ricardo, que con su ejemplo han impulsado mi vida, proyectos y sueños.

A mi esposo, Agustín, que desde el momento que llego a mi vida, ha motivado mis sueños profesionales y personales, juntos lograremos muchos sueños más.

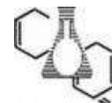
A mi hija, Ana Sofía, que me ha enseñado que la maternidad no es ningún impedimento para tus proyectos sino el impulso para lograrlos.

A mi hermano Ricky, que ha sido un motor en mi vida, gracias por apoyarme siempre.

A mi familia y amigos, a los que están hoy conmigo y a los que se adelantaron en el camino, gracias por darme su amor y cariño en todas sus formas.

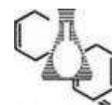
A todos, hoy soy lo que soy por ustedes. GRACIAS.

Angélica.

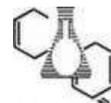


CONTENIDO

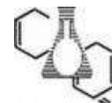
AGRADECIMIENTOS.....	IV
DEDICATORIAS.....	V
INDICE DE FIGURAS.....	IX
INDICE DE TABLAS.....	X
INDICE DE GRÁFICOS.....	XII
1.-INTRODUCCIÓN.....	13
CAPÍTULO II.....	14
2.- MARCO TEÓRICO.....	14
2.1.- Cáncer cervicouterino.....	15
2.2.- Epidemiología.....	15
2.3.- Virus del Papiloma Humano.....	16
2.4.- Ciclo biológico.....	18
2.5.- Patogenia del Cáncer Cervicouterino.....	19
2.6.- Respuesta inmune al VPH.....	24
2.7.- Pruebas de identificación del VPH.....	27
2.7.1.- Fundamento de la prueba.....	27
CAPÍTULO III.....	29
3.- ANTECEDENTES.....	29
CAPÍTULO IV.....	31
4.- HIPÓTESIS.....	31
CAPÍTULO V.....	32
5.- OBJETIVOS.....	32
5.1.- Objetivo general.....	32
5.2.- Objetivos específicos.....	32
CAPITULO VI.....	33



6.- METODOLOGIA	33
6.1.- Área de estudio.....	33
6.2.- Tipo y diseño de estudio.	33
6.3.- Población de estudio.	33
6.4.- Tamaño y tipo de muestreo.....	33
6.5.- Criterios de inclusión.....	33
6.6.- Criterios de exclusión.	33
6.7.- Criterios de eliminación.	34
6.8.- Materiales y reactivos.....	34
6.8.1.- Materiales.....	34
6.8.2.- Equipo.	35
6.8.3.- Material biológico.....	35
6.9.- Técnicas de laboratorio a usar.....	35
6.9.1.- Extracción de ADN.....	35
6.9.2.- Cuantificación de ADN.	37
6.9.3.- Verificación de la integridad del ADN por PCR tiempo real amplificación del GEN β-globina.	37
6.9.4.- Detección de la región viral L1 usando MY09/MY11 por PCR en tiempo real.	38
6.9.5.- Genotipificación del VPH.	40
6.9.6. -Genotipificación de RS1800629 TNF-α y de RS1800872, RS 1800896 IL-10.	42
6.10. -Variables de estudio y análisis estadísticos.	44
6.11.- Consideraciones éticas y de bioseguridad	45
 CAPÍTULO VII.....	 47
7.- RESULTADOS.....	47
 CAPITULO VIII.	 65
8.- DISCUSIÓN.	65
 CAPITULO IX.	 67

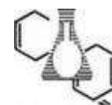


9.-CONCLUSIONES.....	67
CAPITULO X.....	68
10.- REFERENCIAS	68



INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Marcadores de identidad del cáncer.	14
Figura 2.- Organización del genoma del virus del papiloma humano.....	17
Figura 3 El ciclo viral en el epitelio estratificado.	18
Figura 4 Esquema representativo del establecimiento del cáncer cervical.....	22
Figura 5 Evolución de las lesiones intrapiteliales cervicales hacia cáncer y su relación con productos del VPH.	22
Figura 6 Ciclo infeccioso y mecanismos de evasión de la respuesta inmune innata durante la infección por VPH-AR.....	25
Figura 7 Modelo propuesto de carcinogénesis cervical inducida por VPH.	26
Figura 8 Respuesta inmune innata vs respuesta inmune adaptativa contra el VPH.	27
Figura 9 Distribución Alélica para polimorfismo RS1800872 IL-10.....	58
Figura 10 Distribución alélica para polimorfismo RS1800896 IL-10.....	61
Figura 11 Distribución alélica par polimorfismo RS1800629 TNF-a.....	64



INDICE DE TABLAS

Tabla 1.- Condiciones de reacción para la amplificación de un fragmento del gen β -globina por PCR en tiempo real	37
Tabla 2.- Condiciones del programa para la amplificación de un fragmento del gen β -globina. .	38
Tabla 3.- Oligonucleótidos utilizados para la amplificación de un fragmento del gen β -globina.	38
Tabla 4.- Condiciones de reacción para la amplificación de un fragmento del gen I1(MY09/MY11) por PCR en tiempo real.	39
Tabla 5.- Condiciones del programa para la amplificación del gen L1.....	39
Tabla 6.- Oligonucleótidos utilizados para la amplificación de un fragmento del gen L1 del VPH.	40
Tabla 7.- Condiciones de reacción para la genotipificación VPH BR.	40
Tabla 8.- Condiciones del programa para la amplificación de VPH 6 y VPH 11.....	41
Tabla 9.- Oligonucleótidos utilizados para la amplificación de vph 6 y vph 11.....	41
Tabla 10.- Condiciones de reacción para la genotipificación de VPH AR.	41
Tabla 11.- Genotipos de VPH de AR detectados por cada mezcla maestra.....	42
Tabla 12.- Volúmenes utilizados para la reacción de PCR.....	43
Tabla 13.- Etapas de la QPCR.	44
Tabla 14.- Características sociodemográficas de las participantes.....	48
Tabla 15.- Antecedentes patológicos de las participantes.	50
Tabla 16.- Antecedentes no patológicos de las participantes.....	51
Tabla 17.- Prevalencia de vph de bajo riesgo y alto riesgo en las participantes.....	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.
Tabla 18.- Frecuencia de neoplasia intraepitelial cervical (NIC) por grupo de edad.	53
Tabla 19.- Prevalencia de riesgo de infección de VPH y grado de lesión de las participantes.	55
Tabla 20.- Nivel de riesgo de infección de VPH, grado de lesión y promedio de edad de las participantes.	56
Tabla 21.- Frecuencia alélica del snp RS1800872.....	57

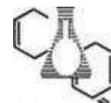
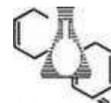
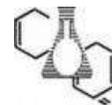


Tabla 22.- Frecuencia genotípica del snp RS1800872.	58
Tabla 23.- Asociación de respuesta del polimorfismo RS1800872 (n=100, análisis crudo.)	59
Tabla 24.- Frecuencia alélica del snp RS1800896.	60
Tabla 25.- Frecuencia genotípica del snp RS1800896.	61
Tabla 26.- Asociación de respuesta del polimorfismo RS1800896 (n=100, análisis crudo.)	62
Tabla 27.- Frecuencia alélica del snp RS1800629.	63
Tabla 28.- Frecuencia genotípica del snp RS1800629.	63



INDICE DE GRÁFICOS

Gráfica 1.- Edad de las participantes del servicio de ginecología del HRAECS.	47
Gráfica 2.- Localización de las participantes por regiones del estado de Chiapas.	49
Gráfica 3.- Frecuencia relativa de neoplasia intraepitelial cervical por tipo de VPH.	54



CAPÍTULO I

1.-INTRODUCCIÓN.

El cáncer cervical (CaCu) es un tumor maligno que inicia en el cuello de la matriz posee una etiología viral y es más frecuente en mujeres mayores de 30 años, muchos factores podrían aumentar el riesgo de infección por virus del papiloma humano (VPH), por ejemplo, el comportamiento sexual, el número de parejas sexuales masculinas recientes y de toda la vida, la coinfección con otras enfermedades de transmisión sexual e infección vaginal y el inicio temprano de la actividad sexual. La dieta, el tabaquismo, la genética y la inmunosupresión también están relacionados con la infección por VPH.¹⁻⁴ Además, ciertas oncoproteínas del VPH interactúan con la maquinaria celular y la respuesta inmune.⁵

La mayoría de las infecciones naturales por VPH se limitan a la capa intraepitelial de la mucosa y no se convierten en cáncer. Aproximadamente el 90% de los pacientes con infección por VPH presentan una depuración viral innata y humoral mediada por la respuesta inmune pocos meses después de la infección viral ^{6,7}. El 10% de los pacientes tiene una infección persistente y un mayor riesgo de cáncer en aproximadamente el 1% de todos los pacientes.⁷

La infección persistente por VPH es un evento esencial para el desarrollo del cáncer de cuello uterino. La competencia entre persistencia y eliminación es fundamental en la carcinogénesis del VPH.⁸

CAPÍTULO II.

2.- MARCO TEÓRICO.

El cáncer puede empezar casi en cualquier lugar del cuerpo humano, el cual está formado de trillones de células. Normalmente, las células humanas crecen y se dividen para formar nuevas células a medida que el cuerpo las necesita. Cuando las células normales envejecen o se dañan, mueren, y células nuevas las remplazan, caso contrario que las células dañadas no se mueran y no son remplazadas es cuando ocurre lo que se denomina cáncer, diversos factores se encuentran relacionadas en su desarrollo, denominado como marcadores de identidad del cáncer (figura 1).⁹

Las células normales dependen de la señalización del crecimiento de un ciclo celular estrictamente regulado para proliferar de forma controlada y mantener la homeostasis tisular; esto se interrumpe en caso de cáncer.^{10,11} Actualmente se aprecia que, en las células cancerosas, el crecimiento y las vías de señalización proliferativa albergan una o más alteraciones impulsoras dentro de sus compartimentos, lo que les da una ventaja de supervivencia.¹² Estos compartimentos incluyen ligandos de crecimiento, sus receptores o las moléculas de señalización citosólica.¹³

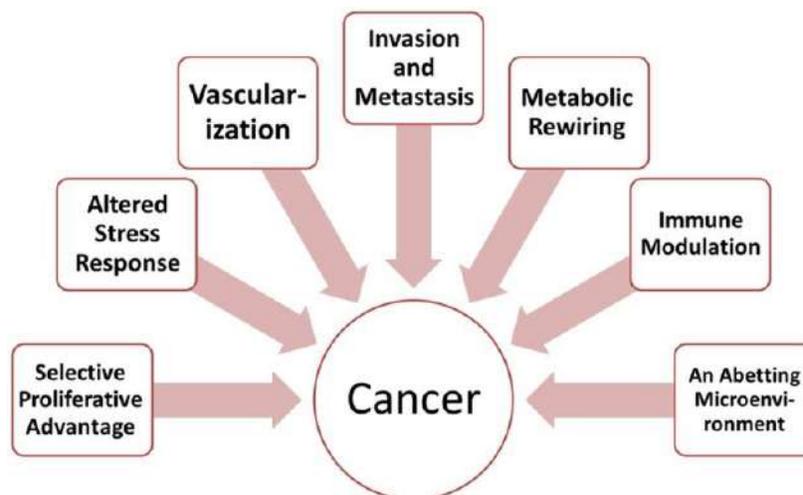
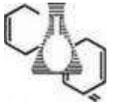


Figura 1. Marcadores de identidad del cáncer.



2.1.- Cáncer cervicouterino.

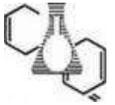
El cáncer cervicouterino (CaCu) ocupa el tercer lugar en tasas de incidencia a nivel mundial, con un estimado de 530,000 nuevos casos en 2008 (tasa de mortalidad global de 15 por 100,000 mujeres). Más del 85% de la carga global ocurre en países en desarrollo, donde representan 13% de los cánceres femeninos.¹⁵

2.2.- Epidemiología.

Las muertes por CaCu en la región de las Américas representan un gran número de años de vida potencial perdidos. Con base en los datos más recientes proporcionados a la OPS, entre 1996 y 2001, 74 855 mujeres de 13 países latinoamericanos murieron de CaCu. De ellas, 50,032 tenían entre 25 y 64 años, y su muerte prematura ocasionó más de 1.56 millones de años de vida potencial perdidos. Cuando se mide la carga de morbilidad en años de vida ajustados en función de la discapacidad (AVAD), es igual a la pérdida de un año de vida saludable. Cálculos recientes de la Organización Mundial de la Salud (OMS) sugieren que, en las Américas, el CaCu actualmente causa 471,000 AVAD, carga de morbilidad superior a otras neoplasias malignas en mujeres.¹⁶

En México desde 2006 el CaCu es la segunda causa de muerte por cáncer en la mujer, en primer lugar, se sitúa el cáncer de mama.¹⁷ Anualmente se estima una ocurrencia de 13.960 casos en mujeres, con una incidencia de 23.3 casos por 100.000 mujeres y causa la pérdida de 471 000 años de vida ajustados por discapacidad.

México, durante el periodo de 1976 al 2006, se presentó 102,544 muertes por CaCu. En la década de los años 80, el Programa Nacional de Prevención y Control de CaCu enfrentó enormes desafíos. Las tendencias nacionales indicaban un aumento de la mortalidad por CaCu en todas las edades, <15% de la población femenina elegible había tenido alguna vez una citología vaginal, y la cobertura fue baja en las zonas subdesarrolladas y pobres. También hubo una ausencia de control epidemiológico y de medidas de control de calidad para la toma y el diagnóstico de las muestras de citología cervical. A principios de la década de los años 90, una evaluación de la calidad de las citologías cervicales en México informó que >60% carecía de células endocervicales, moco y/o células de metaplasia. Además, algunos centros de tamizaje de citología cervical informaron >50% de resultados negativos falsos.¹⁸ Para el



periodo de 1989 al 2004, la tasa de mortalidad se redujo a 2,94, lo que equivale a aproximadamente tres muertes menos por cada 100,000 mujeres. Los factores asociados con la disminución en las tasas de mortalidad por CaCu fueron: aumento en la cobertura de Pap y una tasa inferior de natalidad. Así, por cada unidad de aumento en la cobertura del Pap, la mortalidad por CaCu disminuyó 0.069, y por cada unidad de disminución en la tasa de natalidad, la tasa de mortalidad por CaCu disminuyó 0.0548.

Las tasas de mortalidad reportadas para los años 2000 y 2006 fueron 19.2 y 14.6 por 100,000 mujeres de 25 años o más, respectivamente. Esto representa una disminución de 24.2% en el periodo. Para el año 2000, las mexicanas que vivían en zona rural tenían tres veces más riesgo de morir por CaCu, en comparación con las mujeres que vivían en la zona urbana; asimismo, las mujeres que vivían en el Centro y Sur de México tenían un riesgo relativo de 1.04 y 1.47 de morir por CaCu, respectivamente, en comparación con los que vivían en el Norte. No obstante, en 2006 no se observaron más diferencias en el riesgo de morir por CaCu en relación con las zonas de residencia (rural vs. urbana), pero sí por región del país. En 2007, se reportó una tasa de incidencia de 40.5 por cada 100,000 habitantes y una tasa de mortalidad de 14.3 por cada 100,000 habitantes. Los estados con fuerte presencia indígena son los que registran las tasas más altas de mortalidad por CaCu en México.¹⁹⁻²¹ Según el estudio "El peso de la enfermedad de las mujeres en México, 2005", los Años de Vida Saludable perdidos (AVISA) en ambos sexos por enfermedades no transmisibles (categoría donde se ubica el CaCu) fueron cinco, 278,491 (49%)²²

2.3.- Virus del Papiloma Humano.

