



**Universidad Autónoma de Sinaloa**  
**Facultad de Ciencias Químico Biológicas**  
**Programa Regional de Posgrado en Biotecnología**  
**Maestría en Ciencias con Orientación en Biotecnología**

**Frecuencia de VPH y Polimorfismos del gen *P53* y *MDM2* en Mujeres  
que Acuden a los Servicios de Salud de Sinaloa**

# **T E S I S**

Que presenta

**QFB Carlos Ernesto Mora Palazuelos**

como requisito para obtener el grado de

**Maestro en Ciencias con Orientación en  
Biotecnología de la Salud**

Directores de Tesis

**Dr. José Geovanni Romero Quintana**

**Dr. José Guadalupe Rendón Maldonado**

Culiacán Rosales, Sinaloa, mayo de 2016

## LUGAR DE REALIZACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

La presente investigación forma parte del Programa Regional de Posgrados en Biotecnología de la Facultad de Ciencias Químico Biológicas de la Universidad Autónoma de Sinaloa para que el alumno obtenga el grado de Maestro en Ciencias con Orientación en Biotecnología de la Salud. Cabe la pena resaltar que dicha investigación se realizó en los Laboratorios de Inmunología y Microscopía de la mencionada facultad en colaboración con el Hospital de la Mujer y el Instituto Sinaloense de Cancerología adscritos a los Servicios de Salud de Sinaloa.

Los directores de tesis fueron el Dr. José Geovanni Romero Quintana y el Dr. José Guadalupe Rendón Maldonado, Profesores e Investigadores de Tiempo Completo adscritos a la Facultad de Ciencias Químico Biológicas de la Universidad Autónoma de Sinaloa. Asimismo la Dra. Claudia León Sicairos y el Dr. José Guillermo Romero Navarro quienes fungieron como asesores académicos.

## AGRADECIMIENTOS

En primera instancia al Programa Regional de Posgrado en Biotecnología a través de la Facultad de Ciencias Químico Biológicas de la UAS y al Dr. Cuauhtémoc Reyes Moreno por todo el apoyo proporcionado a lo largo de este posgrado y a CONACyT por la beca otorgada.

Al laboratorio de Microscopía en especial al Dr. Guadalupe Rendón, a MC. Elisa Camacho y todo su equipo que me abrieron las puertas de su laboratorio brindándome su amistad, consejos y apoyo incondicional para poder culminar esta investigación.

A Profapi por el apoyo institucional 2014/170 que permitió realizar exitosamente esta investigación.

Al Cuerpo académico de Inmunogenética y microbiología molecular en especial a los doctores Rosalío Ramos, Maribel Aguilar y Geovanni Romero por abrirme las puertas de sus laboratorios desde hace más de 4 años, brindarme su amistad y hacerme sentir como en casa, sobre todo por su enorme apoyo, consejos y paciencia a lo largo de todos estos años.

A todos mis amigos del laboratorio de inmunología y microbiología molecular, los que están, los que estuvieron y los que vendrán, muchas gracias.

A mi mamá Margarita, y finalmente nada de esto hubiera sido posible sin una persona quien fue pieza clave para poder concluir este posgrado; mi esposa Karla Torres sin tu apoyo y paciencia no hubiera sido posible. Todo esto es por ti y por nuestro hijo Carlos, los amo!!

## ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE FIGURAS.....	v
ÍNDICE DE CUADROS.....	vi
I. RESUMEN .....	1
II. INTRODUCCIÓN.....	5
III. REVISIÓN DE LA LITERATURA.....	14
A. Cáncer.....	14
1. La carga que representa el cáncer.....	15
B. Epidemiología del cáncer .....	17
2. Detección del cáncer.....	24
C. Genética del cáncer.....	28
D. Virus del papiloma humano .....	32
1. Biología molecular del virus del papiloma humano .....	37
2. El ciclo viral del papiloma humano .....	41
E. Cáncer cervicouterino.....	42
F. Antecedentes .....	47
IV. JUSTIFICACIÓN .....	56
V. HIPÓTESIS .....	57
VI. OBJETIVO GENERAL.....	58
A. Objetivo general .....	58
B. Objetivos específicos.....	58
VII. MATERIALES Y MÉTODOS .....	59
A. Materiales.....	59
1. Tipo de estudio.....	59

2. Criterios de inclusión.....	59
3. Criterios de exclusión.....	59
4. Criterios de eliminación.....	59
5. Cuestionario.....	60
6. Toma de muestra.....	60
B. Métodos.....	60
1. Extracción, purificación y cuantificación de DNA.....	60
2. Genotipificación del virus de papiloma humano 16 y 18.....	61
3. Análisis genético.....	62
4. Análisis estadístico.....	63
VIII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	69
A. Genotipificación del VPH.....	69
B. Análisis del polimorfismo Arg72Pro de <i>P53</i> .....	75
C. Análisis del polimorfismo -309T>G de <i>MDM2</i> .....	81
D. Análisis de cofactores asociados a displasia cervicales.....	82
E. Análisis de las frecuencias del VPH y de los polimorfismos en <i>P53</i> y <i>MDM2</i> .....	92
IX. CONCLUSIONES.....	95
X. BIBLIOGRAFÍA.....	97
XI. ANEXOS.....	109

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Página
1. Ubicación del gen <i>P53</i> en su cromosoma y ubicación de p53 en el ciclo de división celular.	33
2. Ubicación del gen <i>MDM2</i> en su cromosoma y esquematización de sus funciones.	35
3. Micrografía del VPH y las 3 regiones de división para su estudio.	38
4. Metodología empleada para genotipificar el papiloma humano.	73
5. Frecuencia de VPH.	74
6. Metodología empleada para identificar las frecuencias génicas de los polimorfismos en <i>P53</i> y <i>MDM2</i> .	78
7. Distribución génica y alélicas del SNP Arg72Pro de <i>P53</i> con relación al tipo de displasia cervical.	80
8. Distribución génica y alélicas del SNP -309T>G de <i>MDM2</i> con relación al tipo de displasia cervical.	85

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Página
1. Programas eficaces en relación con los tipos de cáncer	26
2. Algunos genes supresores de tumores en seres humanos	34
3. Pruebas para detección y diagnóstico de cáncer cervico uterino	46
4. Condiciones de reacción para PCR punto final para genotipificar VPH	64
5. Condiciones de termociclado de PCR punto final para el control interno, VPH 16 y 18	64
6. Secuencia de iniciadores para el control interno, VPH 16 y 18	65
7. Secuencia de iniciadores para polimorfismo Arg72Pro de <i>P53</i> y -309T>G <i>MDM2</i>	65
8. Condiciones de reacción para PCR punto final del polimorfismo Arg72Pro de <i>P53</i>	66
9. Condiciones de reacción para PCR punto final del polimorfismo -309T>G de <i>MDM2</i>	66
10. Programa de termociclado para polimorfismo de <i>P53</i> y <i>MDM2</i>	67
11. Condiciones de digestión enzimática para polimorfismo Arg72Pro de <i>P53</i>	67
12. Condiciones de digestión enzimática para polimorfismo -309T>G de <i>MDM2</i>	68
13. Frecuencia de displasias cervicales	72
14. Asociación entre el tipo de displasia cervical y el genotipo de VPH	74
15. Frecuencia génicas y alélicas del SNP Arg72Pro de <i>P53</i>	79
16. Asociación entre los tipos de displasia cervical y las frecuencias génicas y alélicas del SNP Arg72Pro de <i>P53</i>	79
17. Frecuencia génicas y alélicas del SNP -309T>G de <i>MDM2</i>	84
18. Asociación entre los tipos de displasia cervical y las frecuencias génicas y alélicas del SNP -309T>G de <i>MDM2</i>	84
19. Asociación entre el genotipo de VPH y antecedentes no patológicos	86
20. Asociación entre las edades de las pacientes y la infección de VPH	88
21. Asociación entre el genotipo de VPH y antecedentes patológicos	89

22. Frecuencias génicas del SNP Arg72Pro de <i>P53</i> en los genotipos de VPH	94
23. Frecuencia génicas del SNP -309T>G de <i>MDM2</i> en los genotipos de VPH	94

## I. RESUMEN

El cáncer es un problema de salud que la Organización Mundial de la Salud considera un problema de salud pública mundial, en 2012 murieron de cáncer 8.2 millones de personas. En las mujeres, el cáncer cervicouterino ocupa la quinta posición, los tipos de cáncer de más impacto en la salud pública, son el de mama, cuello uterino y colorrectal. En México, el Instituto Nacional de Estadística y Geografía afirma que el cáncer cervicouterino se posiciona entre las principales causas de morbilidad y mortalidad en las mujeres y en Sinaloa ocupa el tercer lugar en morbilidad y mortalidad.