Diversos estudios epidemiológicos y moleculares establecen la infección persistente con el VPH como causa necesaria para el desarrollo del CaCu.²³⁻²⁵ El VPH es un virus pequeño de aproximadamente 55 nm, no envuelto que pertenece a la familia Papillomaviridae.²⁶ Estos virus están ampliamente distribuidos en la naturaleza e infectan específicamente el epitelio escamoso de más de 20 especies diferentes de mamíferos, así como aves y reptiles.²⁷

La cápside del HPV está constituida por 72 capsómeros (60 hexámeros y 12 pentámeros), conformada por las proteínas estructurales L1 y L2 que albergan el genoma viral.²⁸ El genoma viral consiste en DNA circular de doble cadena de 7200-8000 pares de bases (pb), con más de

10 marcos de lectura abiertos (ORFs) y generalmente una hebra es transcripcionalmente activa.²⁹ El genoma del virus (fig. 1) ha sido dividido en tres regiones: región temprana (E: Early) que codifica para los genes implicados en replicación y mantenimiento del genoma viral (E1-E8); región tardía (L:Late), la cual codifica a las proteínas estructurales de la cápside L1 y L2, y por último, la región larga de control (LCR: Long Control Region), la cual contiene los sitios de regulación de la transcripción y replicación viral (figura 2).³⁰

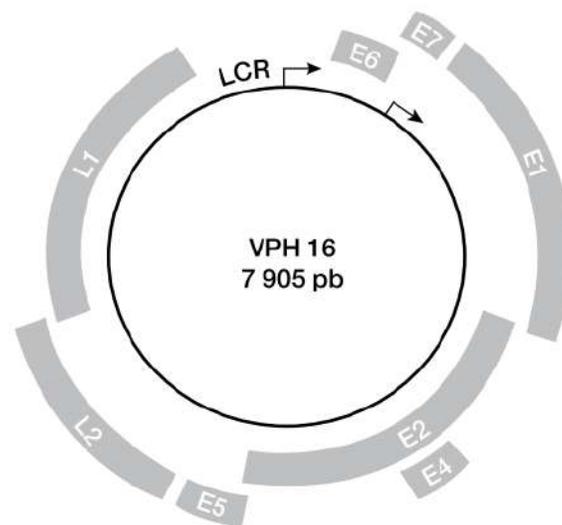


Figura 2.- Organización del genoma del virus del papiloma humano

Se han identificado más de 100 tipos de VPH, de los cuales cerca de 18 se clasifican en “alto riesgo” dada su asociación con cáncer, y de “bajo riesgo” por su asociación con displasias de alto y bajo grado. Los tipos de VPH 16 y 18 son causantes de más de 75% de todos los cánceres de cérvix.²³

El VPH infecta las células basales del epitelio porque ingresa en micro lesiones que exponen dichas células. Ahí se activa un mecanismo de endocitosis que requiere de clatrin y heparán sulfato, mediado por la proteína L2. El genoma vírico permanece como un elemento extracromosomal en forma de epítoma. El virus replica su ácido desoxirribonucleico (ADN) para mantener un número de 50-100 copias de su genoma dentro de las células basales y parabasales. El patrón de expresión en estas células no está bien definido, pero generalmente

las proteínas E1 y E2 son expresadas para mantener el ADN viral como episoma y facilitar la correcta segregación de los genomas durante la división celular. Al dividirse la célula infectada, una de las células hijas permanece en la parte basal del epitelio mientras que la otra célula inicia el proceso de diferenciación en la parte superior del epitelio.³¹

2.4.- Ciclo biológico.

La amplificación del genoma viral inicia en un subgrupo de células de las capas superiores del epitelio. En esta fase, la activación del promotor dependiente de la diferenciación (contenido en el ORF de E7) es un evento crítico porque es necesario para incrementar el nivel de proteínas virales requeridas para la replicación (E1,E2, E4 y E5).³¹

Las proteínas de la cápside (L1 y L2) se acumulan una vez que se ha amplificado el genoma viral para así encapsularlos. Los papilomavirus son no líticos y se liberan hasta que las células infectadas llegan a la superficie epitelial. El egreso de las partículas virales se lleva a cabo gracias a la actividad residente en E4, la cual contribuye a la desestabilización de las redes de citoqueratina (figura 3).³²

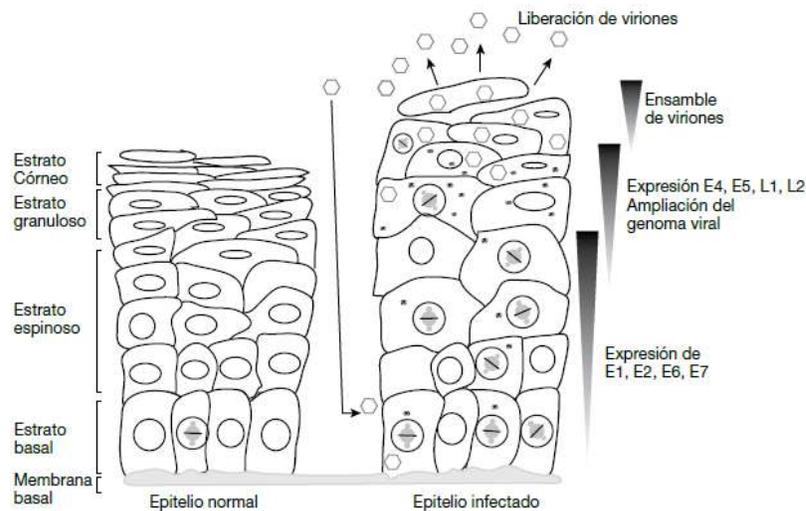
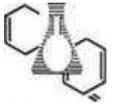


Figura 3 El ciclo viral en el epitelio estratificado.



En la ausencia de regresión, las lesiones pueden persistir y, en algunos casos, progresar a cáncer. Una característica común de los virus tumorales es su capacidad para originar tumores en sitios donde su ciclo viral productivo no puede ser completado. Las lesiones intraepiteliales de bajo grado pueden soportar esta infección productiva; sin embargo, las neoplasias cervicales intraepiteliales 2 y 3 (NIC 2 y NIC 3) tienen una fase proliferativa más extensa, donde el soporte del ciclo viral puede ser adecuado o mínimo. Se sabe que la zona de transformación es un sitio particularmente susceptible al desarrollo de cáncer. Parece que los tipos de alto riesgo no pueden completar su ciclo en esta área, lo que ocasionalmente conduce a una infección abortiva.

La progresión de lesiones hacia cáncer microinvasor o invasor se asocia con la integración del genoma del VPH en los cromosomas del hospedero. En dicho proceso suele perderse la integridad de E2, con la subsecuente expresión de los oncogenes E6 y E7.³³

2.5.- Patogenia del Cáncer Cervicouterino.

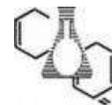
La mayoría de los casos de cáncer cervical se desarrolla en la zona de transformación, donde el epitelio columnar del endocervix se une al epitelio estratificado del exocervix.

La infección de este tejido con VPH de alto riesgo induce verrugas planas cervicales, que normalmente son asintomáticas y regresan espontáneamente de manera frecuente.³⁴

No obstante, una fracción de estas infecciones genera incremento en la población de células displásicas (conocidas como NIC), que pueden culminar en carcinoma *in situ*.³⁵ El carcinoma cervical *in situ* puede ser fácilmente tratado de manera local, pero las lesiones que no son tratadas pueden progresar a cáncer invasor para el cual el tratamiento es limitado.

La enfermedad invasora ocurre en una minoría de las mujeres infectadas por VPH-AR; el tiempo entre la infección inicial y la aparición del cáncer es típicamente 10 años.³⁶

La integración de genoma viral al genoma celular es un evento que interrumpe la expresión de los genes E1 y E2, previene la replicación de ADN viral y estimula el crecimiento celular.^{37,38} Aunque la proteína E2 es un factor de transcripción esencial, también puede funcionar como represor del principal promotor viral.^{39,40} En consecuencia, la pérdida de la



función de E2 —debido a la integración del ADN viral— induce una liberación del promotor a partir del cual se expresan las proteínas E6 y E7, principales estímulos oncogénicos codificados por VPH.^{41,42} En ausencia de la integración del genoma viral, la expresión de E6 y E7 puede incrementarse por otros mecanismos como por ejemplo, mutaciones en los sitios de unión a E2.⁴³

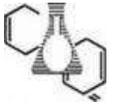
La proteína E5 es considerada otro oncogén codificado por los VPH-AR, que se expresa en algunos de los casos de CaCu.^{44,45} La comparación filogenética de los genes E5 de varios VPH genitales reveló una correlación entre la secuencia de E5 y el potencial carcinogénico de éste, lo cual sugiere que la proteína E5 pudiera jugar un papel en la carcinogénesis.^{46,47}

La progresión ordenada de la historia natural de las lesiones de cérvix puede ser mimetizada en células transfectadas con el ADN de los VPH-AR. Los queratinocitos primarios provenientes de cérvix poseen un número limitado de divisiones en cultivo y pueden ser inmortalizados eficientemente por la co-expresión de E6 y E7 de los VPH-AR.

Adicionalmente, las proteínas E6 estimulan la expresión de la subunidad catalítica de la telomerasa, una ADN polimerasa dependiente de ácido ribonucleico (ARN) que mantiene los extremos cromosomales en las células somáticas proliferantes.⁵⁰

La capacidad de las proteínas E6 y E7 de interferir con las funciones de p53 y pRb respectivamente, y de influir con la actividad de la telomerasa representan las bases de la inmortalización celular,^{51,52} pues estas mismas vías se encuentran alteradas en los procesos de inmortalización celular independiente a VPH.⁵³ Las proteínas E6 y E7 también son capaces de interactuar y modular las actividades de otras proteínas celulares, con lo cual contribuyen al efecto carcinogénico.⁵⁴

Las proteínas E6 de los VPH-AR se unen a ciertas proteínas que poseen dominios PDZ, incluidas las que supuestamente poseen actividad de supresión tumoral.⁵⁵⁻⁵⁸



Los genes E6 y E7 de los VPH-BR no poseen actividad inmortalizante y muestran una capacidad débil de interacción con los blancos celulares, lo cual demuestra que los efectos *in vitro* reflejan el potencial oncogénico observado en los pacientes. A pesar de que las células pueden ser inmortalizadas por secuencias del VPH, estas células no son tumorigénicas en principio. Sin embargo, el pasaje continuo de dichas células resulta en la adquisición de capacidad transformante debido a la inestabilidad genética derivada de la acción permanente de los oncogenes virales al eliminar varios puntos de control celular en la célula. Ello permite su replicación continua a pesar del daño al material genético, lo que resulta en la acumulación de mutaciones por la interferencia de las proteínas virales con la maquinaria de reparación del ADN y, como consecuencia de estos efectos, la inestabilidad genómica y anomalías cromosómicas son un “*hallmark*” en los cánceres inducidos por VPH.⁵⁹⁻⁶¹

Por lo tanto, algunas de las alteraciones genéticas pueden llevar a la activación de oncogenes celulares, inactivar genes supresores e interrumpir otros mecanismos de control con la final consecuencia de la adquisición del fenotipo tumorigénico en células infectadas con VPH.⁶²

Eventos similares parecen tener lugar en células de lesiones que están en proceso de progresión en mujeres infectadas persistentemente con VPH-AR.

La infección persistente por el VPH-AR es un factor fundamental en el establecimiento del CaCu; sin embargo, existen otros factores de riesgo que elevan la posibilidad de desarrollarlo (figura 4). Entre los determinantes de progresión están la ausencia de programas de *screening* y la poca accesibilidad a los recursos diagnósticos; aunque otros factores, como el genotipo viral, la persistencia de la infección, probablemente la carga viral, la integración del ADN viral en el genoma celular y periodos de inmunosupresión en el organismo contribuyen a la aparición de la enfermedad.

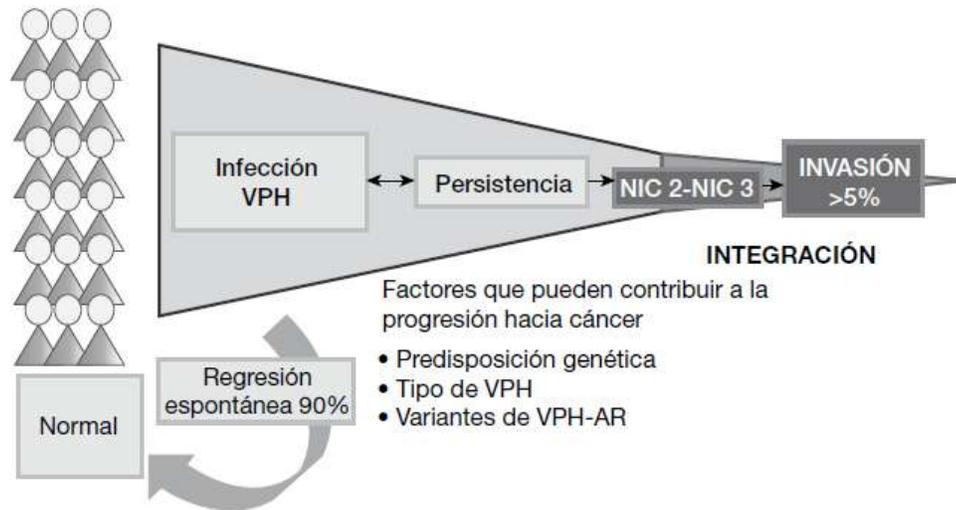
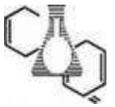


Figura 4 Esquema representativo del establecimiento del cáncer cervical.

La predisposición genética representa 27% del efecto de los factores subyacentes para el desarrollo del tumor. La herencia afecta la susceptibilidad a la infección por VPH, la capacidad para resolverla y el tiempo de desarrollo de la enfermedad.⁴¹

El cáncer cervical evoluciona a partir de lesiones premalignas no invasivas, referidas como NICs o lesiones intraepiteliales escamosas (LIEs) (figura 5).

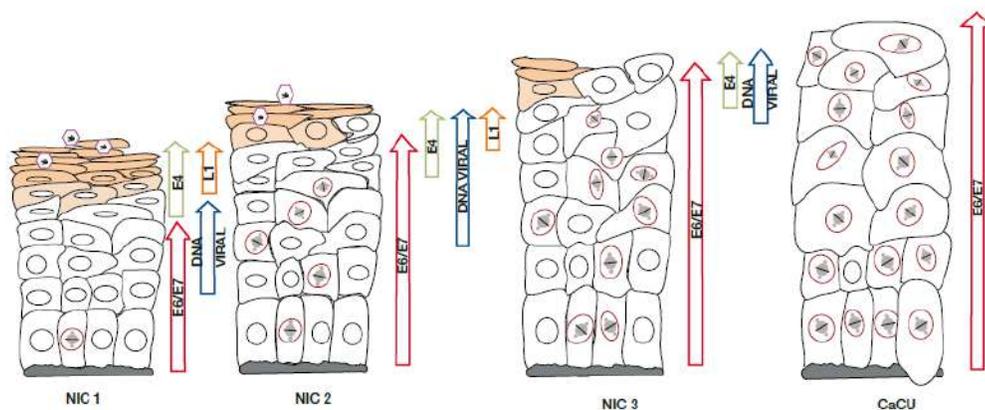
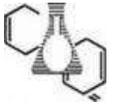


Figura 5 Evolución de las lesiones intrapiteliales cervicales hacia cáncer y su relación con productos del VPH.



Histológicamente, las alteraciones precancerosas se gradúan de la siguiente forma:

- NIC I: displasia leve.
- NIC II: displasia moderada.
- NIC III: displasia grave y carcinoma *in situ*.