Los genes implicados en el proceso de carcinogénesis son los proto-oncogenes, oncogenes y los genes supresores de tumores. Existe un gen supresor de tumores muy importante (*P53*) que se encuentra en el brazo corto del cromosoma 17 en humanos, el cual presenta una función reguladora negativa de la proliferación celular y se cree que funciona bloqueando las células en G1 o induciendo apoptosis. Por otra parte el gen *MDM2* ubicado en el brazo largo del cromosoma 12 cuya proteína Mdm2 se une a p53 e inhibe la transcripción génica, impidiendo la detección del ciclo celular dependiente de p53, anulando por lo tanto las propiedades antiproliferativas y apoptóticas de la p53.

La capacidad oncogénica del VPH se centra en dos proteínas oncogénicas E6 y E7. E6 se une a p53 marcándolo vía ubiquitina y degradándolo por proteosoma, E7 se une a la familia pRb interactúan con factores de transcripción de la familia E2F y permitiendo que se lleve la replicación celular incontrolada. Los principales VPH de alto riesgo son el 16 y 18, los cuales son responsables de más del 99% del cáncer cervical, sin embargo existen papilomavirus de bajo riesgo como los genotipos 6 y 11.

Existe controversia entre la asociación de polimorfismos genéticos y el desarrollo de displasias cervicales y cáncer cervical, sin embargo Arg72Pro de *P53* y -309T>G de *MDM2* se han asociado al desarrollo de displasias cervicales y cáncer cervical.

El objetivo de la presente investigación fue determinar la frecuencia del VPH y los genotipos de alto riesgo en pacientes diagnosticadas con displasias cervicales propensas a desarrollar cáncer cervical que acuden a los Servicios de Salud de Sinaloa, así como evaluar la asociación de los

polimorfismos de un solo nucleótido en *P53* y *MDM2* con las patologías. Se trata de un estudio retrospectivo, observacional y transversal con una muestra de 150 pacientes, se utilizó PCR (*nested multiplex*) para la genotipificación del VPH y PCR-RFLP para la identificación de los polimorfismos genéticos en *P53* y *MDM2*.

Los resultados muestran que 81 pacientes (54%) tuvieron una citología vaginal normal (Pap negativo), el resto presentó; LEIBG en 43 pacientes (28.7%), LEIAG 6 (4%), CaCU 3 (2%) y 17 (11.3%) sin diagnóstico. La genotipificación del VPH se observó que 44 (33%) fueron VPH (-) y el 89 (67%) positivas, dentro de los VPH positivos; el VPH 16 presentó 19 (21.3%), el VPH 18 se encontró en 6 (6.7%), la coinfección VPH 16/18 presentó el mismo comportamiento que el VPH 18 y finalmente 58 (65.2%) se encontró VPH de otros genotipos. Las frecuencias génicas de Arg72Pro de *P53* fueron Pro/Pro en 76 (57.1%), Arg/Pro 44 (33.1%) y Arg/Arg 13 (9.8%). La frecuencia alélicas se encontró que 98 (73.7%) presentan guanina y 35 (26.3) citosina.

El polimorfismo -309T>G de *MDM2* se observó que 78 (58.6%) son T/G, 29 (21.8%) son GG y 26 (19.5%) son TT. La frecuencia alélicas se observó 68 (51.1%) presentaron guanina y 65 (48.9%) timina. La asociación entre los tipos de displasia cervical y las frecuencias génicas y alélicas en el polimorfismo en *P53* no evidenció asociación estadísticamente significativa. La distribución génica de las pacientes VPH (+) y VPH (-) para el SNP en *P53* evidenciaron estar en Equilibrio para Hardy-Weinberg (EHW) cada población. La asociación entre las frecuencias génicas y alélicas de *MDM2* y el tipo de displasia cervical no mostraron asociación estadísticamente significativa. La distribución genotípica de las pacientes VPH (+) y VPH (-) mostraron estar en equilibrio y desequilibrio respectivamente. Respecto a antecedentes patológicos y no patológicos y la asociación a displasias cervicales no se observó asociación estadísticamente significativa. Finalmente la asociación entre las frecuencias del VPH y de los SNP de *P53* y *MDM2* no mostraron asociación estadísticamente significativa.

Por todo lo anterior se concluye que a pesar de no encontrar asociación entre las variables de estudio este trabajo es hasta el momento el segundo en analizar la genética de la población en Sinaloa en torno al VPH y el desarrollo de CaCU, mismo que viene a complementar el trabajo de Rios-Tostado y col, (2016).

## ABSTRACT

Cervical cancer is a worldwide public health problem; in 2012 cancer caused 8.2 million of deaths, in women, cervical cancer occupies the fifth position. The most important types of cancer are breast, cervix and colorectal. In Mexico the "Instituto Nacional de Estadística y Geografía" affirms that cervical cancer is one of the main causes of morbidity and mortality in women, and in Sinaloa it occupies the third place in morbidity and mortality.

The genes implicated in the oncogenesis process are the proto-oncogenes, oncogenes and the tumor suppressor genes. One of the most important genes is *P53*, which is located in the short arm of the chromosome 17 in humans. It presents a negative regulation function over cellular proliferation and it is believed to arrests the cells in G1 or induces apoptosis. There are regulators genes of *P53*, like *MDM2*, which is located in the large arm of chromosome 12 its protein binds to p53 and represses the genic transcription, avoiding p53 antiproliferative and apoptotic properties.

The oncogenic capacity of HPV depends of two oncoproteins; E6 and E7. p53 is degraded by proteasome when E6 binds to it. E7 binds to pRb family interacting with the E2F family transcription factors, promoting continuous cell replication. One of the principal types of high risk HPV are 16 and 18, responsible for more than 99% of cervical cancers, nevertheless low risk HPV like 6 and 11 also exist.

There is controversy between the relationship of genetic polymorphisms and development of cervical dysplasia and cancer, Arg72Pro of *P53* and -309T>G of *MDM2* are associated to development of cervical dysplasia and cancer.

The aim of this study was to determine the frequency of high risk HPV in patients with cervical dysplasia susceptible to develop cervical cancer in the Sinaloa's Health Services, and to evaluate the association of the single nucleotide polymorphisms in *P53* and *MDM2* with these pathologies. It was a retrospective, observational and transversal study with 150 patients, using PCR (nested multiplex) for genotyping HPV and PCR-RFLP for the identification of *P53* and *MDM2* SNP's.

The results show that 81 patients (54%) had a normal Pap smear (Pap negative), the rest presented: LSIL 43 (28.7%), HSIL (4%), CaCU 3 (2%) and 17 (11.3%) without diagnosis. For HPV genotyping, 44 (33%) were HPV (-) and 89 (67%) positive, among HPV positive; HPV 16 showed 19 (21.3%), HPV 18 was found in 6 (6.7%), coinfection HPV 16/18 presented the same behavior

that HPV 18 and finally 58 (65.2%) was found HPV other genotypes. The genetic frequencies of Arg72Pro of *P53* were Pro/Pro in 76 (57.1%), Arg/Pro 44 (33.1%) and Arg/Arg 13 (9.8%). In the allelic frequency it was found that 98 (73.7%) have guanine and 35 (26.3) cytosine.

Polymorphism -309T>G *MDM2* was observed that 78 (58.6%) are T/G, 29 (21.8%) are GG and 26 (19.5%) are TT. The allelic frequency was observed 68 (51.1%) they presented guanine and 65 (48.9%) thymine. The association between types of cervical dysplasia and genetic and allelic frequencies in *P53* polymorphism showed no statistical association. Gene distribution of HPV patients (+) and HPV (-) for the SNP in *P53* showed to be in Hardy-Weinberg equilibrium (HWE) for each population. The association between genetic frequencies and allelic of *MDM2* and type of cervical dysplasia showed no statistically significant association. The genotypic distribution of patients HPV (+) and HPV (-) showed to be in equilibrium and disequilibrium respectively. Regarding pathological and non-pathological history and association with cervical dysplasia no statistically significant association was observed. Finally, the association between the frequency of HPV and *P53* and *MDM2* SNPs showed no statistically significant association.

In conclusion, despite of not finding association between the variables this work is the second analyzes of Sinaloa's population genetics about HPV and the CaCU development, thus complementing Rios-Tostado et al, (2016) work.

## II. INTRODUCCIÓN

El cáncer es un problema de salud mundial y la Organización Panamericana de la Salud (PAHO por sus siglas en inglés) (2014a) lo considera como una de las cuatro enfermedades no transmisibles (ENT) más frecuentes internacionalmente. El cáncer no solo afecta al paciente sino también al núcleo familiar, Además de genera un alto costo para los sistemas de salud públicos que tienen incorporado en su régimen la atención a este tipo de enfermedades del hombre contemporáneo.

Derivado de lo anterior es necesario adentrarse al mundo de la célula y conocer brevemente que ocurre dentro de ella para poder comprender la fisiopatología de esta enfermedad, para ello se parte de que el cuerpo humano está compuesto por miles de millones de células que viven de manera conjunta y coordinada con funciones muy específicas para cada tipo celular acorde al órgano, aparato o sistema al que pertenecen además de que presentan una exquisita coordinación que les permite mantener el equilibrio en la biología molecular del hombre. Las células de manera natural crecen y se dividen en nuevas células hasta cumplir su ciclo y morir de manera ordenada.

En ese sentido el cáncer se puede definir por la combinación de dos propiedades características de la célula: cuando éstas en alguna parte del cuerpo comienzan a crecer de manera descontrolada y la capacidad para diseminarse por todo el organismo (ACS, 2013; Becker y col, 2007; Cárdenas-Sánchez y col, 2015; WHO, 2014b). El descontrol en el crecimiento anormal de la célula que no prolifera más que a sus células vecinas, no producirá ningún daño de importancia, pero si su proliferación está fuera de control, producirá una masa tumoral (Alberts y col, 2002). Si estas células neoplásicas permanecen agrupadas en una sola masa tumoral única se le llama tumor benigno; sin embargo, existe el tumor maligno cuando es canceroso, esto se presenta cuando los tejidos adjuntos a la masa tumoral presentan una disminución o pérdida de cadherina E, así como el tumor presenta la capacidad de atravesar la lámina basal para invadir otros tejidos (Alberts y col, 2002), en ese sentido ACS, (2013); Becker y col, (2007); NCI, (2013) llaman a este proceso metástasis, siendo a la capacidad de las células cancerosas de liberarse y viajar a otros órganos a través del torrente sanguíneo o vasos linfáticos para posteriormente colonizar esa región formando un tumor secundario.

Por otro lado la Organización Mundial de la Salud, OMS (WHO por sus siglas en inglés) sostiene que el cáncer anualmente cobra la vida de millones de personas en todo el mundo y los datos epidemiológicos del cáncer a nivel mundial hablan por sí solos (WHO, 2014a). En 2012 murieron de cáncer 8.2 millones de personas. 2) Con relación a las mujeres, el cáncer cervicouterino (CaCU) ocupa la quinta posición entre los tipos de cáncer más frecuentes. En muchos países en desarrollo, el CaCU es el más común. 3) Los tipos de cáncer de más impacto en la salud pública, son el de mama, cuello uterino y colorrectal, mismo que se pueden curar si se diagnostica temprano y son tratados adecuadamente. 4) En los países en desarrollo se podrían evitar hasta un 20% las defunciones por cáncer si se tomaran adecuadamente las medidas preventivas de vacunar a la población contra el virus del hepatitis B (VHB) y virus del papiloma humano (VPH) (WHO, 2014a).

En lo que a la región de las Américas se refiere la OPS (2014a) sostiene que el CaCU es la segunda causa más frecuente de cáncer en las mujeres de América Latina y el Caribe, donde fue responsable de más de 35,600 muertes en el 2012 y en Centroamérica fue el cáncer que más vidas cobro. En ese sentido las tasas de mortalidad de CaCU son 3 veces más altas en América Latina y el Caribe que en Norteamérica debido a la desigualdad en los servicios de salud (PAHO, 2014), por tal motivo la PAHO (2014) afirma que herramientas como la vacuna contra el VPH y el tamizaje displasias cervicales o invasoras son esenciales para prevenir casi 83,100 nuevos casos de CaCU diagnosticados anualmente en el continente Americano.

En México el Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI) afirma que el cáncer es la tercera causa de muerte y se estima que cada año se detectarán 128 mil nuevos casos (INEGI, 2014b). En las mujeres de 20 años y más las neoplasias en órganos genitales fue la segunda causa de morbilidad con un 16.7% (principalmente en cuello uterino y útero), y en lo que a las causas de mortalidad en las mujeres del mismo grupo de edad se refiere, el cáncer en órganos genitales ocupa el tercer lugar (13.43 por cada 100 mil habitantes) (INEGI, 2014b).

En lo que al estado de Sinaloa compete se estima que el cáncer en órganos genitales ocupa el tercer lugar en morbilidad en las mujeres de 20 años y más con 11.6% (principalmente el CaCU y del útero) y en lo que a las tasas de mortalidad se refiere en las féminas del mismo grupo de

edad el cáncer en órganos genitales ocupa la tercera posición con 9.66 por cada 100 mil habitantes (siendo principalmente CaCU y del útero) (INEGI, 2014a).

Aunado al problema de salud pública que evidenciaron las autoridades internacionales y nacionales la PAHO (undated) afirma que en América en el 2009 hubo 2.8 millones de nuevos casos de cáncer cuyo costo fue valorado en 153 mil millones de dólares al año siguiente del diagnóstico (tomando en cuenta los costos médicos, no médicos y las pérdidas en productividad) sin considerar el costo de tamizaje y prevención del cáncer, los ingresos perdidos a causa de la mortalidad y costos de tratamientos futuros. En tanto al impacto económico que representa el cáncer en México el Banco Mundial estima que el producto interno bruto (PIB) en el 2013 fue de 1,261 billones de dólares, y que en ese mismo año el gasto total en salud como porcentaje del PIB en México fue del 6.2%, es decir 78.18 billones de dólares. Con base en los datos económicos desafortunadamente es insuficiente la aportación del gobierno federal para hacer frente a esta enfermedad que mata a miles de personas en México, por ello los programas para la prevención y el control de las ENT deben de tomar en consideración los factores sociales y conductuales de cada país y región en particular. Por tal motivo las políticas públicas en materia de salud deben de ir encaminadas a proteger y apoyar a las personas más pobres y marginadas para hacer frente a las ENT con estricto apego a un enfoque de género intercultural. Los costos por mantener a los pacientes con ENT son elevados, pero la falta de acción, educación y prevención a la sociedad y la capacitación y control de dichas enfermedades a los trabajadores del sector salud es una inversión que tiene que ver los líderes políticos y autoridades sanitarias como altamente rentable a largo plazo.

Por otro lado en los últimos años se han realizados innumerables aportaciones tecnológicas y científicas para desarrollar nuevas y mejoradas terapias génicas y farmacológicas para hacerle frente al cáncer además de que se han venido mejorando las estrategias de diagnóstico y el eslabón del primer nivel en medicina preventiva; la promoción a la salud por parte del equipo de salud. En ese sentido todos los investigadores y clínicos afirman que para un diagnóstico del cáncer definitivo y más confiable es la observación al microscopio de la masa tumoral; biopsia.

Para la detección del cáncer diversos organismos e instituciones de salud (ACS, 2013; Cárdenas-Sánchez y col, 2015; WHO, 2014b) recomiendan una detección temprana, esto debido a que es

posible prevenirlo en poco más 30% del cáncer (WHO, 2014b). Asimismo las actividades de detección temprana tienen dos componentes: a) Conocer los signos y síntomas iniciales antes de que este empeore e inicie el proceso de metástasis en dado caso. b) Promover los programas de detección temprana en lugares de escasos recursos donde en la mayoría de las neoplasias se detectan en fases muy avanzadas y donde no existen programas de detección oportuna (De la Garza-Salazar y Juárez-Sánchez, 2014).

Para que se lleve a cabo la oncogénesis esta puede ser causado por factores genéticos o ser consecuencia de agentes multifactoriales. Por tal motivo los genes implicados en el proceso de carcinogénesis; los proto-oncogenes, oncogenes y los genes supresores de tumores. Para ello se debe saber que existen dos maneras de producir la mutación que llevará a la carcinogénesis y posteriormente a la metástasis: 1) El primero consiste en excitar un gen estimulador llamado oncogén, mismo que se define como un gen que presenta un estímulo o alteración el cual promueve la oncogénesis (Alberts y col, 2002; Becker y col, 2007). El alelo normal de los oncogenes se les conoce como proto-oncogén, el cual no son genes dañinos que están esperando el estímulo para iniciar la carcinogénesis, por el contrario son genes normales que contribuyen de manera importante en la regulación del crecimiento celular y la supervivencia (Becker y col, 2007). El término proto-oncogén solamente hace alusión cuando estos genes sufren una alteración en su actividad y estructura por varios tipos de mutaciones, la forma mutante de estos genes (oncogenes) propician la carcinogénesis. 2) Posteriormente es necesario inactivar las dos copias del gen inhibidor o delecionaras, siendo recesivo estos tipos de genes, a los cuales se les denominan genes supresores de tumores (Becker y col, 2007).