En las extensiones citológicas, las lesiones precancerosas se separan solo en dos grupos:

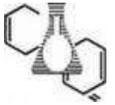
- Lesión intraepitelial escamosa de bajo grado (LIEBG): corresponden a NIC 1 o condilomas planos.
- Lesión intraepitelial escamosa de alto grado (LIEAG): corresponden NIC II o III.

Hasta hoy, es materia de debate si el cáncer cervical generalmente se desarrolla a partir de un epitelio cervical normal infectado —vía una secuencia de lesiones bien reconocidas (NIC I-III) o directamente a través de una vía rápida inducida por lesiones NIC III.

En función del sitio de origen o de la estirpe celular de la cual se origina, el cáncer de cérvix puede ser de tipo epidermoide o escamoso, mixto o adenoescamoso, así como de otras variedades menos frecuentes, como el de células pequeñas. El comportamiento histológico de estos tipos varía.

En general, el adenocarcinoma y los carcinomas adenoescamosos son más agresivos que los epidermoides. Los tipos virales más frecuentes en casos de carcinoma invasivo son los VPHs 16, 18, 45 y 31, la prevalencia acumulada de estos tipos virales explica 80% de los casos.

Si bien el mecanismo oncogénico inducido por HPV se debe a la expresión conjunta de E6 y E7, existen otros factores que contribuyen al desarrollo carcinogénico entre los que destacan la sobreexpresión, amplificación o pérdida de función de genes.⁴²



2.6.- Respuesta inmune al VPH

La defensa del hospedero ante una infección viral resulta de la colaboración entre la inmunidad innata (fagocitos, proteínas solubles y barreras epiteliales) y la inmunidad adaptativa (anticuerpos, células cooperadoras y citotóxicas). El sistema inmune innato a través de macrófagos, células de Langerhans y células dendríticas detecta las partículas virales y actúa como primera línea de defensa, eliminando la mayoría de las intrusiones; no tiene memoria específica, pero es responsable de activar la inmunidad adaptativa, la cual por medio de mecanismos efectores humorales y celulares exquisitamente específicos hacia los antígenos foráneos puede generar células de memoria de larga vida.

Cuando se produce daño en el tejido, el sistema inmune innato envía moléculas señales que no se encuentran normalmente, como estructuras ricas en manosa y proteínas de choque térmico que, junto con las células dendríticas (DC), inician la coordinación de células efectoras del sistema inmune como monocitos, macrófagos, polimorfonucleares (PMN) y células NK para la protección del tejido mucoso. Su activación induce la producción de moléculas co-estimuladoras como las defensinas, interleucinas (IL), interferones (IFN), factor de crecimiento transformante (TGF) y factor de necrosis tumoral (TNF), los cuales ejercen un control directo sobre las células infectadas.

En el caso particular de la infección por VPH, este patógeno ha desarrollado mecanismos de evasión de la respuesta inmune del huésped (figura 6).

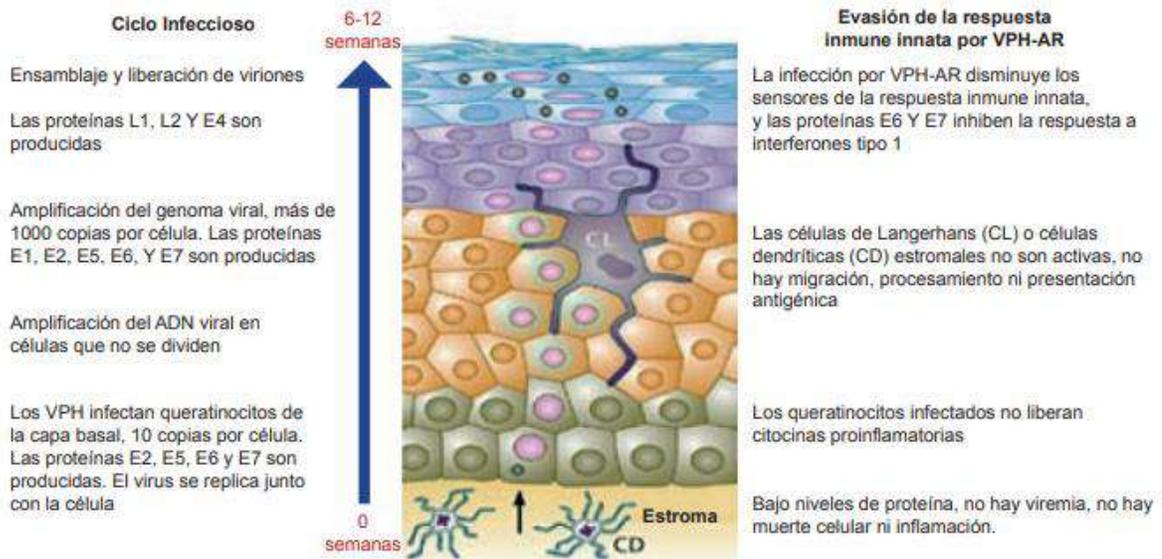


Figura 6 Ciclo infeccioso y mecanismos de evasión de la respuesta inmune innata durante la infección por VPH-AR.

El ciclo infeccioso del virus ocurre por sí mismo (es un mecanismo de evasión del sistema inmune), debido a que el VPH es un patógeno exclusivamente intraepitelial; no se presenta una fase de transmisión sanguínea o viremia en el ciclo de vida, y solo cantidades mínimas de virus están expuestas a las defensas inmunes.⁶⁵ Además, no hay citólisis o muerte citopática como consecuencia de la replicación del virus; por lo tanto, no hay inflamación y durante la mayor parte del ciclo de infección por VPH, parece haber poca o ninguna liberación de citocinas proinflamatorias importantes para la activación y la migración de las células presentadoras de antígeno (CPA) en el microambiente local, sin embargo derivado a los cambios que se producen en un microambiente post infección (MPI), se propone un modelo de proceso de desarrollo del cáncer cervicouterino (figura 7). Por ejemplo, se sabe que los interferones de tipo I, principalmente IFN-alfa e IFN-beta, tienen actividad antiviral, antiproliferativa y antiangiogénica, además de participar en la activación de la respuesta adaptativa mediante la inmunidad innata.⁶⁶ Los VPH-AR tienen mecanismos que inhiben la síntesis de interferón y las vías de señalización intracelular; por ejemplo, las proteínas E6 y E7 del VPH-16 pueden interactuar directamente con los componentes de las vías de señalización del interferón, lo cual favorece la evasión de la respuesta inmune.⁶⁷

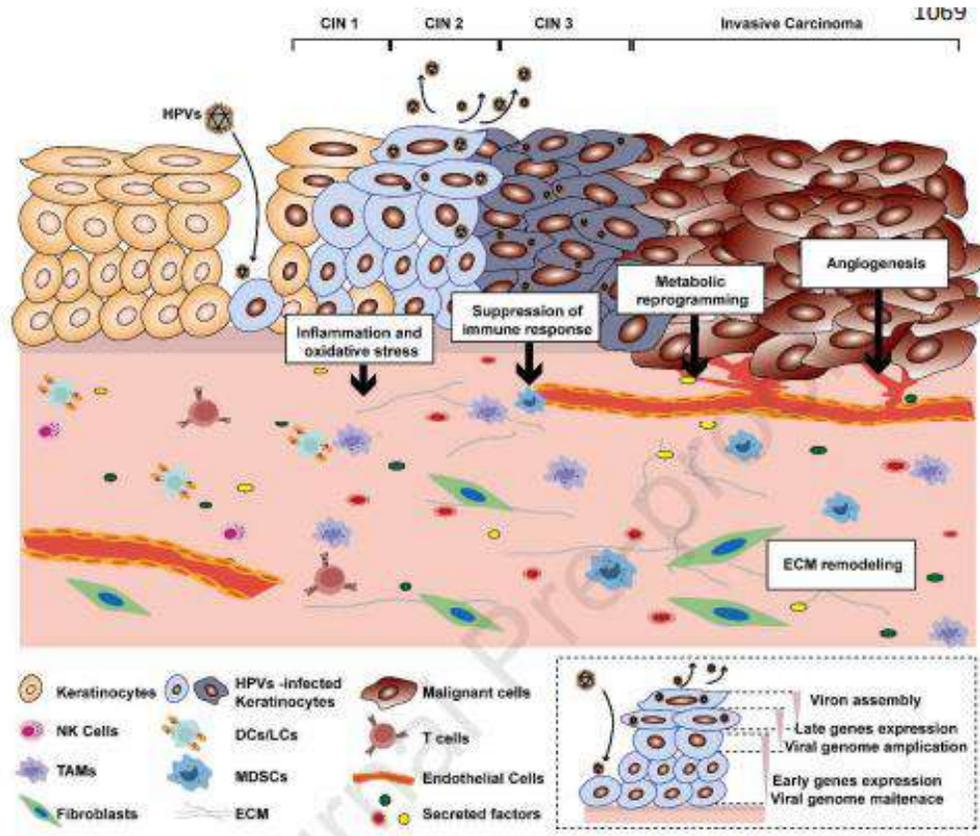


Figura 7 Modelo propuesto de carcinogénesis cervical inducida por VPH.

Las células dendríticas son el puente entre la inmunidad innata y adaptativa. Emigran a los ganglios linfáticos, tras fagocitar al patógeno infectante, lo procesan y lo presentan a los linfocitos T CD4+, activándose las vías de linfocitos T cooperadores (helper). La vía Th1 generará inmunidad celular, necesaria para la resolución de la infección establecida, induciendo células T de memoria y promoviendo la diferenciación de linfocitos T citotóxicos, que aniquilarán las células infectadas. La vía humoral Th2 activa a los linfocitos B que, al diferenciarse en células plasmáticas, contactan con el antígeno y sintetizan anticuerpos específicos que bloquearán al patógeno. Algunas células plasmáticas perduran durante largos períodos y segregan anticuerpos constantemente, manteniendo un nivel protector. Otra fracción de linfocitos B deriva a células B de memoria que darán lugar a una respuesta humoral rápida, intensa y eficaz.(Figura 8).⁶⁹

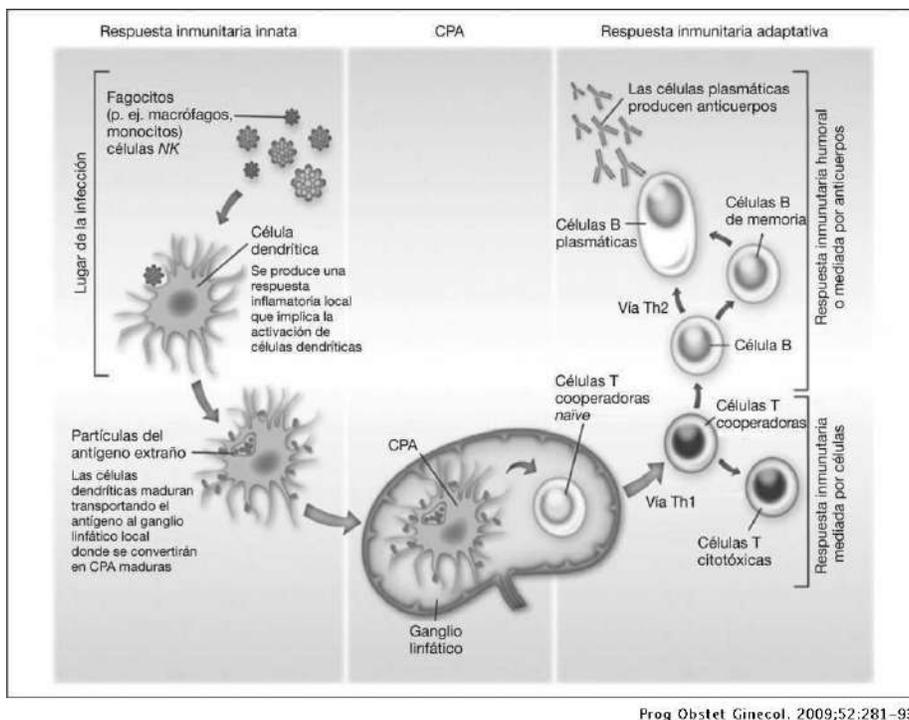


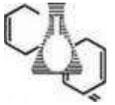
Figura 8 Respuesta inmune innata vs respuesta inmune adaptativa contra el VPH.

2.7.- Pruebas de identificación del VPH

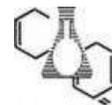
Uno de los elementos críticos en los programas de tamizaje de cáncer es el conocimiento de las características técnicas y operativas de las pruebas disponibles. En la actualidad, se encuentran en el mercado cerca de cien pruebas comerciales para la detección de VPH. En los programas de tamizaje de cáncer de cuello uterino, la detección de VPH puede realizarse mediante pruebas directas que permiten la identificación del genoma de VPH de alto riesgo (VPH-AR), de amplificación de un fragmento de ADN viral, con o sin genotipificación, o mediante la detección de ARNm.⁷⁰

2.7.1.- Fundamento de la prueba.

La RT-PCR VPH AR es una prueba de PCR multiplex en tiempo real (RT-PCR), que permite la detección cualitativa (positiva o negativa) y simultánea de 14 genotipos del VPH clasificados como de alto riesgo para cáncer de cérvix (genotipos 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, y 68). Se basa en la amplificación de una región específica del gen L1



(gen tardío codificante para proteínas estructurales que conforman la nucleocápside viral del VPH), utilizando oligonucleótidos que detectan el ADN viral y sondas específicas que permiten de manera simultánea su diferenciación por genotipos específicos de alto riesgo.⁷¹ La técnica utiliza el gen de β globina como control interno para la integridad, extracción y amplificación de la muestra.⁷⁰



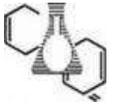
CAPÍTULO III.

3.- ANTECEDENTES.

Guang.Hui Du y colaboradores, en el 2019 evaluaron la asociación de los genotipos de TNF e IL10, con la susceptibilidad de cáncer cervical, los polimorfismos en TNF (-308 G/A, RS1800629) e IL10 (-592 C/A RS1800872, -1082 A/G, RS1800896) se genotiparon y se calcularon las razones de posibilidades para el genotipo y las frecuencias alélicas entre pacientes con cáncer cervical y controles sanos. Los resultados sugirieron que los genotipos TNF-308 AA e IL10-592 CA/AA pueden aumentar la susceptibilidad de cáncer cervical al alterar la respuesta inmune de un individuo.⁷²

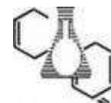
Por otro lado un artículo realizado por Simas y colaboradores en 2019, estudió la posible asociación entre los polimorfismos del promotor IL10 y TNF α y la infección por VPH en el riesgo de carcinogénesis cervical en mujeres de Brasil. Se evaluaron un total de 654 muestras en este estudio. Encontrando diferencias significativa en la distribución de las frecuencias alélicas de TNF-308 (rs1800629) ($p = 0.03$) y genotipo ($p = 0.03$) y la infección por HPV-58 entre los grupos de casos y de control para el polimorfismo de TNF α evaluado. Cuando se trató de la distribución alélica y genotípica de TNF α (rs1800629) y las infecciones por VPH 18 y 31, no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los casos y los grupos de control para el polimorfismo de TNF α estudiado. La distribución alélica y genotípica de IL10-819 (rs1800871) e IL10-1082 (rs1800896) y la infección por VPH (VPH 58, 18 y 31) no han mostrado diferencias estadísticamente significativas entre los grupos de casos y de control para los polimorfismos IL10 evaluados. Este estudio indicó que la asociación del polimorfismo genético en genes relacionados con la inflamación representa un riesgo para la susceptibilidad en el desarrollo de cáncer cervical en mujeres infectadas por los VPH 16, 18 y 58.⁷³

Chingai T y colaboradores en el año de 2016, examinaron 251 muestras cervicales y clasificaron dos grupos de acuerdo con sus hallazgos citológicos: 121 casos de cáncer y 130 controles (de bajo grado lesión intraepitelial escamosa y citología normal). Todas las muestras fueron tipificadas por PCR y secuenciación para TNF- α promotor -308G> A (rs1800629) y -238G> A (rs361525). En base a los resultados, ni el promotor TNF- α -308G> A (rs1800629)



ni el -238G> A (rs361525) presentan un importante factor de riesgo para el cáncer cervical entre las mujeres tailandesas.⁷⁴

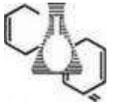
En 2018, Chong Guo y colaboradores, realizaron un meta-análisis de reportes publicados para tener obtener una relación más precisa entre los polimorfismos de IL-10 y el riesgo de cáncer cervical, debido a que hasta ahora los estudios previos demostraban cierta asociación pero parecen ser controversiales. En general, existió una asociación significativa entre el polimorfismo en IL10 -1082 A>G y el riesgo de cáncer cervical en toda la población, teniendo el mismo resultado en los análisis de subgrupos. Sin embargo el polimorfismo en IL10 -819 T > C exhibe un efecto protector importante contra el cáncer cervical. En resumen, este meta-análisis sugiere que los polimorfismos de IL10 pueden jugar varios papeles en el riesgo de cáncer cervical, especialmente en los Asiáticos.⁷⁵



CAPÍTULO IV.