Por otro lado se conoce como gen supresor de tumor aquel que mediante la inactivación o pérdida del mismo inicia el proceso de carcinogénesis (Becker y col, 2007; NCI, 2014b). Un gen supresor de tumores que cumple una función muy importante es el gen *P53* se encuentra ubicado en el brazo corto del cromosoma 17 y actúa inhibiendo la progresión de las células de la fase G1 a la fase S en el ciclo celular. Presenta una función reguladora negativa de la proliferación celular y se cree que funciona bloqueando las células en G1 o induciendo apoptosis (Cairns y col, 2011; Poblete, 2001). Por lo tanto al inactivar al gen *P53* significa un riesgo muy grande porque no se tendría la capacidad de bloquear la fase S a la célula en formación que

presente una mutación y en segunda instancia porque permitirá que futuras mutaciones en el DNA se generen cuando las primeras células salgan de la fase M del ciclo celular. Asimismo existen genes reguladores de *P53* por ejemplo el gen *MDM2* (por sus siglas en inglés: murine double minute 2) ubicado en el brazo largo del cromosoma 12 (Díaz-Rubio y García-Conde, 2000), el cual codifica la proteína Mdm2, misma que se une a p53 e inhibe la transcripción génica, impidiendo la detección del ciclo celular dependiente de p53, anulando por lo tanto las propiedades antiproliferativas y apoptóticas de la p53, permitiendo que se desarrolle la carcinogénesis (Flores y Sobrevia, 2000).

Derivado de lo anterior es importante mencionar que un polimorfismo genético es una variación en la secuencia de un lugar determinado del ácido desoxirribonucleico, ADN (DNA por sus siglas en inglés) en por lo menos el 1% de una población en particular. Un polimorfismo puede consistir en la sustitución de por lo menos una base nitrogenada o en la repetición de una secuencia determinada de DNA. Existen diferentes tipos de polimorfismos por ejemplo el de un solo nucleótido, polimorfismos de longitud de fragmentos de restricción y polimorfismos en número de repetición en tándem; SNP, RFLP y VNTR (por sus siglas en inglés) respectivamente, los cuales pueden asociarse al desarrollo de ciertos tipos de cáncer.

Por otro lado al hablar de CaCU es indispensable conocer el VPH, el cual es un virus DNA tumoral transmitido por vía sexual siendo el principal factor etiológico de morbilidad y mortalidad de CaCU, siendo el quinto tipo de cáncer más frecuente en la mujer a nivel mundial (WHO, 2014a). Diversas investigaciones aseveran que las displasias cervicales conocidas como neoplasia intraepitelial cervical (NIC) grado 2 y 3 y que actualmente se clasifican como lesión escamosa intraepitelial de alto grado (LEIAG) según la clasificación de Bethesda en el 2001, son las responsables de más del 99% de todos los tipos de CaCU (Alemany y col, 2014; Bencomo-Alvarez y col, 2012; Lewis, 2004). Los genotipos de VPH se clasifican en alto riesgo (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45 por mencionar algunos) y en bajo riesgo (6, 11, 42, 43 y 44 entre los más frecuentes) (Lewis, 2004; Lizano y col, 2009; Rivera y col, 2002).

Los principales factores de riesgo de contagio por VPH son: a) La promiscuidad (INC, 2014), b) Inicio de relaciones sexuales a temprana edad (INC, 2014; López y Lizano, 2006; Rivera y col, 2002), c) Contar con historial de otras infecciones de transmisión sexual (ITS) (López y Lizano,

2006; Rivera y col, 2002), d) Resultado de prueba de prueba de Papanicolaou (Pap) anormales; verrugas genitales (López y Lizano, 2006), e) Pareja sexual con cáncer de cérvix o en pene, f) La edad, g) Persistencia viral, h) Uso de anticonceptivos orales (CDC, 2011; INC, 2014; Lewis, 2004; Rivera y col, 2002), i) Coinfección en cérvix con otros virus; herpes simple (HVS) tipo II, citomegalovirus (CMV) herpes humano tipo 6 y 7 (HHV-6) (López y Lizano, 2006) y j) Carga viral; sobre todo el genotipo 16 respecto a otros y la predisposición genética (López y Lizano, 2006).

En ese sentido se conocer que el VPH pertenece a la familia *Papillomaviridae*, recientemente reconocida como distinta de los polyomavirus, estos virus infectan el epitelio escamoso de más de 70 especies diferentes de mamíferos, aves y reptiles (Lizano y col, 2009). El VPH tiene una cápside de 72 capsómeros con un diámetro aproximado de 55 nm, cada capsómero están formados por dos proteínas estructurales: L1 en mayor proporción y L2.

Por otro lado el genoma del VPH es una molécula de DNA circular de doble cadena de 8 Kb aproximadamente, mismo que para su estudio divide en 3 regiones; la región larga de control (LCR) carece marco de lectura pero contiene múltiples elementos de respuesta que gobiernan la expresión génica y la replicación del VPH, la región que corresponde a las proteínas tempranas (E<sub>1</sub> a E<sub>8</sub>) y la región correspondiente a las regiones tardías (L<sub>1</sub> y L<sub>2</sub>) (García-Tamayo y col, 2010; López y Lizano, 2006; Rivera y col, 2002).

Una de las proteínas que juegan un papel muy importante en el VPH es la E6 de aproximadamente 450 a 500 pb que codifica para la proteína E6 de casi 150 aminoácidos (aa). López (2006) sostiene que por sí sola la proteína E6 presenta una capacidad oncogénica débil, cooperando con la proteína E7 que en conjunto confieren una capacidad de transformarse el virus y volverse altamente infeccioso. E6 se expresa de manera muy rápida durante un contacto con el VPH cuyo papel central es inhibir la función de la proteína 53 a través de su degradación por la vía de la ubiquitina (López y Lizano, 2006).

El gen E7 de aproximadamente 300 a 320 pb codifica para la proteína E7 de aproximadamente 100 aa. E7 presente la más alta capacidad de transformarse y actúa sobre la unión a proteínas supresoras de tumores de la familia pRb y estos a su vez interactúan con factores de transcripción de la familia E2F (Lizano y col, 2009).

El CaCU también conocido como cáncer uterino o de cuello uterino se puede definir como el crecimiento incontrolado de células y tejidos anormales en el cuello uterino, siendo un tipo de cáncer que crece lentamente. En el caso de presentar sintomatología se ha observado sangrado vaginal, expulsión de flujo vaginal inusual, dolor pélvico, dolores durante las relaciones sexuales (CDC, 2011; INC, 2014). En ese sentido existen diferentes métodos para la detección y diagnóstico del CaCU entre los que destacan el Pap, Pap en fase líquida, la prueba de VPH, la colposcopia y el análisis patológico de la biopsia entre otros.

Por tal motivo se requiere seguir trabajando en el diagnóstico previo al desarrollo de lesiones premalignas, considerada por la WHO (2014a) como una enfermedad de salud pública a nivel mundial, sobre todo cuando esta patología puede disminuir en más del 80% su morbilidad y mortalidad al llevar a cabo los programas de detección oportunos como la prueba de Pap (INC, 2014).

Desafortunadamente ha existido discrepancias en la nomenclatura que se le han venido asignando a las displasias cervicales, por ello que uno de los sistemas de clasificación que sigue ampliamente utilizado es el propuesto por Richard en 1967 (Lacruz-Pelea, 2003), donde propuso el término de neoplasia intraepitelial cervical (NIC) con tres grados progresivos (NIC-1, NIC-2 y NIC-3) incluyendo en el grado 3 a displasias graves y al carcinoma *in situ* (CIS), clasificación que ha sido considerada bastante adecuada por más de 20 años y sigue siendo utilizada en la práctica, desafortunadamente numerosas publicaciones a nivel internacional señalaron el hecho de la baja seguridad diagnóstica tanto en material cito como histológico que presenta Richard, por tal motivo Lacruz-Pelea (2003) sostiene que diversos organismos internacionales, científicos y profesores en el Instituto Nacional del Cáncer en Estados Unidos de América en Bethesda (Maryland) en 1988 crearon un nuevo sistema de nomenclatura para informes citológicos y ginecológicos (Sistema o clasificación de Bethesda) contemplado para células preneoplásicas el término lesiones escamosas intraepiteliales de bajo o alto grado (LEIBG o LEIAG respectivamente) donde las LEIBG contemplan a las NIC-1, y NIC-2/NIC-3 consideradas LEIAG.

Por todo lo anterior se llevó a cabo una extensa revisión de la literatura en tanto a la genotipificación del VPH y a los SNP en el codón 72 del gen *P53* y a 309 de *MDM2* asociadas al desarrollo de displasias cervicales y al CaCU a nivel internacional destacan las siguientes: los

genotipos del VPH 16 y 18, considerados de alto riesgo son responsables de más del 99% del CaCU (Alemany y col, 2014; Bencomo-Alvarez y col, 2012; Lewis, 2004), además diversos investigadores (Lewis, 2004; Lizano y col, 2009; Rivera y col, 2002) afirman que existen otros virus de alto riesgo: 31, 33, 35, 39, 45 entre otros. Con respecto a los resultados anteriores Illades-Aguilar y col, (2009) genotipificó en Guerrero México al VPH observando que éste se encontró en el 100% de las pacientes con CaCU y el 35.5% de los controles, además la distribución del VPH observada fue HPV 16 (66.8%), 18 (9%) entre otros genotipos del papilomavirus. Los factores de riesgo significativos encontrados con el CaCU se asocian a la edad de la primera relación sexual <16 años (RM = 9,6) y contar con 3 o más gestas (RM = 16). Las conclusiones son que el genotipo 16 es por mucho el más frecuente en el CaCU, siendo los VPH 16 y 18 los responsables de 75.8% de los casos de CaCU y para las infecciones de VPH de alto riesgo (NIC 2/3) representan el 94.7%.

Respecto a la asociación entre los SNP en *P53* y *MDM2* y el desarrollo de displasias cervicales Bertuccio y col, (2011) se propusieron aumentar la evidencia al correlacionar el SNP del codón 72 del gen *P53* y la integración de VPH en el genoma de la célula huésped. Los resultados indicaron que el 20% del total de las muestras analizadas fueron positivas para VPH, donde no hubo diferencias significativas en la distribución de los homocigotos Pro y Arg, concluyeron que una diferencia estructural en el codón 72 del gen *P53* no es un factor de riesgo suficiente para la el desarrollo de displasias cervicales.

Por otro lado Nunobiki y col, (2011) afirman que un SNP -309T>G de *MDM2* aumenta la afinidad del promotor generando una mayor concentración de Mdm2 y por ende una alteración o inactivación de la vía del *P53*, además sostienen que el SNP -309T>G de *MDM2* se produce con una frecuencia relativamente alta en la población en general y se ha relacionado con displasias cervicales y CaCU.

Recientemente Rios-Tostado y col, (2016) reportaron en Sinaloa, que el grupo de mujeres con LEIAG estaban infectadas principalmente por VPH 16 (60.72%) comparados con LEIBG con un 39.28% (OR=3.14 y  $p=0.037$ ). VPH 18 estuvo presente en 68.96% en LEIBG y 31.04% en LEIAG (OR=0.24 y  $p=0.006$ ). Respecto al polimorfismo de P53 (Arg72Pro) se observó que el genotipo Pro/Arg fue el genotipo más común en pacientes con LEIBG vs LEIAG (OR=0.27,  $p=0.00$ ). Por lo

tanto concluyen que el homocigoto para Arg muestra una mayor susceptibilidad a la infección de VPH 16, y que estos presentan cerca de 12 veces una probabilidad de riesgo a desarrollar LEIAG comparado con las heterocigotos y el VPH 18.

Pese a estos datos la controversia tanto internacional como en el ámbito nacional en torno a la asociación de los SNP en *P53* y *MDM2* y el desarrollo de displasias cervicales sigue presente, Por lo que el objetivo central de la presente investigación fue determinar la frecuencia del VPH y los genotipos de alto riesgo en pacientes diagnosticadas con displasias cervicales propensas a desarrollar CaCU atendidas en el Hospital de la Mujer (HM) y el Instituto Sinaloense de Cancerología (ISC) adscritos a los Servicios de Salud de Sinaloa (SSA) así como evaluar la asociación de los SNP de *P53* y *MDM2* con dichas displasias cervicales y el desarrollo de CaCU.

### III. REVISIÓN DE LA LITERATURA

#### A. CÁNCER

El cuerpo humano está compuesto por miles de millones de células que viven de manera conjunta y coordinada, cada una con funciones muy específicas que mantienen el equilibrio en la biología molecular del hombre. Las células de manera natural crecen y se dividen en nuevas células hasta cumplir su ciclo y morir de manera ordenada.

En ese sentido la historia dice que el término de cáncer (significa «cangrejo» en latín, fue acuñado por Hipócrates en el siglo V a.C.) (Becker y col, 2007), se puede definir por la combinación de dos propiedades características de la célula: cuando ésta en alguna parte del cuerpo comienzan a crecer de manera descontrolada y la capacidad para diseminarse por todo el organismo (ACS, 2013; Becker y col, 2007; Cárdenas-Sánchez y col, 2015; WHO, 2014b). Este descontrol en el crecimiento anormal de la célula que no prolifera más que a sus células vecinas normales, no producirá ningún daño de importancia, pero si su proliferación está fuera de control, producirá una masa tumoral o neoplasma (Alberts y col, 2002). Si estas células neoplásicas permanecen agrupadas en una sola masa tumoral única se le llama tumor benigno, el cual por lo general puede ser extirpado mediante una cirugía restableciendo la salud del paciente por completo (Becker y col, 2007).

Por otro lado se considera un tumor canceroso cuando es maligno, es decir los tejidos adjuntos a la masa tumoral presentan una disminución o pérdida de cadherina E, molécula de adhesión entre células epiteliales, así como el tumor presenta la capacidad de atravesar la lámina basal para invadir otros tejidos, gracias a la producción de enzimas proteolíticas que degradan la matriz extracelular (Alberts y col, 2002), por ello diversos académicos e investigadores (ACS, 2013; Becker y col, 2007; Luque-Cabrera y Herráez-Sánchez, 2012; NCI, 2013) le llaman al proceso antes descrito como metástasis, siendo a la capacidad de las células cancerosas de liberarse y viajar a otros órganos a través del torrente sanguíneo o vasos linfáticos para posteriormente colonizar esa región formando un tumor secundario.

Las alteraciones antes mencionadas son resultado de factores genéticos en el paciente así como también puede ser propiciado por la interacción de 3 factores o agentes externos tales como a)

Factores físicos: las radiaciones ultravioletas e ionizantes, b) Factores químicos: los asbestos, los componentes del humo del tabaco, las aflatoxinas (contaminantes de los alimentos) o el arsénico (contaminantes del agua para consumo) y c) Factores biológicos: interacciones causadas por virus, bacterias o parásitos (WHO, 2014b).

Por ello la WHO (2014a) afirma que es posible reducir más del 30% de las defunciones por cáncer al evitar los siguientes factores de riesgo: el consumo de tabaco, exceso de peso o la obesidad, mala alimentación y el déficit en el consumo de frutas y hortalizas, sedentarismo, consumo de alcohol, infecciones causadas VPH y el virus de la hepatitis B (VHB), contaminación del aire en las ciudades, contaminación por la quema de combustibles sólidos en los hogares. En ese sentido la WHO asevera que el consumo del tabaco es el factor de riesgo más importante y es la causa de aproximadamente un 22% de las muertes a nivel mundial por cáncer en general y cerca del 71% de las muertes mundiales por cáncer de pulmón (WHO, 2014b).

El cáncer se clasifican de acuerdo al tejido y al tipo de célula de cual se originan (Alberts y col, 2002). El cáncer que se produce en las células epiteliales se denomina carcinomas; el que procede del tejido conjuntivo o de las células musculares se les conoce como sarcomas. El cáncer que deriva de las células hematopoyéticas se les llaman leucemias y el que procede del sistema inmunitario es conocido como linfoma. Así como existe una serie de nombres para tumores malignos, Alberts y col, (2002) sostiene que también existe una serie de nomenclatura para los tumores benignos, donde el adenoma es un tumor epitelial con una organización granular, cuando este tumor es maligno se le denomina adenocarcinoma; el tumor benigno del cartílago se le conoce como condroma y el tumor maligno como condrosarcoma. De tal modo que el 90% aproximadamente del cáncer en el hombre son carcinomas debido principalmente a dos razones (Alberts y col, 2002); la primera por ser el órgano donde se produce la mayor proliferación celular del cuerpo y en segundo lugar por ser el órgano que está más expuesto a diversos agentes que pueden dañar el DNA y favorecer la oncogénesis.

#### 1. La carga que representa el cáncer

El cáncer además del terrible problema de salud físico y psico-emocional que envuelve al paciente y al núcleo familiar, representa también una carga muy grande para la sociedad y los

estados. Asimismo la PAHO sostiene que el cáncer lo considera como un problema de salud pública a nivel mundial representando una enorme carga económica siendo referido por los líderes empresariales como un riesgo importante de pérdidas económicas a nivel mundial (PAHO, undated).