4.- HIPÓTESIS

- Existe asociación entre los polimorfismos encontrados en TNF-a e IL-10 con el riesgo de desarrollar cáncer cervical.



CAPÍTULO V.

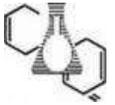
5.- OBJETIVOS.

5.1.- Objetivo general.

Determinar la asociación de los polimorfismos genéticos RS1800629 de TNF-a y RS1800872, RS1800896 de IL-10 con el desarrollo de cáncer cervical en pacientes que acuden a un tercer nivel de atención.

5.2.- Objetivos específicos.

- Describir las características sociodemográficas, ginecológicas y tipo de VPH.
- Determinar la frecuencia genotípica y alélica de los polimorfismos RS1800629 de TNF- α , y RS1800872, RS1800896 de IL10.
- Identificar la asociación entre los polimorfismos RS1800629 TNF-a, RS1800872, RS1800896 IL10 encontrados con el desarrollo de cáncer cervical.



CAPITULO VI.

6.- METODOLOGIA

6.1.- Área de estudio.

Las muestras fueron tomadas en el servicio de ginecología del Hospital Regional de Alta Especialidad "Ciudad Salud" (HRAECS). El estudio se realizó en el laboratorio de investigación "Ciudad Salud" (HRAECS), protocolo aprobado por el comité de investigación, comité de ética en investigación y el comité de bioseguridad.

6.2.- Tipo y diseño de estudio.

Se realizó un estudio analítico, observacional, prospectivo y transversal.

6.3.- Población de estudio.

Mujeres que acudieron al servicio de ginecología del HRAECS.

6.4.- Tamaño y tipo de muestreo.

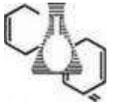
En el presente estudio se analizaron un total de 100 mujeres, 25 controles y 75 casos con diagnóstico presuntivo de CaCu.

6.5.- Criterios de inclusión.

- Mujeres mayores de edad.
- Mujeres residentes del estado de Chiapas.
- Carta de consentimiento informado autorizando raspado cérvicovaginal y uso de información de su expediente clínico.
- ADN de índice de pureza A260/A280 mayor a 1.8 y cantidad mayor de 60 ng/uL.

6.6.- Criterios de exclusión.

- Mujeres menores de edad.



- Mujeres con algún problema psicológico.
- Mujeres que no están radicando en el estado de Chiapas.
- Mujeres que no acepten participar en el estudio.

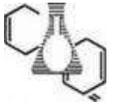
6.7.- Criterios de eliminación.

- Muestras de mala calidad.
- Mujeres sin expediente clínico incompleto y/o cuestionarios incompletos.

6.8.- Materiales y reactivos.

6.8.1.- Materiales

- Tubos de cónicos 1.5 mL y 0.2 mL (Eppendorf™).
- Puntillas.
- Tubos para PCR (MicroAmp Fast 8 Tubes Strip, Applied Biosystems®).
- Tapas para tubo de PCR (MicroAmp Optical 8 Cap Strip, Applied Biosystems®).
- Guantes de nitrilo sin polvo (Nitrile Examination Gloves).
- Medios de transporte y cepillos cervicales (HC2 DNA Collection Device Specimen Transport Medium, Digene®).
- Estuche para extracción de ADN (QIAamp DNA blood Mini Kit, QIAGEN®).
- Estuche para genotipificación de VPH de alto riesgo (HPV HCR genotype-titreFRT, AmpliSens®).
- Estuche para genotipificación de VPH de bajo riesgo (HPV 6/11-FRT, AmpliSens®).



- Estuche comercial Taqman Genotyping Master Mix de la marca Applied Biosystems (Lincon Centre Drive, Foster City, California 94404, USA).
- Ensayos de genotipificación.
- Agua libre de nucleasas (MiliQ).

6.8.2.- Equipo.

- Centrífuga refrigerada (Hermle modelo Z326K) con número de rotor 220.87.
- Termociclador de PCR tiempo real CFX96 (Bio-Rads®).
- Nanodrop (Thermo-Scientific™).
- Micropipetas volumen variable (Brand Transferette® y eppendorf™).
- Vórtex (Barnstead Thermolyne).
- Termo-baño (Felisa®).
- Campana de PCR.

6.8.3.- Material biológico.

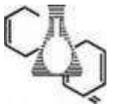
Muestras de raspado cervical, conservadas hasta su procesamiento a -20 °C.

6.9.- Técnicas de laboratorio a usar.

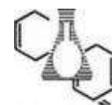
6.9.1.- Extracción de ADN.

Se utilizó el estuche para extracción de ADN (QIAamp DNA blood Mini Kit, QIAGEN®). Siguiendo las especificaciones del fabricante.

1. Colocar 200 μ L de muestra a un tubo cónico estéril de 1.5 mL.



2. Añadir 20 μ L de proteinasa K a la muestra.
3. Agregar 200 μ L de la solución AL.
4. Mezclar en vórtex por 15 segundos.
5. Incubar a 56 °C durante 10 minutos.
6. Centrifugar el tubo para eliminar las gotas de la tapa.
7. Añadir 200 μ L de etanol absoluto.
8. Mezclar en vórtex por 5 segundos.
9. Colocar el lisado a la columna QIAamp Minispin (con un tubo de recolección de 2 mL).
10. Centrifugar la columna a 8000 RPM durante 1 min.
11. Desechar el tubo de recolección y el filtrado.
12. Colocar la columna a un nuevo tubo de recolección.
13. Añadir 500 μ L de la solución AW1.
14. Centrifugar la columna a 8000 RPM por 1 min. 1
15. Desechar el tubo de recolección y el filtrado.
16. Colocar la columna a un nuevo tubo de recolección.
17. Añadir 500 μ L de la solución AW2.
18. Centrifugar la columna a 14000 RPM por 3 min.
19. Eluir el ADN con la solución AE (con un tubo cónico de 1.5 mL).
20. Incubar por 1 min.
21. Centrifugar a 8000 RPM durante 1 minuto.



6.9.2.- Cuantificación de ADN.

1. En la pantalla de inicio, seleccionar la ficha ácidos nucleicos y seleccionar ADN.
2. Pipetear 1 μ L de solución blanco en el pedestal inferior y baje el brazo.
3. Seleccionar blanco y esperar a que termine la medición.
4. Levante el brazo y limpie ambos pedestales con una toalla para equipos nueva.
5. Pipetear 1 μ L de solución muestra en el pedestal y baje el brazo, e introduzca los datos de la identificación de la muestra.
6. Seleccionar medir y esperar a que termine la medición. Cuando termina la medición aparece en la pantalla la cantidad de muestra y su índice de pureza A260/A280.

6.9.3.- Verificación de la integridad del ADN por PCR tiempo real amplificación del GEN β -globina.

1. Preparar la mezcla maestra para PCR, en las siguientes condiciones (tabla 1).
2. Establecer las condiciones para la PCR en el termociclador de tiempo real (tabla 2).

Tabla 1. Condiciones de reacción para la amplificación de un fragmento del gen β -globina por PCR en tiempo real.

REACTIVO	CANTIDAD (1X)
SYBR Green®	10 μ L
ROX	2 μ L
Primers R	0.1 μ L
Primers F	0.1 μ L
Agua MQ	6.8 μ L
ADN	2 μ L

Tabla 2. Condiciones del programa para la amplificación de un fragmento del gen β -Globina.

No. DE CICLOS	ETAPA	TEMPERATURA	TIEMPO
1	Desnaturalización inicial	95 °C	10 min
40	Desnaturalización	95 °C	15 seg
	Alineamiento	55° C	30 seg
	Extensión	72 °C	30 seg
1	Curva de disociación	60-95°C(+ 0.5°C)	75 seg

Secuencia de oligonucleótidos para la amplificación de un fragmento del gen β -globina mediante PCR en tiempo real (tabla 3).

Tabla 3. Oligonucleótidos utilizados para la amplificación de un fragmento del gen β -globina.

OLIGONUCLEÓTIDO	SECUENCIA
F- β -globina	5'-GTG CAC CTG ACT CCT GAG GAG A-3'
R- β -globina	5'-CCT TGA TAC CAA CCT GCC CAG-3'

6.9.4.- Detección de la región viral L1 usando MY09/MY11 por PCR en tiempo real.

Las muestras previo al análisis de VPH de bajo y alto riesgo se analizaron adicionalmente con el método de PCR basado en la amplificación de la región viral L1 usando consenso MY09 / 11 cebadores degenerados.

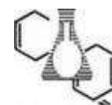


Tabla 4. Condiciones de reacción para la amplificación de un fragmento del gen L1(MY09/MY11) por PCR en tiempo real.

REACTIVO	CANTIDAD (1X)
SYBR Green®	10 μ L
ROX	2 μ L
MY09	0.1 μ L
MY11	0.1 μ L
Agua MQ	6.8 μ L
ADN	2 μ L

Tabla 5. Condiciones del programa para la amplificación del gen L1.

No. DE CICLOS	ETAPA	TEMPERATURA	TIEMPO
1	Desnaturalización inicial	95 °C	10 min
40	Desnaturalización	95 °C	15 seg
	Alineamiento	55° C	30 seg
	Extensión	72 °C	30 seg
1	Curva de disociación	60-95°C(+ 0.5°C)	75 seg

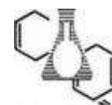


Tabla 6. Oligonucleótidos utilizados para la amplificación de un fragmento del gen L1 del VPH.

OLIGONUCLEOTIDO	SECUENCIA	Temperatura de Fusión (TM)
MY09	5'-CGT CCA CAA GAG GGA ATA CTG ATC- 3'	79.5 °C
MY11	5'-GCA CCA GAT CAT AAC TAA TGG- 3'	

6.9.5.- Genotipificación del VPH.

Las muestras positivas al gen L1 , se genotipificaron para bajo riesgo (BR) VPH 6 y VPH 11 y para alto riesgo (AR) VPH 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 52, 58, 59, 66 y 68 con el estuche comercial AmpliSens[®] HPV HCR genotype-titre-FRT.

Las condiciones de reacción, condiciones del programa para amplificación del gen y secuencia de oligonucleótidos y sondas se describen a continuación:

Tabla 7. Condiciones de reacción para la genotipificación VPH BR.

REACTIVO	CANTIDAD (1X)
Mezcla maestra	12 μ L
Oligo F	0.2 μ L
Oligo R	0.2 μ L
Sonda (FAM)	0.1 μ L
Agua MQ	7 μ L
ADN	5 μ L

Tabla 8. Condiciones del programa para la amplificación de VPH 6 y VPH 11.

No. DE CICLOS	TEMPERATURA	TIEMPO
1	95 °C	10 min
40	95 °C	15 seg
	60° C	60 seg

Tabla 9. Oligonucleótidos utilizados para la amplificación de VPH 6 y VPH 11.

NOMBRE	SECUENCIA
VPH 6/11 R	5'-GTA TCC AAA GTT GTT GCC ACG GAT- 3'
VPH 6/11 F	5'-TGT TAG GAT CTG GTA ACA CYA CCT- 3'
Sonda	5' -FAM-CGC ACC AAC ATA TTT TAT CAT GCC AGC AG- 3'

Tabla 10. Condiciones de reacción para la genotipificación de VPH AR.

REACTIVO	CANTIDAD (1X)
Mezcla maestra 1,2,3 y 4	10 μ L
Enzima	5 μ L
ADN	10 μ L

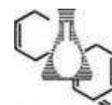


Tabla 11. Genotipos de VPH de AR detectados por cada mezcla maestra.

MEZCLA MAESTRA	MEZCLA MAESTRA	MEZCLA MAESTRA	MEZCLA MAESTRA
1	2	3	4
16	33	39	58
18	35	45	52
31	68	59	66

6.9.6. -Genotipificación de RS1800629 TNF- α y de RS1800872, RS 1800896 IL-10.

Se determinó por PCR cuantitativa, empleando sondas TAQMAN mediante discriminación alélica.

RS1800629 (TNF-a).

Se empleará el ensayo C___7514879_10 de la marca Taq Man SNP Genotyping ASSAYS Polimorfismo: A/G, transición substitución.

La secuencia de la sonda que se usará es la siguiente:

GAGGCAATAGGTTTTGAGGGGCATG[A/G]GGACGGGGTTCAGCCTCCAGGGTCC

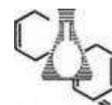
RS1800872 (IL10)

Se empleará el ensayo C___1747363_10 de la marca Taq Man SNP Genotyping ASSAYS.

Polimorfismo: T/G, transversión substitución.

La secuencia de la sonda que se usará es la siguiente:

CTTCCAGAGACTGGCTTCCTACAG[T/G]ACAGGCGGGGTCACAGGATGTGTTC



RS1800896 (IL10)

Se empleará el ensayo C____1747360_10 de la marca Taq Man SNP Genotyping ASSAYS.

Polimorfismo: T/C, transición substitución.

La secuencia de la sonda que se usará es la siguiente:

TCCTCTTACCTATCCCTACTTCCCC[T/C]TCCCAAAGAAGCCTTAGTAGTGTTG

Para llevar a cabo la genotipificación del polimorfismo se siguió la técnica indicada por el proveedor.

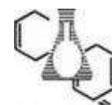
Preparación para la reacción de qPCR por genotipificación

A) Se montó un control negativo (NTC) y un control de ADN de genotipo conocido en cada placa.

B) Se calculó el volumen de cada componente necesario para todos los pozos en cada ensayo, con base en el número de reacciones. Se usaron los volúmenes que se indican en la tabla 12.

Tabla 12. Volúmenes utilizados para la reacción de PCR.

Volúmenes de mezcla para la reacción de PCR			
Componente	Método ADN seco		
TaqMan Genotyping Master Mix (2x)	2.5 μ L	5 μ L	12.5 μ L
TaqMan Genotyping Assay Mix (2x)	0.25 μ L	0.5 μ L	1.25 μ L
DNase-free water	2.25 μ L	5.5 μ L	11.25 μ L
Volumen total			



Preparación de la placa de reacción y corrida de qPCR.

Para la reacción de genotipificación se empleó el método seco, para el cual se transfiere en cada pozo 9 μ L de la mezcla de reacción de PCR. Posteriormente se colocó 1 μ L de muestra de ADN genómico purificado o control, previamente cuantificado. Para obtener una reacción en volumen total de 10 μ L.

Se establecieron las condiciones de ciclos térmicos de la siguiente manera:

Tabla 13. Etapas de la qPCR.

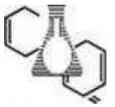
Etapas	Temperatura	Duración	Ciclos
Activación de la enzima	85	10 min.	En espera
Desnaturalización	95	15 seg.	40
Alineamiento/ Extendido	60	1 min.	

Los resultados se leen y analizan utilizando el software de sistema CFX96 Real Time. Se exportan los resultados a un documento Excel, para su análisis estadístico.

6.10. -Variables de estudio y análisis estadísticos.

Para el análisis de datos considerando las siguientes variables sociodemográficas, ginecológicas, tipo de VPH, se utilizó estadística descriptiva, con determinación de frecuencias absolutas, medias y desviaciones estándar.

Para el análisis de la frecuencia genotípica y alélica del polimorfismo RS1800629 de TNF- α , y RS1800872, RS1800896 de IL10 y determinar la asociación entre los polimorfismos utilizó el programa SNPstat, para determinar medidas como Odds Ratio (OR por sus siglas en inglés)



y el intervalo de confianza del 95% y para evaluar la asociación con el desarrollo de cáncer cervical. Los valores $p < 0.05$ fueron considerados estadísticamente significativos.

6.11.- Consideraciones éticas y de bioseguridad

Consideraciones éticas

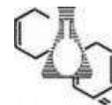
Este estudio se realizó bajo el Capítulo IV del Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación, acerca de la Investigación en Mujeres en Edad Fértil, Embarazadas, durante el Trabajo de Parto, Puerperio, Lactancia y Recién Nacidos; de la utilización de Embriones, Obitos y Fetos y de la Fertilización Asistida, Artículo 42, en las investigaciones clasificadas como de riesgo mayor que el mínimo, que se realicen en mujeres en edad fértil, deberán tomarse medidas para:

- I. Certificar que las mujeres no están embarazadas, previamente a su aceptación como sujetos de investigación, y
- II. Disminuir en lo posible las probabilidades de embarazo durante el desarrollo de la investigación.

Bioseguridad

Al interior del laboratorio, se pueden presentar riesgos de distinta naturaleza y nivel, dependiendo del proceso específico que se lleva a cabo, los principales son riesgos biológicos, químicos, ergonómicos.

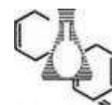
Los riesgos biológicos hacen que se clasifique el nivel de laboratorio en clase contención de nivel 2, en donde la exposición al peligro estaría dado por la ruta de la ingestión, inoculación o contacto con mucosas. El personal debe disponer y ocupar los elementos de protección personal necesarios para el trabajo con muestras potencialmente riesgosas, tales como, guantes, mascarilla y bata o delantal. El laboratorio debe contar con señales gráficas que indiquen acceso restringido a los laboratorios con riesgo biológico tales como, áreas de acopio de muestras y de procesamiento.



Para los riesgos químicos, el personal debe tener especial cuidado al manipular los reactivos utilizados, como medida de buenas prácticas de trabajo, la manipulación de esta sustancia química debe ser bajo gabinete de extracción química, junto con los elementos de protección personal.

Por último, los riesgos ergonómicos que se generan por actividades repetitivas en el laboratorio, se recomienda disponer de apoya muñecas, apoya pies, sillas ergonómicas, cojines lumbar, pantallas con control de luminiscencia y efectuar pausas laborales para ejercicios compensatorios.

Además en materia de desechos, para evitar riesgos a la salud y daños al medio ambiente, los RPBI deberán ser identificados para ser separados y envasados, de acuerdo con sus características físicas y biológicas infecciosas, inmediatamente después de su generación, es decir, en el mismo lugar en el que se originan y por el personal sanitario, de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana NOM-087-ECOL-SSA1-2002, Protección ambiental-salud ambiental-residuos peligrosos biológico infecciosos-clasificación y especificación de manejo, los residuos peligrosos biológico-infecciosos.



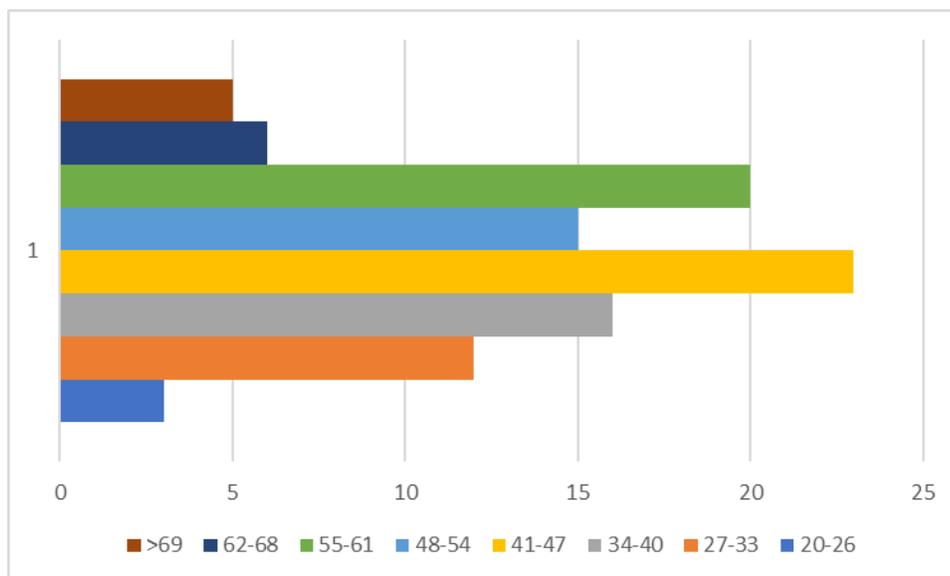
CAPÍTULO VII.

7.- RESULTADOS.

Durante el periodo de estudio, se incluyeron 100 mujeres con una edad promedio (de 47.2 ± 12.3 años).

El rango de edad de las participantes es de 20 a 72 años (56 años), las edades se distribuyeron en 8 grupos de edad (Gráfica 1).

Gráfica 1. Edad de las participantes del Servicio de Ginecología del HRAECS.



Fuente: Base de datos del proyecto 011/2018.

Se encontró que el grupo de edad con mayor frecuencia es de 41 a 47 años (n=23), seguido del grupo de edad de 55 a 61 años (n= 20) con respecto a los de menor frecuencia está el grupo de edad de 20-26 años (n=3) seguido del grupo de mayor a 69 años (n=5).

Con respecto a las características sociodemográficas se encontró con mayor frecuencia: escolaridad el 32% (n=32) tienen primaria incompleta, religión el 60% (n=60) es católica, ocupación el 90% (n=90) son ama de casa, estado civil el 47% (n=47) está casada y en servicios de salud "derechohabiente" el 95% (n=95) contaban con Seguro Popular (tabla 14).

Tabla 14. Características sociodemográficas de las participantes.

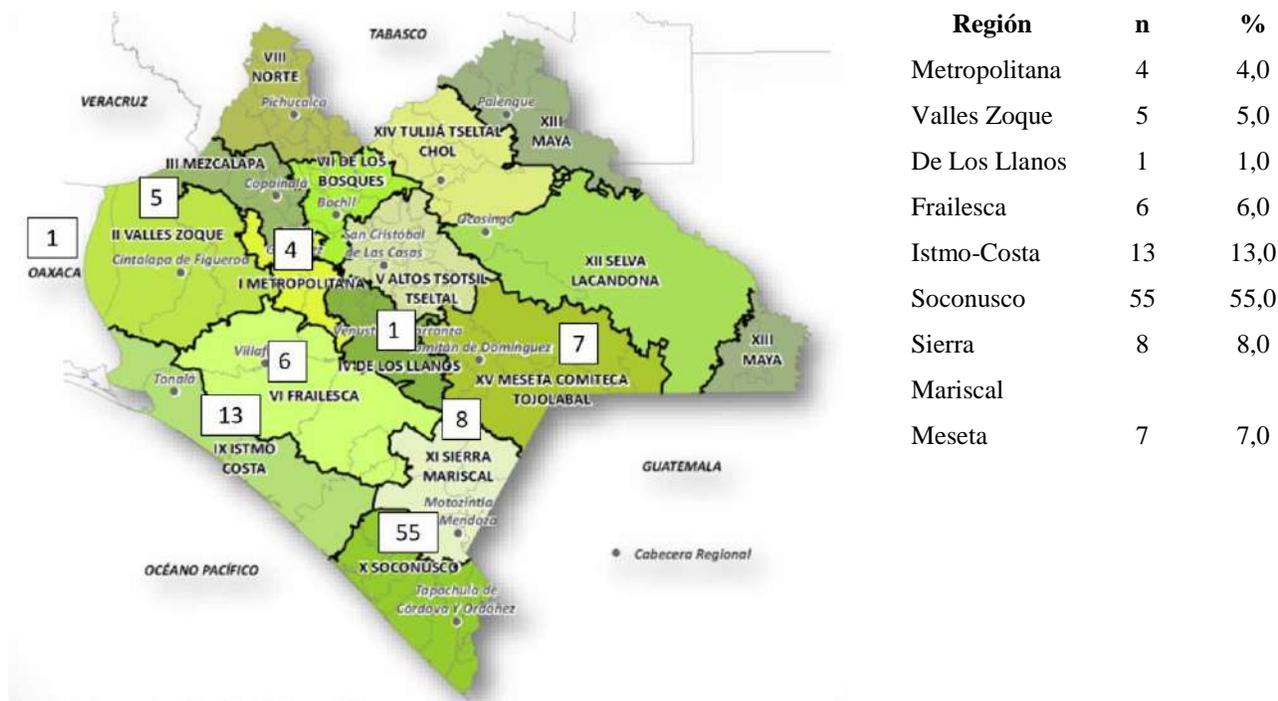
VARIABLE	n	%
Escolaridad		
Ninguna	18	18,0
Primaria incompleta	32	32,0
Primaria completa	17	17,0
Secundaria incompleta	9	9,0
Secundaria completa	10	10,0
Preparatoria incompleta	2	2,0
Preparatoria completa	8	8,0
Licenciatura	4	4,0
Religión		
Ninguna	6	6,0
Católica	60	60,0
Cristiana	12	12,0
Evangélica	3	3,0
Adventista	10	10,0
Testigos de Jehová	2	2,0
Pentecostés	6	6,0
Deísta	1	1,0
Ocupación		
Ama de casa	90	90,0
Desempleada	3	3,0
Comerciante	6	6,0
Empleada	1	1,0
Estado civil		
Unión libre	25	25,0
Casada	47	47,0
Viuda	11	11,0

Soltera	17	17,0
Derechohabiencia		
Ninguna	4	4,0
Seguro Popular	95	95,0
IMSS	1	1,0

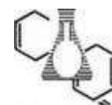
Fuente: Base de datos del proyecto 011/2018.

Las participantes eran residentes de diversas regiones del estado de Chiapas, se encontró una mayor frecuencia de la Región Soconusco con un 55% (n=55), seguida de la Región Istmo-Costa con un 13% (n=13) y en menor frecuencia de la Región De Los Llanos 1% (n=1) (Gráfica 2).

Gráfica 2. Localización de las participantes por regiones del estado de Chiapas.



Fuente: Base de datos del proyecto 011/2018.

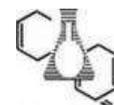


Antecedentes Patológicos, se encontró un 63% (n=63) ningún antecedente patológico, 10% (n=10) con diabetes mellitus y el 27% (n=27) con diversas patologías como: hipertensión, alergia, cáncer de otro tipo menos CaCu, entre otros (tabla 15).

Tabla 15. Antecedentes Patológicos de las participantes.

VARIABLE	n	%
Antecedentes Patológicos	63	63,0
Ninguno		
Mastopatía fibroquística	1	1,0
Quiste ovárico	2	2,0
Infección en vías urinarias	1	1,0
Diabetes mellitus	10	10,0
Cirrosis hepática	1	1,0
Alergia	2	2,0
Fibroadenoma	1	1,0
Epilepsia	1	1,0
Hipertensión	5	5,0
Cáncer de mama	2	2,0
LES	2	2,0
Cáncer de riñón	1	1,0
Cáncer de colon	1	1,0
Hipertensión y obesidad	2	2,0
Hipertensión y diabetes	1	1,0
Obesidad osteoartritis	1	1,0
Tumor en ovario	1	1,0
Obesidad	1	1,0
Tuberculosis	1	1,0
Total	100	100,0

Fuente: Base de datos del proyecto 011/2018.



Antecedentes No patológicos, el 70% (n=70) negó tener tabaquismo, alcoholismo, estupefacientes y exposición a biomasa, el 13% (n=13) exposición a biomasa, el 9% (n=9) tabaquismo positivo, y el 8% (n=8) a variables entre tabaquismo y alcoholismo positivos, alcoholismo positivo y exposición a biomasa, entre otros (tabla 16).

Tabla 16. Antecedentes No Patológicos de las participantes.

VARIABLE		n	%
Antecedentes No Patológicos			
	Ninguna	70	70,0
	Alcohol	1	1,0
	Tabaco	9	9,0
	Exposición a biomasa	13	13,0
	Alcohol y Tabaco	4	4,0
	Exposición a biomasa y Alcohol	2	2,0
	Exposición a biomasa y Tabaco	1	1,0
	Total	100	100,0

Fuente: Base de datos del proyecto 011/2018.

La prevalencia encontrada en la población de estudio con respecto a VPH de Bajo Riesgo tipo 6 y 11 fue de un 10% (n=10), la prevalencia de VPH de Alto Riesgo tipo 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 48, 52, 58, 66 y 68 fue de un 70% (n=70), se encontró con mayor frecuencia el tipo 16 con un 40% (n=32), tipo 52 con un 15% (n=12) y tipo 58 con un 10% (n=8); se encontró una prevalencia del 80% (tabla 17).

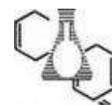


Tabla17. Prevalencia de VPH de Bajo riesgo y Alto riesgo en las participantes.

	TIPO DE VPH	n	%
BAJO RIESGO	6	5	6,3
	11	5	6,3
ALTO RIESGO	16	32	40
	18	1	1,3
	31	2	2,5
	33	1	1,3
	35	5	6,3
	39	1	1,3
	45	4	5
	48	1	1,3
	52	12	15
	58	8	10
	66	1	1,3
	68	2	2,5
	TOTAL	80	100

Fuente: Base de datos del proyecto 011/2018.

Frecuencia de Neoplasia Intraepitelial Cervical (NIC) por grupo de edad, la NIC se clasifica en 3 tipos: NIC 1 (cambios anormales leves en el cuello uterino) se encontró una prevalencia del 4% (n=4), NIC 2 (cambios anormales moderados en las células del cuello uterino) se encontró una prevalencia del 6% (n=6) y la NIC 3 (carcinoma *in situ*) con una mayor prevalencia del 13% (n=13), el grupo de edad 55-61 años presentó una frecuencia de NIC3 3 casos (n=3), el grupo de edad 27-33 años presentó una frecuencia de NIC3 3 casos (n=3) y el grupo de edad de 34-40 años presentó una frecuencia de NIC1 y NIC3 de 2 casos (n=2) en ambos casos, el 77% (n=77) no presentó lesión (tabla 18).

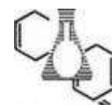
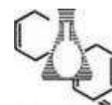


Tabla 18. Frecuencia de Neoplasia Intraepitelial Cervical (NIC) por grupo de edad.