Por ejemplo en el año 1990 los casos nuevos de cáncer fueron de 6 millones y la mortalidad fue de 4 millones a nivel mundial, para el 2004 había más de 10 millones de casos nuevos y la mortalidad fue mayor a 6 millones (OMS, 2004). 10 años después, la WHO afirma que en el 2012 los casos anuales aumentaron a 14 millones y la mortalidad del cáncer a nivel mundial fue de 8.2 millones de defunciones y estima que para el año 2034 los casos nuevos de cáncer aumentarían a 22 millones (WHO, 2014b). Como se aprecia esta terrible ENT está enfermando cada vez a más número de personas imposibilitándolas a llevar una vida normal hasta llegar a la muerte en muchos casos y generando además un alto costo para sus familias, empresarios, sociedad y los estados en general.

En ese sentido la PAHO (undated) afirma que en América en el 2009 hubo 2.8 millones de nuevos casos de cáncer cuyo costo fue valorado en 153 mil millones de dólares al año siguiente del diagnóstico (tomando en cuenta los costos médicos, no médicos y las pérdidas en productividad) sin considerar el costo de tamizaje y prevención del cáncer, los ingresos perdidos a causa de la mortalidad y costos de tratamientos futuros. Por lo anterior la PAHO concluyó que los tipos de cáncer más costosos fueron el de pulmón; con un costo anual de 31 mil millones de dólares, el cáncer de próstata; 18 mil millones de dólares y el de mama con 17 mil millones (PAHO, undated). Se pronostica que para el 2020 el número de casos se incrementen un 30% aproximadamente (3.6 millones de nuevos casos) generando pérdidas humanas y económicas en la región de las Américas.

Aunado a lo anterior, el cáncer comúnmente se asocia con una severa preocupación financiera para el paciente y el núcleo familiar, lo anterior se sostiene con base en un estudio que se llevó a cabo en la ciudad de Washington (NCI, 2014a), donde se compararon dos grupos; un grupo de 197,840 pacientes con cáncer diagnosticado y un grupo control con el mismo número de participantes sin cáncer distribuidos en el mismo rango de edad, sexo y ciudad. Los resultados

indican que los pacientes de cáncer fueron 2.6 veces más propensos a declararse en quiebra que los controles sin cáncer ( $P < 0.05$ ).

En México el BM (2016) afirma que las estimaciones del producto interno bruto (PIB) para el 2013 fueron de 1,261 billones de dólares, en ese mismo año el gasto total en salud como porcentaje del PIB en México fue del 6.2%, es decir 78.18 billones de dólares (BM, 2016). Con base en lo anterior desafortunadamente es insuficiente la aportación del gobierno federal para hacer frente a esta enfermedad que mata a miles de personas en México, por ello los programas para la prevención y el control de las ENT deben de tomar en consideración los factores sociales y conductuales de cada país y región en particular. Por tal motivo las políticas públicas en materia de salud deben de ir encaminadas a proteger y apoyar a las personas más pobres y marginadas para hacer frente a las ENT con estricto apego a un enfoque de género intercultural. Los costos por mantener a los pacientes con ENT son elevados, pero la falta de acción, educación y prevención a la sociedad y la capacitación y control de dichas enfermedades a los trabajadores del sector salud es una inversión que tiene que ver los líderes políticos y autoridades sanitarias como altamente rentable a largo plazo.

## B. EPIDEMIOLOGIA DEL CÁNCER

A continuación se describe los principales datos epidemiológicos que presenta el cáncer, para ello la presente investigación se apoyó en el método deductivo, es decir se analizó la epidemiología del cáncer a nivel general y en un ámbito internacional para posteriormente ir acotando el estudio en los principales datos epidemiológicos en el continente Americano, continuando a través de una minuciosa búsqueda en México y finalmente en los principales datos del cáncer en estado de Sinaloa.

Derivado de lo anterior los principales datos estadísticos del cáncer a nivel mundial son los siguientes (WHO, 2014a): 1) Hay más de cien tipos de cáncer, siendo vulnerable cualquier parte del cuerpo (CDC, 2013; WHO, 2014a). 2) En el 2012 murieron de cáncer 8.2 millones de personas. 3) Más del 70% de las defunciones a causa del cáncer se producen en África, Asia, América Central y Sudamérica. 4) A nivel mundial los cinco tipos de cáncer más comunes en el hombre son, por orden de frecuencia, los de pulmón, hígado, estómago, colorrectal y esófago. 5)

Con relación a las mujeres, los cinco tipos más comunes de cáncer, en orden de frecuencia son, el de mama, pulmón, estómago, colorrectal y cuello uterino. En muchos países en desarrollo, el cáncer cervicouterino es el más común. 6) El consumo de tabaco es la principal causa prevenible de cáncer en el mundo, siendo consecuencia del 20% de las defunciones por esta enfermedad. 7) La quinta parte de todos los tipos de cáncer registrados a nivel mundial se deben a infecciones crónicas como por ejemplo el VPH que causa cáncer de cuello uterino y el VHB que causa cáncer hepático. 8) Los tipos de cáncer de más impacto en la salud pública, como los de mama, cuello uterino y colorrectal se pueden curar si se diagnostica temprano y son tratados adecuadamente. 9) Finalmente más del 30% del cáncer es prevenible principalmente evitando el consumo de tabaco, alimentándose adecuadamente, realizando actividades físicas y disminuyendo el consumo del alcohol (OPS, 2014; WHO, 2014b). En el caso de los países en desarrollo, se podrían evitar hasta un 20% las defunciones por cáncer si se tomaran adecuadamente la medida preventiva de vacunar a la población contra el VHB y VPH (WHO, 2014a).

Con base en lo mencionado la agencia especializada para el cáncer de la WHO la Agencia Internacional para la Investigación en Cáncer (IARC por sus siglas en inglés) asevera que durante el 2012 además de las 8.2 millones de personas que fallecieron a causa del cáncer se diagnosticaron 14.1 millones de nuevos casos de cáncer (IARC, 2013). En ese sentido la IARC (2013) afirma que los tipos de cáncer más comúnmente diagnosticados a nivel mundial sin distinción de sexo son el cáncer de pulmón (1.8 millones, que representan el 13.0% del total), el cáncer de mama (1.7 millones, 11.9% del total diagnosticados) y el cáncer colorrectal (1.4 millones, 9.7% del total diagnosticados). Respecto las causas de muerte más comunes por cáncer a nivel mundial y sin distinción de sexo durante el 2012 fueron el de pulmón (1.6 millones de defunciones, representando el 19.4% del total de defunciones), el cáncer de hígado (0.8 millones de defunciones, 9.1% del total) y el cáncer en el estómago (0.7 millones de defunciones, 8.8%) (IARC, 2013). Las proyecciones de IARC (2013) para el año 2025 prevén un incremento sustantivo a 19.3 millones de nuevos casos de cáncer debido principalmente al crecimiento y envejecimiento de la población mundial.

Respecto a las estadísticas epidemiológicas del cáncer en el continente Americano se consultó a la PAHO donde los datos relevantes son los siguientes (PAHO, 2014): 1) Se registraron 2.8 millones de casos nuevos de cáncer y 1.3 millones de defunciones durante el 2012. 2) Las proyecciones indican que el número de muertos en las Américas a causa del cáncer aumentará a 2.1 millones en el 2030. 3) Aproximadamente el 47% de las defunciones por cáncer en las Américas durante el 2012 se produjeron en América Latina y el Caribe. 4) Las tasas de mortalidad por cáncer cervicouterino son 3 veces más altas en América Latina y el Caribe que en Norteamérica, lo anterior por la gran desigualdad en los servicios de salud. 5) Anualmente mueren más de 260,200 personas en las Américas a consecuencias del cáncer de pulmón el cual está muy asociado al consumo del tabaco. 6) Herramientas como la vacuna contra el VPH y el tamizaje de lesiones precancerosas o invasoras son esenciales para prevenir casi 83,100 nuevos casos de cáncer cervicouterino diagnosticados cada año.

Por tal motivo la PAHO (2014a) da a conocer información importante producto de la problemática antes descrita:

- i. De las 1.3 millones muertes en el 2012 a causa del cáncer en las Américas el 47% de produjeron en América Latina y el Caribe.

Las tres principales causas de defunción en el hombre son de pulmón, próstata y colorrectal y en las mujeres de pulmón, de mama y colorrectal. Los tipos de cáncer más común varían según las subregiones por ejemplo: el cáncer de pulmón es la principal causa de muerte por cáncer en mujeres de Norteamérica mientras que el cáncer cervicouterino es el cáncer que causa más defunciones en Centroamérica.

- ii. El número de casos nuevos de cáncer está incrementándose en las América, lo cual se debe principalmente al crecimiento y envejecimiento poblacional y al cambio en el estilo de vida.

Las tendencias de la PAHO (2014a) entre el 2012 y el 2030 son que el número de casos nuevos diagnosticados de cáncer se incremente a un 67% en América Latina y el Caribe y para Norteamérica se incremente un 41%. Las tendencias indican que en el 2030 se diagnosticarán 1.8 millones de casos nuevos de cáncer en América Latina y el Caribe.

- iii. Es posible reducir una tercera parte de todos los tipos de cáncer de evitar los factores de riesgo mencionados por la WHO (2014).

El cáncer de pulmón como afirma la PAHO (2014a) cobra la vida de casi 260,200 personas, de no intensificarse los esfuerzos en la lucha contra el tabaco, esa tendencia continuará hasta el 2030 cuando se pronostica que más de 445,600 personas fallezcan.

- iv. El cáncer cervicouterino es la segunda causa más frecuente de cáncer en las mujeres de América Latina y el Caribe, donde fue responsable de más de 35,600 muertes durante el 2012.

Por otro lado el cáncer de hígado causó casi 57,900 muertes en las Américas, donde en la mayoría de los casos este tipo de cáncer es ocasionado por el VHB y por el VHC, es por ello la importancia de los programas de vacunación.

Por todo lo anterior y a manera de síntesis la PAHO división Uruguay dio a conocer información clave donde destaca los siguientes puntos (OPS, 2013a):

Respecto a la motilidad por todos los tipos de cáncer la PAHO (2013) asevera lo siguiente: 1) Las tasas más elevadas de mortalidad por cáncer en los países de las Américas se ubican en Trinidad y Tobago, Cuba y Argentina. 2) México, Nicaragua y El Salvador presentan las tasas de mortalidad por cáncer más bajas de la región.

En relación a los tipos específicos de cáncer la PAHO (2013) sostiene: 1) En la mayoría de los países de las Américas (22 países), el cáncer de mama es la principal causa de muerte por cáncer en las mujeres. 2) En un número considerable de los países de la región (18 países), el cáncer de próstata es la causa principal de muerte por cáncer en los hombres. 3) El cáncer de estómago es la principal causa de muerte por cáncer en ambos sexos en El Salvador, Guatemala, Honduras, Ecuador y Perú y solo en hombres en Bolivia, Chile y Colombia. 4) El cáncer cervicouterino es la principal causa de muerte por cáncer en las mujeres de Honduras, Nicaragua y Bolivia.

Respecto a las tendencias en las tasas de mortalidad entre 2000 y 2010 la PAHO (2013) afirma: 1) La mortalidad por cáncer en general está disminuyendo en nueve países; Argentina, Brasil, Canadá, Chile, Estados Unidos, México, Nicaragua, Paraguay y Venezuela, mientras que está incrementándose de manera lenta en Cuba, y el resto de los países de la región se mantiene

estable. 2) La mortalidad por cáncer de pulmón está incrementándose en América del Sur sobre todo en Argentina, Chile, Colombia y Perú. 3) La mortalidad por cáncer de pulmón está disminuyendo en ambos sexos en Canadá, Estados Unidos, México y Nicaragua. 4) Los índices de mortalidad por cáncer de mama están disminuyendo en Argentina, Canadá y Estados Unidos, mientras se incrementan en Costa Rica y Ecuador. 5) Las tasas de mortalidad por cáncer cervicouterino ha disminuido significativamente en 11 países; Brasil, Canadá, Chile, Colombia, Costa Rica, El Salvador, Estados Unidos, México, Nicaragua, Panamá y Venezuela. 6) Las defunciones por cáncer de próstata están descendiendo en los países; Argentina, Canadá, Estados Unidos, México, Nicaragua Panamá, y Venezuela, mientras que en Cuba van a la alza. 7) La tasa de mortalidad por cáncer colorrectal está en aumento en cinco países; Chile (en hombres), Ecuador, México, Paraguay (en hombres), Perú y Puerto Rico.

Continuando con el análisis deductivo del cáncer, los datos epidemiológicos en México fueron sustentados con información del INEGI, el cual asevera que en México el cáncer es la tercer causa de muerte y se estima que cada año se detectarán 128 mil nuevos casos, donde resaltan los siguientes puntos (INEGI, 2014b): a) En el 2011 de cada 100 egresos de hospitales a causa de tumores, 56 fueron de tipo maligno, donde en los jóvenes representan el 71% y en los adultos el 53%. b) Durante el 2011, de cada 100 menores de 20 años con tumores malignos, el 59% lo presentan en órganos hematopoyéticos; siendo principalmente leucemias. c) En el 2011; de los pacientes con cáncer el 24% de los hombres de 20 años y más lo padecen en los órganos digestivos y el 30% de las mujeres en el mismo grupo de edad lo presentan en mama. e) Durante el 2012 el cáncer de mama fue la segunda causa de muerte entre las jóvenes con cáncer de 20 años y más (15.38 por cada 100 mil mujeres en la misma edad).

Durante el 2011, la morbilidad hospitalaria para la población menor de 20 años en México fue la siguiente (INEGI, 2014b): la principal causa la ocuparon los tumores malignos en órganos hematopoyéticos representando un 59% de los tipos de cáncer; 58.7% para hombres y 59.3% para mujeres. En los hombres menores de 20 años siguen las neoplasias en el sistema linfático y tejidos afines (9.7%) y del hueso y tejidos articulares (5.6%); y para las mujeres el cáncer encefálico y otras partes del sistema nervioso central (6.9%) y del hueso y tejidos articulares (5.8%).

Respecto a la mortalidad en el 2012 del total de defunciones INEGI (2014b) asegura que el 13% fueron causadas por algún tumor y de estas, el 93.5% por neoplasias malignas. Entre los jóvenes menores de 20 años, el 5.1% fallecieron por algún tumor, maligno o benigno, de los cuales el 86% fueron cancerosos, el primer lugar fue en órganos hematopoyéticos con una tasa de mortalidad de 2.53 por cada 100 mil jóvenes de la misma edad (más alta en los hombres 2.91 con respecto a las mujeres 2.94 por cada 100 mil); la segunda causa de muerte fue el cáncer de encéfalo y otras partes del sistema nervioso central (uno por cada 100 mil jóvenes del mismo grupo de edad).

Referente a los tumores malignos en la población de 20 años y más la morbilidad se presentó principalmente en las neoplasias del epitelio. Por ello INEGI (2014b) sostiene que en el 2011 en los hombres la principal morbilidad fueron las neoplasias en órganos digestivos (23.9%), en segundo lugar los tumores en órganos genitales (12.2%, siendo el de próstata el más frecuente) y por último cáncer en órganos hematopoyéticos (9.8%). Con relación a la mujeres los tipos de cáncer más frecuentes fueron: cáncer de mama (29.6%), neoplasias en órganos genitales (16.7%, del cuello uterino y del útero principalmente) y por último cáncer en los órganos digestivos (14.3%).

Durante el 2012 la principal causa de muerte por tumores malignos se localiza en los órganos digestivos (33.18 por cada 100 mil habitantes) seguida de cáncer en los órganos genitales (15.08 por cada 100 mil habitantes); en tercer lugar en órganos respiratorios e intratorácicos (10.72); y de mama (8.13 defunciones por cada 100 mil), por sexos el comportamiento es muy diferente, debido a que en las mujeres el cáncer de mama es la segunda causa de muerte, falleciendo 15.38 por cada 100 mil mujeres (INEGI, 2014b).

Finalmente en lo que al estado de Sinaloa respecta las principales estadísticas epidemiológicas del cáncer son las siguientes (INEGI, 2014a): a) En Sinaloa durante el 2011 de los jóvenes menores de 20 años con tumor maligno el 39% lo presentan en órganos hematopoyéticos. b) De las personas con cáncer durante el 2011, el 20% de los hombres de 20 años y más lo padecen en los órganos respiratorios e intratorácicos y el 28% de las mujeres de la misma edad registraron cáncer de mama. c) En el 2012 del total de muertes en Sinaloa (14,344), el 13.8% fue

ocasionada por tumores malignos; donde el 4.9% ocurrió en menores de 20 años y el 14.6% en sinaloenses de 20 años y más.

En lo que a la morbilidad en jóvenes menores de 20 años con cáncer se refiere, durante el 2011 la principal causa la ocupan (INEGI, 2014a): los tumores malignos en órganos hematopoyéticos (medula ósea, bazo y timo) con un 39% (39.7% en hombres y 37.9% en mujeres de la misma edad). En segundo lugar en los hombres se encuentran las neoplasias en hueso y tejidos articulares con 12% y en tercer lugar está el cáncer en la glándula tiroides y otras glándulas endocrinas con 9.8%; y para las mujeres menores de 20 años se encuentra el cáncer de ovario con 14.4%, melanoma y otros tumores malignos en la piel así como el sistema linfático y los tejidos afines representados con un 6.9% para cada tipo.