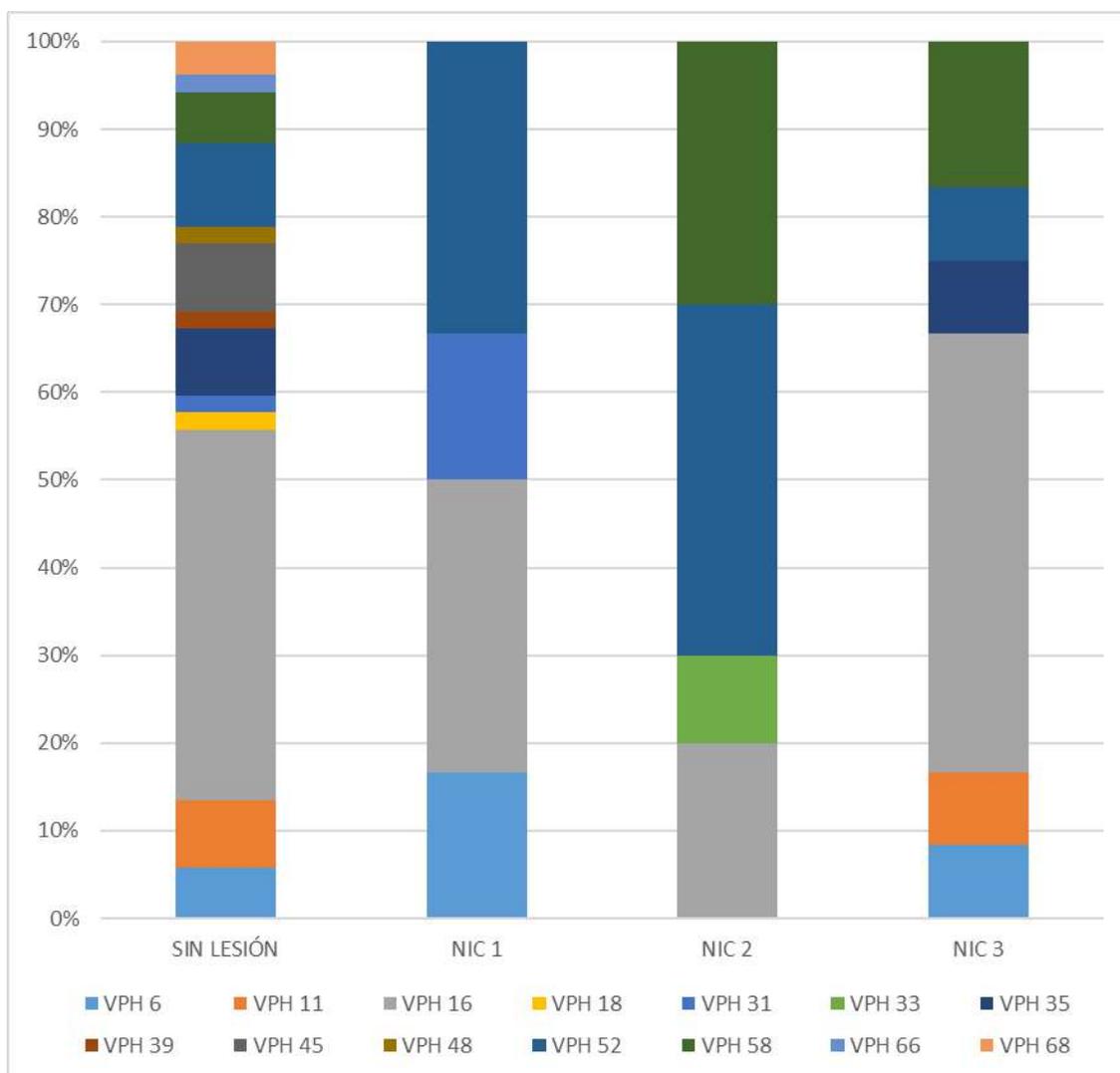
GRUPO DE EDAD	n	LESIÓN				TOTAL, NIC
		Sin lesión	NIC 1	NIC 2	NIC 3	
20-26	3	3	0	0	0	0
27-33	12	8	1	0	3	4
34-40	16	11	2	1	2	5
41-47	23	20	1	2	0	3
48-54	15	12	0	2	1	3
55-61	20	14	0	1	5	6
62-68	6	5	0	0	1	1
>69	5	4	0	0	1	1
TOTAL	100	77	4	6	13	23

Fuente: Base de datos del proyecto 011/2018.

El tipo viral encontrado en tejido cervical fue el tipo VPH 16 en un 12.5%, seguido del VPH 52 en un 8.8% y VPH 58 en un 6.3% y se encontró la mayor frecuencia 65% no tiene ningún daño en tejido cervical (Gráfica 3).

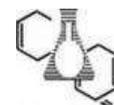


Gráfica 3.- Frecuencia relativa de Neoplasia Intraepitelial Cervical por tipo de VPH.



Fuente: Base de datos del proyecto 011/2018.

Se analizó el nivel de riesgo de infección de VPH y grado de lesión de las participantes, se encontró una prevalencia de 17.3% (n=13) sin lesión, seguido de 5.3% (n=4) NIC 3 y 1.3% (n=1) NIC 1 en My 09/11; infección de bajo riesgo se encontró una prevalencia del 1.3% (n=1) sin lesión y 1.3% (n=1) NIC 3 y coinfección de bajo riesgo de 1.3% (n=1) sin lesión; infección de alto riesgo una prevalencia de 37.3% (n=28) sin lesión, seguido del 6.6% (n=5) NIC 3, 4% (n=3) NIC 2 y 1.3% (n=1) NIC 1; coinfección de 2 tipos de alto riesgo con una prevalencia de 6.6% (n=5), seguido de 2.6% (n=2) en NIC 2 y NIC 3 y de BH 6 1.3%

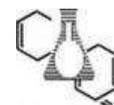


(n=1) NIC 1; coinfección de 3 tipos de alto riesgo se encontró sin lesión 1.3% (n=1) y 1.3% (n=1) NIC 2; con respecto al nivel de riesgo Bajo/Alto riesgo coinfección de 2 en un 1.3% (n=1) sin lesión y 1.3% (n=1) NIC 3, coinfección de 3 de 2.6% (n=2) sin lesión y 1.3% (n=1) NIC 1, se encontró una diferencia estadísticamente significativa $p=0.007$, encontrado la mayor frecuencia en sin lesión con infección de Alto Riesgo y en My 09/11, seguido de lesión NIC 3, NIC 2 y NIC 1 (tabla 19).

Tabla 19. Prevalencia de riesgo de infección de VPH y grado de lesión de las participantes.

NIVEL DE RIESGO	GRADO DE LESIÓN				
	SIN LESIÓN	NIC 1	NIC 2	NIC 3	Total
MY 09/11					
Positiva	13	1	0	4	18
BAJO RIESGO					
Infección	1	0	0	1	2
Coinfección (2)	1	0	0	0	1
ALTO RIESGO					
Infección	28	1	3	5	37
Coinfección (2)	5	1	2	2	10
Coinfección (3)	1	0	1	0	2
BAJO/ALTO RIESGO					
Coinfección (2)	1	0	0	1	2
Coinfección (3)	2	1	0	0	3
Total	52	4	6	13	75
Correlación de Spearman	$p=0.007$				
NEGATIVA					
	25	0	0	0	25
TOTAL	77	4	6	13	100

Fuente: Base de datos del proyecto 011/2018

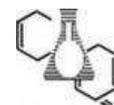


Comparativo de Lesión, Riesgo y promedio de Edad en la población de estudio, se encontró que las mayores frecuencias de infección de Alto riesgo se encuentran en un rango de 46-48 años. Con diferencia significativa en los niveles de lesión de $p=0.007$.

Tabla 20. Nivel de riesgo de infección de VPH, grado de lesión y promedio de edad de las participantes.

LESION	RIESGO	EDAD □	n	Desviación estándar
Ninguna	Ninguno	49,60	25	11,701
	Alto Riesgo	46,71	34	12,179
	Positivo no identificado	47,38	13	12,790
	Bajo Riesgo	60,00	2	7,071
	Bajo-Alto Riesgo	29,67	3	3,215
	Total	47,44	77	12,361
NIC 1	Alto Riesgo	34,00	2	8,485
	Positivo no identificado	44,00	1	.
	Bajo-Alto Riesgo	36,00	1	.
	Total	37,00	4	6,831
NIC 2	Alto Riesgo	47,33	6	7,659
	Total	47,33	6	7,659
NIC 3	Alto Riesgo	47,29	7	13,817
	Positivo no identificado	42,75	4	13,226
	Bajo Riesgo	70,00	1	.
	Bajo-Alto Riesgo	65,00	1	.
	Total	49,00	13	14,560
TOTAL	Ninguno	49,60	25	11,701
	Alto Riesgo	46,35	49	11,838
	Positivo no identificado	46,17	18	12,268
	Bajo Riesgo	63,33	3	7,638
	Bajo-Alto Riesgo	38,00	5	15,508
	Total	47,22	100	12,331

Fuente: Base de datos del proyecto 011/2018.



Los resultados de genotipificación del polimorfismo RS1800872 se encuentran detallados a continuación, distribuidas para cada grupo de estudio.

El alelo C se encuentra con mayor frecuencia las muestras analizadas con un 62 %, mientras que el alelo A se encuentra en menor proporción con 38%. Al analizar los grupos por separado, se encontró en los controles el alelo A con 36% y el alelo C con 64 %, y para el grupo casos se encontró una frecuencia alélica de A con 38% y el alelo C con 62% (tabla 21).

Tabla 21.- Frecuencia alélica del SNP rs1800872.

Frecuencia alélica del SNP rs1800872 (n =100).						
	Casos y controles		Controles		Casos	
Alelo	N	%	n	%	n	%
C	124	62	28	64	95	62
A	76	38	16	36	59	38

Fuente: Base de datos de casos y controles, diciembre 2020.

De las 100 muestras analizadas, 40 presentaron el genotipo homocigoto normal C/C (40%), 44 el genotipo heterocigoto C/A (44%) y 16 el genotipo homocigoto mutado A/A (16%). Mientras que en el grupo control, de los 25 sujetos, 8 presentaron el genotipo homocigoto normal C/C (36%), 12 el genotipo heterocigoto C/A (55%) y 2 el genotipo homocigoto mutado A/A (9%) (Ver Figura 8). El grupo de los casos se comportó diferente con 32 casos que presentaron el genotipo homocigoto normal C/C (42%), 31 el genotipo heterocigoto C/A (40%) y 14 el genotipo homocigoto mutado A/A (18%). En el último grupo se puede observar que la frecuencia del genotipo homocigoto normal C/C Y el heterocigoto C/A se comportan similares (tabla 22).

Tabla 22.- Frecuencia Genotípica del SNP rs1800872.

Frecuencia genotípica del SNP rs1800872 (n =100).						
Genotipo	Casos y Controles		Controles		Casos	
	N	%	n	%	n	%
A/A	16	16	2	9	14	18
C/A	44	44	12	55	31	40
C/C	40	40	8	36	32	42
NA	1	--	0	--	1	--

Fuente: Base de datos de casos y controles, diciembre 2020

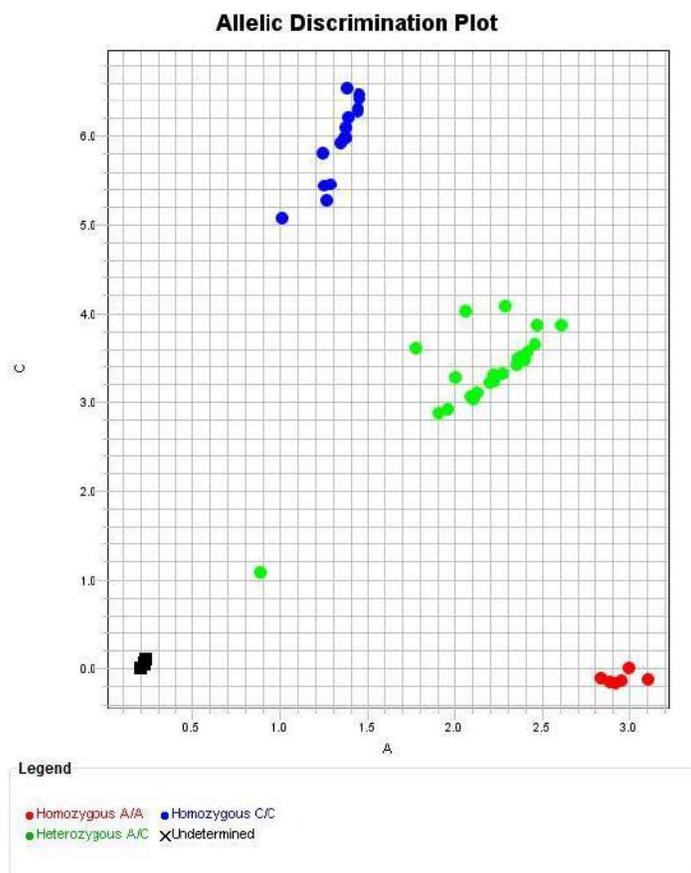
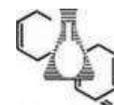


Figura 9 Distribución Alélica para polimorfismo RS1800872 IL-10

Ilustración 1

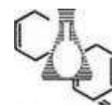


Se realizó un análisis estadístico para determinar los modelos genéticos en nuestra población de estudio. Nuestra población se encuentra en equilibrio de Hardy-Weinberg. Se encontró que la presencia del alelo A de rs1800872 del gen IL-10 aumenta el riesgo de CaCu, especialmente en un estado heterocigoto, lo cual incrementa el riesgo en 2.24 veces más. Existe significancia estadística dado que el valor de p se encuentra igual 0.05. El modelo sobredominante es el que más se adapta nuestra población de estudio, además de ser un modelo log - aditivo (tabla 23).

Tabla 23.- Asociación de respuesta del polimorfismo RS1800872 (N=100, análisis crudo.)

Modelo	Genotipo	Controles	Casos	OR (95% CI)	Valor de p
Codominante	C/C	27 (47.4%)	13 (30.9%)	1.00	0.14
	A/C	20 (35.1%)	23 (54.8%)	2.39 (0.98-5.83)	
	A/A	10 (17.5%)	6 (14.3%)	1.25 (0.37-4.18)	
Dominante	C/C	27 (47.4%)	13 (30.9%)	1.00	0.098
	A/C-A/A	30 (52.6%)	29 (69%)	2.01 (0.87-4.63)	
Recesivo	C/C-A/C	47 (82.5%)	36 (85.7%)	1.00	0.66
	A/A	10 (17.5%)	6 (14.3%)	0.78 (0.26-2.36)	
Sobredominante	C/C-A/A	37 (64.9%)	19 (45.2%)	1.00	0.05
	A/C	20 (35.1%)	23 (54.8%)	2.24 (0.99-5.06)	
Log-aditivo	---	---	---	1.30 (0.74-2.27)	0.36

Fuente: Base de datos de casos y controles, diciembre 2020.



Los resultados de genotipificación del polimorfismo RS1800896 se encuentran detallados a continuación, distribuidas para cada grupo de estudio.

El alelo A se encuentra con mayor frecuencia las muestras analizadas con un 84%, mientras que el alelo G se encuentra en menor proporción con 16%. Al analizar los grupos por separado, se encontró en los controles el alelo A con 84% y el alelo G con 16%, y para el grupo casos se encontró una frecuencia alélica de G con 84% y el alelo G con 16% (tabla 24).

Tabla 24.- Frecuencia alélica del SNP rs1800896.

Frecuencia alélica del SNP rs1800896 (n =100).						
Alelo	Casos y controles		Controles		Casos	
	N	%	n	%	n	%
A	170	84	37	84	131	84
G	32	16	7	16	25	16

Fuente: Base de datos de casos y controles, diciembre 2020.

De las 100 muestras analizadas, 74 presentaron el genotipo homocigoto normal A/A (73%), 22 el genotipo heterocigoto A/G (22%) y 5 el genotipo homocigoto mutado G/G (5%) (Ver Figura 9). Mientras que en el grupo control, de los 22 sujetos, 16 presentaron el genotipo homocigoto normal A/A (73%), 5 el genotipo heterocigoto A/G (22%) y 1 el genotipo homocigoto mutado G/G (5%). El grupo de los casos se encontró 57 casos que presentaron el genotipo homocigoto normal A/A (73%), 17 el genotipo heterocigoto A/G (22%) y 4 el genotipo homocigoto mutado G/G (5%) (tabla 25).

Tabla 25.- Frecuencia Genotípica del SNP rs1800896.

Frecuencia genotípica del SNP rs1800896 (n =100).						
Genotipo	Casos y Controles		Controles		Casos	
	N	%	n	%	n	%
A/A	74	73	16	73	57	73
A/G	22	22	5	22	17	22
G/G	5	5	1	5	4	5

Fuente: Base de datos de casos y controles, diciembre 2020

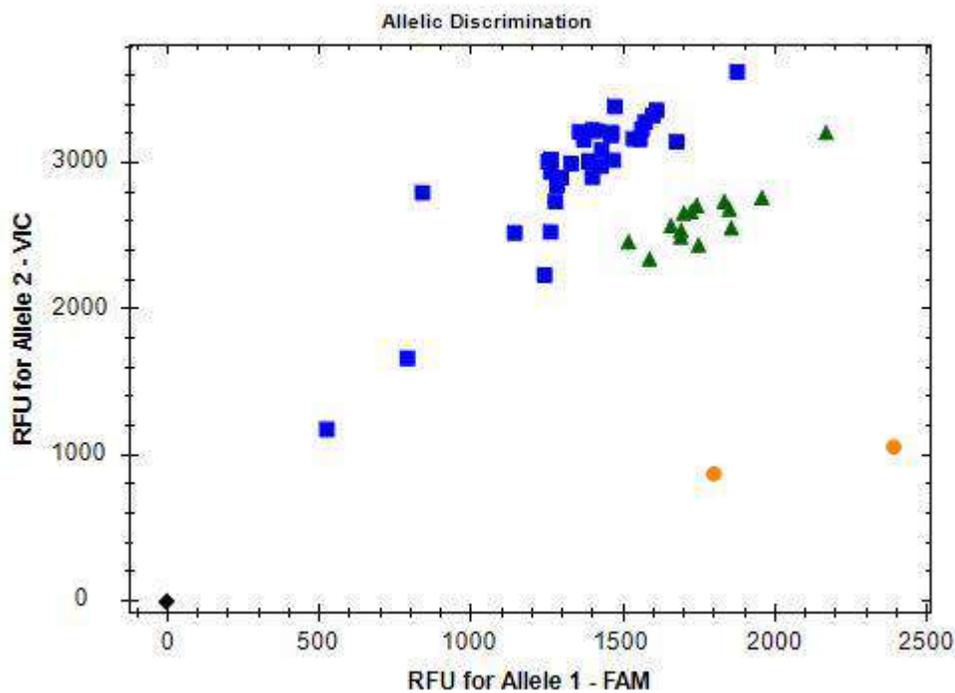


Figura 10 Distribución alélica para polimorfismo RS1800896 IL10

Se realizó un análisis estadístico para determinar los modelos genéticos en nuestra población de estudio. Nuestra población se encuentra en equilibrio de Hardy-Weinberg. Al revisar el análisis en crudo no se encontró diferencia significativa (tabla 26).

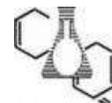


Tabla 26.- Asociación de respuesta del polimorfismo rs1800896 (n=100, análisis crudo.)

Modelo	Genotipo	Controles	Casos	OR (95% CI)	Valor de p
Codominante	A/A	16 (72.7%)	57 (73.1%)	1.00	0.99
	A/G	5 (22.7%)	17 (21.8%)	0.95 (0.30-2.99)	
	G/G	1(4.5%)	4 (5.1%)	1.12 (0.12-10.76)	
Dominante	A/A	16 (72.7%)	57 (73.1%)	1.00	0.97
	A/G-G/G	6 (27.3%)	21 (26.9%)	0.98 (0.34-2.85)	
Recesivo	A/A-A/G	21 (95.5%)	74 (94.9%)	1.00	0.91
	G/G	1 (4.5%)	4 (5.1%)	1.14 (0.12-10.71)	
Sobredominante	A/A-G/G	17 (77.3%)	61 (78.2%)	1.00	0.93
	A/G	5 (22.7%)	17 (21.8%)	0.95 (0.31-2.94)	
Log-aditivo	---	---	---	1.01 (0.43-2.34)	0.99

Fuente: Base de datos de casos y controles, diciembre 2020.

Los resultados de genotipificación del polimorfismo RS1800629 se encuentran detallados a continuación, distribuidas para cada grupo de estudio.

El alelo C se encuentra con mayor frecuencia las muestras analizadas con un 97%, mientras que el alelo T se encuentra en menor proporción con 3%. Al analizar los grupos por separado, se encontró en los controles el alelo C con 98% y el alelo T con 2%, y para el grupo casos se encontró una frecuencia alélica de T con 96% y el alelo T con 4% (tabla 27).

Tabla 27.- Frecuencia alélica del SNP rs1800629.

Frecuencia alélica del SNP rs1800629 (n =100).						
	Casos y controles		Controles		Casos	
Alelo	N	%	n	%	n	%
C	195	97	43	98	150	96
T	7	3	1	2	6	4

Fuente: Base de datos de casos y controles, diciembre 2020.

De las 100 muestras analizadas, 94 presentaron el genotipo homocigoto normal C/C (94%) y 6 el genotipo heterocigoto C/T (7%) (Ve Figura 10). Mientras que en el grupo control, de los 94 sujetos, 21 presentaron el genotipo homocigoto normal C/C (95%), 1 el genotipo heterocigoto C/T (5%). El grupo de los casos se encontró 72 casos que presentaron el genotipo homocigoto normal C/C (92%), 6 el genotipo heterocigoto C/T (8%) (tabla 28).

Tabla 28.- Frecuencia Genotípica del SNP rs1800629.

Frecuencia genotípica del SNP rs1800896 (n =100).						
	Casos y Controles		Controles		Casos	
Genotipo	N	%	N	%	n	%
C/C	94	93	21	95	72	92
C/T	6	7	1	5	6	8

Fuente: Base de datos de casos y controles, diciembre 2020T

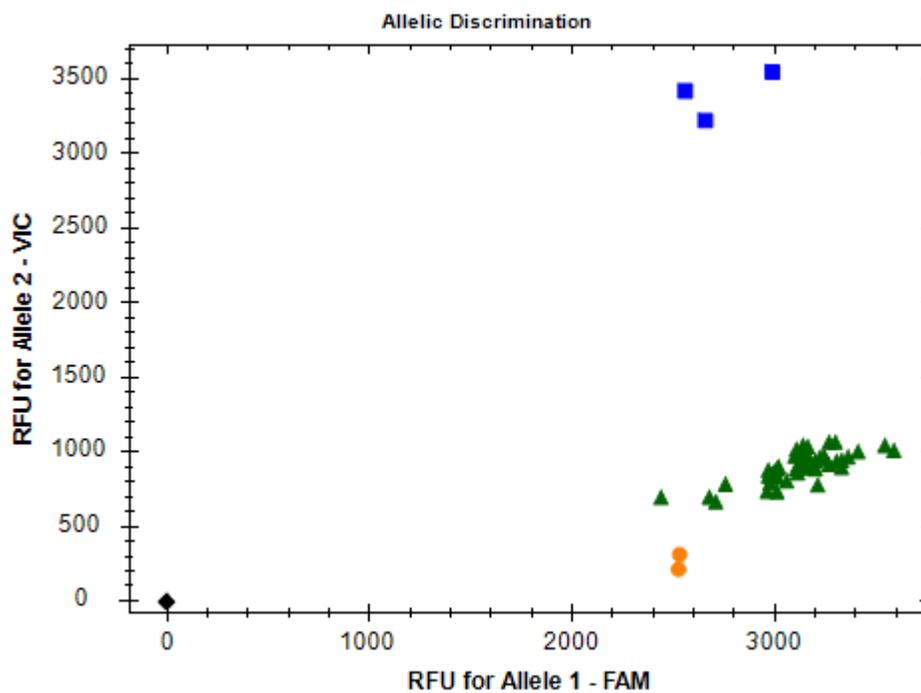
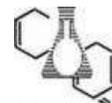
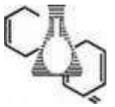


Figura 11 Distribución alélica par polimorfismo RS1800629 TNF-a

Se realizó un análisis estadístico para determinar los modelos genéticos en nuestra población de estudio. Nuestra población no se encuentra en equilibrio de Hardy-Weinberg.



CAPITULO VIII.

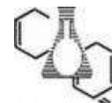
8.- DISCUSIÓN.

De acuerdo a la variable de edad la mayoría de las mujeres estudiadas tienen entre 40 y 60 años que coincide los antecedentes de Erickson y colaboradores (2013), en el cual dice que es más frecuente mujeres mayores de 30 años.

En cuanto a las condiciones socioeconómicas la mayoría de ellas son mujeres amas de casa, analfabetas, casadas, con un nivel de pobreza alto que viven en una sociedad machista y por lo tanto no tiene alcance a una educación sexual y promoción de salud siendo el Cáncer Cervicouterino consecuencia de una Infecciones de Transmisión Sexual, como lo son las infección de VPH, de acuerdo a Carlos Girón y colaboradores (2005), estos factores socioeconómicos son un gran factor de riesgo en las mujeres mexicanas.

Se estudiaron los antecedentes patológicos y no patológicos de las pacientes; sin embargo, la mayoría de ellas no presentó algún antecedente patológico así como tampoco antecedentes no patológicos como el tabaquismo o alcoholismo, por lo tanto en nuestra población no se pueden considerar como relacionados a CaCu, a diferencia de lo dicho por Nuñez-Troconis (2017), donde dice que el CaCu en mujeres está asociado a la infección del VPH, sin embargo, hay fuertes evidencias de que el cigarrillo es un factor de riesgo independiente del origen y evolución de CaCu, por otro lado en cuanto al alcoholismo en nuestra población no representa un factor de riesgo en las mujeres del estudio, pero de acuerdo a Medina (2018), concluye en sus estudios de que dentro de las principales conductas de riesgo sobre VPH se encuentran haber tenido dos o más parejas sexuales, sexo oral y consumo de alcohol, esto en mujeres españolas en donde la cultura hacia la mujer se da en otro contexto diferente al nuestro.

Por otro lado al estudiar las variables de los tipos de VPH en nuestra población de estudio se encontró que la prevalencia de VPH se encuentran clasificados los de alto riesgo y sobre todo



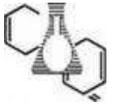
el VPH tipo 16 y 18, seguido del VPH 52 y 58; coincidiendo con los resultados de Vaccarella S. y colaboradores (2008), siendo en VPH tipo 16 el más relacionado con el cáncer cervical.

Un alto porcentaje de las mujeres estudiadas presentaron Neoplasia Cervical Intraepitelial nivel 3 y de acuerdo a LA Koutsky en (1992), la Neoplasia Cervical Intraepitelial son manifestaciones del VPH y particularmente de los tipos 16 y 18, que son los más frecuentes en nuestra población.

En base a los resultados preliminares y análisis se encontró que la presencia del alelo A de RS1800872 del gen IL-10 aumenta el riesgo de CaCu, lo cual incrementa el riesgo en 2.24 veces más. Existe significancia estadística dado que el valor de p se encuentra igual 0.05. El modelo sobredominante es el que más se adapta nuestra población de estudio, además de ser un modelo log – aditivo, esto coincide con los resultados obtenidos por Guang-Hui Du y colaboradores (2019) en la población de mujeres Chinas.

Para los polimorfismo de IL10 RS1800896 y RS1800629 de TNF-a, en nuestra población los resultados estadísticos no mostraron diferencias significativas, en cuanto a su relación con el riesgo de incrementar CaCu, coincidiendo con el estudio de Simas y colaboradores (2019) en mujeres Brasileñas y Chung Guo y colaboradores (2018), que tampoco encontraron relación del polimorfismo RS1800896 de IL-10 y TNF-a RS1800629.

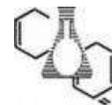
De acuerdo a los resultados obtenidos y a los antecedentes, se puede decir que los polimorfismos encontrados para la IL-10 RS1800872 son un fuerte factor de riesgo para el desarrollo de cáncer cervical; sin embargo, los polimorfismos RS1800896 de IL10 y RS1800629 de TNF-a no representan un factor de riesgo, pero es necesario aumentar el tamaño de muestra y en población de diversas regiones del estado de Chiapas.



CAPITULO IX.

9.-CONCLUSIONES

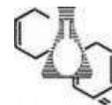
- En Chiapas las mujeres entre 40 y 60 años son más propensas a desarrollar cáncer cervical.
- Las condiciones socioeconómicas de la población estudiada son un alto factor de riesgo para contraer VPH y su progresión a cáncer cervical.
- La mayoría de las mujeres estudiadas presentar tipos de VPH de alto riesgo, siendo el VPH 16 el de mayor prevalencia.
- La frecuencia fenotípica más encontrada en la población para el polimorfismo RS1800872 de IL10 es el genotipo heterocigoto C/A.
- La frecuencia fenotípica más encontrada en la población para el polimorfismo RS1800896 de IL10 es el genotipo homocigoto A/A.
- La frecuencia fenotípica más encontrada en la población para el polimorfismo RS18009629 de TNF-a es genotipo homocigoto C/C.
- Se encontró que existe una alta asociación de polimorfismo RS1800872 IL-10 con el desarrollo de cáncer cervical en mujeres Chiapanecas, que acudieron al Hospital Regional de Alta Especialidad Ciudad Salud.
- No se encontró asociación de los polimorfismos de IL10 RS1800896 y RS1800629 de TNF-a con el desarrollo de cáncer cervical en las mujeres que acudieron al Hospital Regional de Alta Especialidad Ciudad Salud.



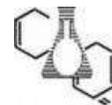
CAPITULO X

10.- REFERENCIAS

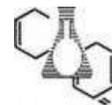
1. Erickson BK, Alvarez RD, Huh WK. Human papillomavirus: what every provider should know. *Am J Obstet Gynecol.* 2013 Mar;208(3):169-75.
2. Hernández-Girón C, Smith JS, Lorincz A, Lazcano E, Hernández-Avila M, Salmerón J. High-risk human papillomavirus detection and related risk factors among pregnant and nonpregnant women in Mexico. *Sex Transm Dis.* 2005 Oct;32(10):613-8.
3. Hariri S, Unger ER, Sternberg M, Dunne EF, Swan D, Patel S, Markowitz LE. Prevalence of genital human papillomavirus among females in the United States, the National Health And Nutrition Examination Survey, 2003-2006. *J Infect Dis.* 2011 Aug 15;204(4):566-73.
4. Vaccarella S, Herrero R, Snijders PJ, Dai M, Thomas JO, Hieu NT, Ferreccio C, Matos E, Posso H, de Sanjosé S, Shin HR, Sukvirach S, Lazcano-Ponce E, Muñoz N, Meijer CJ, Franceschi S; IARC HPV Prevalence Surveys (IHPS) Study Group. Smoking and human papillomavirus infection: pooled analysis of the International Agency for Research on Cancer HPV Prevalence Surveys. *Int J Epidemiol.* 2008 Jun;37(3):536-46.
5. Kane MA. Preventing cancer with vaccines: progress in the global control of cancer. *Cancer Prev Res (Phila)* 2012;5:24-29.
6. Bonanni P, Boccalini S, Bechini A. Efficacy, duration of immunity and cross protection after HPV vaccination: a review of the evidence. *Vaccine.* 2009 May 29;27 Suppl 1:A46-53.
7. Moscicki AB, Schiffman M, Burchell A, Albero G, Giuliano AR, Goodman MT, Kjaer SK, Palefsky J. Updating the natural history of human papillomavirus and anogenital cancers. *Vaccine.* 2012 Nov 20;30 Suppl 5(0 5):F24-33.
8. De Vincenzo R, Ricci C, Conte C, Scambia G. HPV vaccine cross-protection: Highlights on additional clinical benefit. *Gynecol Oncol.* 2013 Sep; 130(3):642-51



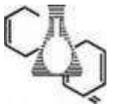
9. Isacaz, N. Cambios genéticos y factores de riesgo del cáncer. 2018. ELSEVIER.
10. Witsch E, Sela M, Yarden Y. Roles for growth factors in cancer progression. *Physiology (Bethesda)*. 2010 Apr;25(2):85-101.
11. Malumbres M, Barbacid M. Cell cycle, CDKs and cancer: a changing paradigm. *Nat Rev Cancer*. 2009 Mar;9(3):153-66.
12. Vogelstein B, Papadopoulos N, Velculescu VE, Zhou S, Diaz LA Jr, Kinzler KW. Cancer genome landscapes. *Science*. 2013 Mar 29;339(6127):1546-58.
13. Witsch E, Sela M, Yarden Y. Roles for growth factors in cancer progression. *Physiology (Bethesda)*. 2010 Apr;25(2):85-101.
14. Fouad YA, Aanei C. Revisiting the hallmarks of cancer. *Am J Cancer Res*. 2017 May 1;7(5):1016-1036.
15. Arbyn M, Castellsagué X, de Sanjosé S, Bruni L, Saraiya M, Bray F, Ferlay J. Worldwide burden of cervical cancer in 2008. *Ann Oncol*. 2011 Dec;22(12):2675-2686.
16. Lewis MJ. Análisis de la situación del cáncer cervicouterino en América Latina y el Caribe. Washington, D.C. Organización Panamericana de la Salud / Organización Mundial de la Salud (OPS/OMS). 2004:40.
17. Cordero Martínez, J., Maestri Pardo, I., & Gil Medina, R. (2015). Métodos actuales de diagnóstico del cáncer de cuello uterino. *Medimay*, 21(1), 136-146.
18. Lazcano-Ponce E, Palacio-Mejia LS, Allen-Leigh B, Yunes-Diaz E, Alonso P, Schiavon R, Hernandez-Avila M. Decreasing cervical cancer mortality in Mexico: effect of Papanicolaou coverage, birthrate, and the importance of diagnostic validity of cytology. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2008 Oct;17(10):2808-17.
19. Chan CK, Aimagambetova G, Ukybassova T, Kongrtay K, Azizan A. Human Papillomavirus Infection and Cervical Cancer: Epidemiology, Screening, and Vaccination-Review of Current Perspectives. *J Oncol*. 2019 Oct 10;2019:3257939.



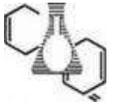
20. Torres-Poveda KJ, Arredondo A, Madrid-Marina V. The indigenous woman, susceptible to cervical cancer: a perspective from different conceptual models of public health. *Revista Salud en Tabasco*. Redalyc. Red de Revistas Científicas de America Latina y el Caribe, España y Portugal 2008;14(3):807-815.
21. Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin DM. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. *Int J Cancer*. 2010 Dec 15;127(12):2893-917.
22. Secretaría de Salud. Programa de Acción Específico 207-2012 Cáncer cervicouterino. 2008. p.21-24. ISBN: 978-607-460-0407.
23. Muñoz N, Bosch FX, de Sanjosé S, Herrero R, Castellsagué X, Shah KV, Snijders PJ, Meijer CJ; International Agency for Research on Cancer Multicenter Cervical Cancer Study Group. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *N Engl J Med*. 2003 Feb 6;348(6):518-27.
24. Bouvard V, Baan R, Straif K, Grosse Y, Secretan B, El Ghissassi F, Benbrahim-Tallaa L, Guha N, Freeman C, Galichet L, Coglianò V; WHO International Agency for Research on Cancer Monograph Working Group. A review of human carcinogens--Part B: biological agents. *Lancet Oncol*. 2009 Apr;10(4):321-2.
25. Bzhalava D, Guan P, Franceschi S, Dillner J, Clifford G. A systematic review of the prevalence of mucosal and cutaneous human papillomavirus types. *Virology*. 2013 Oct;445(1-2):224-31.
26. zur Hausen H, de Villiers EM. Human papillomaviruses. *Annu Rev Microbiol*. 1994;48:427-47.
27. Rector A, Van Ranst M. Animal papillomaviruses. *Virology*. 2013 Oct;445(1-2):213-23.
28. Buck CB, Day PM, Trus BL. The papillomavirus major capsid protein L1. *Virology*. 2013 Oct;445(1-2):169-74.
29. zur Hausen H. Papillomavirus infections--a major cause of human cancers. *Biochim Biophys Acta*. 1996 Oct 9;1288(2):F55-78.



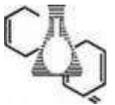
30. Walboomers JM, Jacobs MV, Manos MM, Bosch FX, Kummer JA, Shah KV, Snijders PJ, Peto J, Meijer CJ, Muñoz N. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol.* 1999 Sep;189(1):12-9.
31. Doorbar J, Quint W, Banks L, Bravo IG, Stoler M, Broker TR, Stanley MA. The biology and life-cycle of human papillomaviruses. *Vaccine.* 2012 Nov 20;30 Suppl 5:F55-70.
32. Conway MJ, Meyers C. Replication and assembly of human papillomaviruses. *J Dent Res.* 2009 Apr;88(4):307-17.
33. Doorbar J. The papillomavirus life cycle. *J Clin Virol.* 2005 Mar;32 Suppl 1:S7-15.
34. Hildesheim A, Schiffman MH, Gravitt PE, Glass AG, Greer CE, Zhang T, Scott DR, Rush BB, Lawler P, Sherman ME, et al. Persistence of type-specific human papillomavirus infection among cytologically normal women. *J Infect Dis.* 1994 Feb;169(2):235-40.
35. Koutsky LA, Holmes KK, Critchlow CW, Stevens CE, Paavonen J, Beckmann AM, DeRouen TA, Galloway DA, Vernon D, Kiviat NB. A cohort study of the risk of cervical intraepithelial neoplasia grade 2 or 3 in relation to papillomavirus infection. *N Engl J Med.* 1992 Oct 29;327(18):1272-8.
36. Goldie SJ, Grima D, Kohli M, Wright TC, Weinstein M, Franco E. A comprehensive natural history model of HPV infection and cervical cancer to estimate the clinical impact of a prophylactic HPV-16/18 vaccine. *Int J Cancer.* 2003 Oct 10;106(6):896-904.
37. Cullen AP, Reid R, Campion M, Lörincz AT. Analysis of the physical state of different human papillomavirus DNAs in intraepithelial and invasive cervical neoplasm. *J Virol.* 1991 Feb;65(2):606-12.
38. Hopman AH, Smedts F, Dignef W, Ummelen M, Sonke G, Mravunac M, Vooijs GP, Speel EJ, Ramaekers FC. Transition of high-grade cervical intraepithelial neoplasia to micro-invasive carcinoma is characterized by integration of HPV 16/18 and numerical chromosome abnormalities. *J Pathol.* 2004 Jan;202(1):23-33.



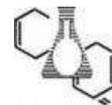
39. Bernard HU, Apt D. Transcriptional control and cell type specificity of HPV gene expression. *Arch Dermatol.* 1994 Feb;130(2):210-5.
40. Thierry F, Yaniv M. The BPV1-E2 trans-acting protein can be either an activator or a repressor of the HPV18 regulatory region. *EMBO J.* 1987 Nov;6(11):3391-7
41. Berumen J, Ordoñez RM, Lazcano E, Salmeron J, Galvan SC, Estrada RA, Yunes E, Garcia-Carranca A, Gonzalez-Lira G, Madrigal-de la Campa A. Asian-American variants of human papillomavirus 16 and risk for cervical cancer: a case-control study. *J Natl Cancer Inst.* 2001 Sep 5;93(17):1325-30.
42. Ordóñez RM, Espinosa AM, Sánchez-González DJ, Armendáriz-Borunda J, Berumen J. Enhanced oncogenicity of Asian-American human papillomavirus 16 is associated with impaired E2 repression of E6/E7 oncogene transcription. *J Gen Virol.* 2004 Jun;85(Pt 6):1433-1444.
43. Dong XP, Stubenrauch F, Beyer-Finkler E, Pfister H. Prevalence of deletions of YY1-binding sites in episomal HPV 16 DNA from cervical cancers. *Int J Cancer.* 1994 Sep 15;58(6):803-8.
44. Chang JL, Tsao YP, Liu DW, Huang SJ, Lee WH, Chen SL. The expression of HPV-16 E5 protein in squamous neoplastic changes in the uterine cervix. *J Biomed Sci.* 2001 Mar-Apr;8(2):206-13.
45. Hsieh CH, Tsao YP, Wang CH, Han CP, Chang JL, Lee JY, Chen SL. Sequence variants and functional analysis of human papillomavirus type 16 E5 gene in clinical specimens. *Arch Virol.* 2000;145(11):2273-84.
46. Bravo IG, Alonso A. Mucosal human papillomaviruses encode four different E5 proteins whose chemistry and phylogeny correlate with malignant or benign growth. *J Virol* 2004;78(24):13613-13626.
47. Schiffman M, Herrero R, Desalle R, et al. The carcinogenicity of human papillomavirus types reflects viral evolution. *Virology* 2005;337(1):76-84.



48. Bedell MA, Jones KH, Grossman SR, et al. Identification of human papillomavirus type 18 transforming genes in immortalized and primary cells. *J Virol* 1989;63(3):1247-1255.
49. Dürst M, Dzarlieva-Petrusevska RT, Boukamp P, et al. Molecular and cytogenetic analysis of immortalized human primary keratinocytes obtained after transfection with human papillomavirus type 16 DNA. *Oncogene* 1987;1(3):251-256.
50. Gewin L, Galloway DA. E box-dependent activation of telomerase by human papillomavirus type 16 E6 does not require induction of c-myc. *J Virol* 2001;75(15):7198-7201.
51. Oh ST, Kyo S, Laimins LA. Telomerase activation by human papillomavirus type 16 E6 protein: induction of human telomerase reverse transcriptase expression through Myc and GC-rich Sp1 binding sites. *J Virol* 2001;75(12):5559-5566.
52. Veldman T, Horikawa I, Barrett JC, et al. Transcriptional activation of the telomerase hTERT gene by human papillomavirus type 16 E6 oncoprotein. *J Virol* 2001;75(9):4467-4472.
53. Vaziri H, Benchimol S. Alternative pathways for the extension of cellular life span: inactivation of p53/pRb and expression of telomerase. *Oncogene* 1999;18(53):7676-7680.
54. Antinore MJ, Birrer MJ, Patel D, et al. The human papillomavirus type 16 E7 gene product interacts with and trans-activates the AP1 family of transcription factors. *EMBO J* 1996;15(8):1950-1960.
- 55.. Gardiol D, Kühne C, Glaunsinger B, et al. Oncogenic human papillomavirus E6 proteins target the discs large tumour suppressor for proteasome-mediated degradation. *Oncogene* 1999;18(40):5487-5496.



56. Glaunsinger BA, Lee SS, Thomas M, et al. Interactions of the PDZ-protein MAGI-1 with adenovirus E4-ORF1 and high-risk papilomavirus E6 oncoproteins. *Oncogene* 2000;19(46):5270-5280.
57. Lee C, Laimins LA. Role of the PDZ domain-binding motif of the oncoprotein E6 in the pathogenesis of human papilomavirus type 31. *J Virol* 2004;78(22):12366-12377.
58. Lee SS, Glaunsinger B, Mantovani F, et al. Multi-PDZ domain protein MUPP1 is a cellular target for both adenovirus E4-ORF1 and high-risk papillomavirus type 18 E6 oncoproteins. *J Virol* 2000;74(20):9680-9693.
59. Dürst M, Gissmann L, Ikenberg H, et al. A papillomavirus DNA from a cervical carcinoma and its prevalence in cancer biopsy samples from different geographic regions. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1983;80(12):3812-3815
60. Kaur P, McDougall JK. HPV-18 immortalization of human keratinocytes *Virology* 1989;173(1):302-310.
61. Iftner T, Elbel M, Schopp B, et al. Interference of papilomavirus E6 protein with single-strand break repair by interaction with XRCC1. *EMBO J.* 2002;21(17):4741-4748.
62. zur Hausen H. Papillomaviruses causing cancer: evasion from host-cell control in early events in carcinogenesis. *J Natl Cancer Inst* 2000;92(9):690-698.
- 63 Riou G, Barrois M, Le MG, et al. C-myc proto oncogene expresión and prognosis in early carcinoma of the cervix. *Lancet* 1987;1(8536):761-763.
64. Bourhis J, Le MG, Barrois M, et al. Prognostic value of c-myc proto-oncogene overexpression in early invasive carcinoma of the cervix. *J Clin Oncol* 1990;8:1789-1796.



65. Stanley MA. Epithelial cell responses to infection with human papillomavirus. *Clin Microbiol Rev.* 2012 Apr;25(2):215-22.
66. Kanodia S, Fahey LM, Kast WM. Mechanisms used by human papillomaviruses to escape the host immune response. *Curr Cancer Drug Targets.* 2007 Feb;7(1):79-89.
67. Park JS, Kim EJ, Kwon HJ, Hwang ES, Namkoong SE, Um SJ. Inactivation of interferon regulatory factor-1 tumor suppressor protein by HPV E7 oncoprotein. Implication for the E7-mediated immune evasion mechanism in cervical carcinogenesis. *J Biol Chem.* 2000 Mar 10;275(10):6764-9.
68. Yuan Y, Cai X, Shen F, Ma F. HPV post-infection microenvironment and cervical cancer. *Cancer Lett.* 2021 Jan 28;497:243-254.
- 69.- José María Bayasa, A. T.-S. (2009). Infección natural y vacunas frente al virus del papiloma humano: papel de los anticuerpos en la protección a largo plazo. *ELSEVIER*, 281-293.
- 70.- Salud, O. P. (2016). Manual VPH - Comunicación. *OMS*, 9-17.
- 71.- Jairo A. Mesa-Arango¹, L. J.-V. (2021). Detección y genotipificación del virus del papiloma. *ABC del laboratorio*, 547-550
- 72.- Guang-Hui Dua, J.-K. W.-J. (2019). Genetic polymorphisms in tumor necrosis factor alpha and interleukin-10. *ELSEVIER*, 154-161.
- 73.- Bárbara Simas Chagas 1, R. d. (2019). Significant association between IL10-1082/-819 and TNF-308 haplotypes and the susceptibility to cervical carcinogenesis in women infected by Human papillomavirus. *Cytokine*, an;113:99-104. doi: 10.1016/j.cyto.2018.06.014. Epub 2018 Jun 20.
- 74.-Teeraporn Chinchai¹, K. H. (2016). Lack of Associations between TNF- α Polymorphisms and. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 953-956.
- 75.- Chong Guo, 1. L.-K.-J.-M. (2018). Significant association between interleukin-10 gene polymorphisms and cervical cancer risk: a meta-analysis. *Oncotarget.*, 12365–12375.