En ese mismo grupo de edad, INEGI (2014a) reportó que el 5.5% fallecieron por algún tipo de tumor (maligno o benigno) dentro de los cuales el 88.9% eran cancerosos en primer lugar en tejidos linfáticos, en órganos hematopoyéticos y tejidos afines con una tasa de mortalidad de 2.29 defunciones por cada 100 mil habitantes de la misma edad, donde se presentó más alta en los hombres 2.34, que en las mujeres 2.24. La segunda causa de muerte en jóvenes menores de 20 años fue el cáncer en encéfalo y otras partes del sistema nervioso central con el 0.46 por cada 100 mil personas.

Ahora bien la morbilidad en Sinaloa en los hombres de 20 años y más son las siguientes (INEGI, 2014a): en primer lugar se encuentra las neoplasias en órganos respiratorios e intratorácicos con un 20.22%, en segundo lugar se encuentran los tumores en órganos digestivos con un 18.3% y finalmente el cáncer en órganos genitales con un 13% (en este rubro el más frecuente es el cáncer de próstata). En relación a las mujeres INEGI (2014a) afirma que el cáncer de mama con un 27.9% es la principal morbilidad en Sinaloa, le sigue las neoplasias en órganos digestivos con un 13.3% y finalmente el cáncer en órganos genitales; donde destacan el cáncer de cuello del útero y útero con 11.6%.

Finalmente durante el 2012 el 14.6% de las personas que fallecieron de 20 años y más fue a causa de cáncer. En ese sentido en Sinaloa la principal causa de defunciones por neoplasia es en órganos digestivos con un 30.2 por cada 100 mil habitantes, en segundo lugar se sitúa el cáncer en órganos respiratorios e intratorácicos con 19.26, seguida de órganos genitales con

16.72 y en mama con 9.16 muertes por cada 100 mil. En los datos anteriores existen variaciones entre hombres y mujeres, ya que en las féminas en segundo lugar se ubica en cáncer de mama, con una mortalidad de 17.81 por cada 100 mil mujeres de 20 años y más (INEGI, 2014a).

## 2. Detección del cáncer

En los últimos años se han realizados innumerables aportaciones en pro del desarrollo de nuevas terapias génicas y farmacológicas, por ello es ineludible seguir trabajando en conjunto el estado, autoridades en materia de salud, universidades, académicos e investigadores para que juntos en los próximos años se puedan desarrollar mejores estrategias de diagnóstico y tratamiento contra el cáncer. Asimismo un diagnóstico definitivo para el cáncer normalmente requiere de una observación al microscopio de una muestra del tejido tumoral llamada; biopsia.

Para la detección del cáncer diversos organismos e instituciones de salud (ACS, 2013; Cárdenas-Sánchez y col, 2015; WHO, 2014b) recomiendan una detección temprana, esto debido a como se mencionó anteriormente para poder prevenir poco más 30% del cáncer (WHO, 2014b). Asimismo las actividades de detección temprana tienen dos componentes: a) Conocer los signos y síntomas iniciales antes de que este empeore e inicie el proceso de metástasis en dado caso. b) Promover los programas de detección temprana en lugares de escasos recursos donde en la mayoría de las neoplasias se detectan en fases muy avanzadas y donde no existen programas de detección oportuna (De la Garza-Salazar y Juárez-Sánchez, 2014).

Dentro de los programas de detección de cáncer (OMS, 2004; WHO, 2014b) es necesario implementar campañas de cribado en función de las capacidades económicas de la población, donde se le aplique estudios de detección de manera sistémica a una población determinada con el objetivo de casos donde se pueda observar lesiones en el genoma, físicas, estilos y ritmo de vida con la intención de reparar en la media de lo posible el daño y en caso de ser genético iniciar el tratamiento lo antes posible para impedir que llegue a la metástasis.

Ejemplos de los programas de detección se encuentran en primer lugar la observación visual; siendo el examen más ampliamente disponible para la detección del cáncer de piel, retina, los labios, la boca, la laringe, los genitales externos y el cuello uterino (NCI, 2014a). El segundo procedimiento de detección es la palpación para identificar las masas tumorales en la mama, la

boca, las glándulas de la saliva, la tiroides, los tejidos subcutáneos, el ano, la próstata, el recto, los testículos, los ovarios, el útero así como los ganglios linfáticos del cuello, la axila o la ingle. Respecto a los tipos de cáncer que afectan a los órganos internos NCI (2014a) afirma que es necesario de procedimientos tales como endoscopías, radiografías, ecografías así como la confirmación mediante análisis de laboratorio; por ejemplo el frotis en un examen de Pap. Por todo lo anterior a manera de síntesis De la Garza-Salazar y Juárez-Sánchez (2014) describe en el Cuadro 1 los principales programas de detección de cáncer más frecuentes.

Cuadro 1 Programas eficaces en relación con los tipos de cáncer

Tipo de cáncer	Descripción
Carcinoma cervico-uterino	<p>La prueba de cribado para el diagnóstico y detección temprana es el frotis del exudado de cavidades. Recomendaciones: a) iniciar prueba de detección de cáncer de cuello uterino a los 25 años de edad (a menos que las menores hayan iniciado una vida sexual antes). b) Las mujeres entre los 21 y 29 años deberán hacerse una Pap cada 3 años. c) Mujeres entre 30 y 65 años deben realizarse una Pap junto con una prueba del VPH cada año o cada 3 años, si dos previas han sido negativas. d) Mujeres mayores a 65 años con historia de lesión displásica grave deben realizarse pruebas por lo menos 20 años después del diagnóstico, incluso si la prueba continua después de los 65 años. e) Una mujer cuyo útero se le haya extraído junto con el cuello uterino si no presenta un historial familiar ni otra condición preneoplásica, no deberá someterse a las pruebas. f) Mujer que haya sido vacunada contra VPH deberá seguir las pruebas de recomendación según el grupo de edad al que pertenezca.</p>
Cáncer de mama	<p>Para mujeres entre los 50 y 70 años la detección es a través del examen mamográfico cada 2 años. La ACS recomienda que para la detección temprana de cáncer de mama: a) Mujeres mayores a los 40 se realicen mamografías y repitan cada año. b) Examen clínico de los senos cada tres años para mujeres entre 20 y 39 años y cada año para mayores de 40 años. c) Conocer bien sus glándulas mamarias y notificando cualquier anomalía así como el auto examen a partir de los 20 años. d) Además de la mamografía algunas mujeres con antecedentes familiares o tendencia genética deben realizarse resonancia magnética.</p>
Cáncer de colon	<p>Se recomienda realizar el estudio a personas mayores de 50 años, principalmente aquellos pacientes con diagnóstico de colitis ulcerosa, enfermedad de Crohn u otra patología de colon que haga probable la aparición del cáncer, incluir este estudio a los familiares directos de pacientes con cáncer de colon diagnosticado. Incluir prueba de sangre oculta en heces, si dio positiva, realizar colonoscopia diagnóstica.</p>

Programas eficaces en relación con los tipos de cáncer (continuación)

Tipo de cáncer	Descripción
Cáncer gástrico	El cribado de cáncer gástrico se realiza mediante una gastroscopia, no es de utilidad para la población en general, sin embargo para algunos grupos de riesgo como familiares en primer grado o en zonas con alta incidencia es efectivo.
Cáncer de próstata	El mejor índice de detección es el tacto rectal y antígeno prostático (PSA). Hombres con 50 años o más hablar con el médico para que les informe si es necesario realizarse el estudio. Hombre de raza negra con hermano o padre que les hayan diagnosticado cáncer de próstata antes de los 65 años, preguntarle si es necesario que se realicen el estudio antes de los 45.
Cáncer de testículo	La alfa-fetoproteína (AFP) es un antígeno oncofetal y se produce en el hígado de manera normal durante el primer año de edad. En el adulto se produce una proteína similar como resultado del desarrollo de tumores específicos. El estudio de la AFP se utiliza para el diagnóstico de cáncer de testículos para determinar la progresión y/o respuesta al tratamiento.
Cáncer de endometrio	La ACS recomienda que todas las mujeres al presentarse la menopausia deben ser informadas del cáncer de endometrio. Las mujeres deben reportar al médico si presentan cualquier sangrado o manchado inesperado posmenopáusico. Dependiendo del historial, algunas mujeres deben considerar una biopsia de endometrio cada año.
Cáncer de pulmón	La ACS no recomienda pruebas de detección de cáncer de pulmón, sin embargo provee guías para la detección de este tumor a personas de alto riesgo debido al tabaquismo, que se encuentren entre 55 y 74 años, estado de salud relativamente bueno, fumar o haber fumado por lo menos una cajetilla de cigarros al día durante 30 años

Tomado de De la Garza-Salazar y Juárez-Sánchez (2014)

### C. GENÉTICA DEL CÁNCER

Para iniciar este apartado es importante que quede claro que el cáncer puede ser causado por factores genéticos heredados o ser consecuencia de agentes multifactoriales. En otros casos el cáncer es el resultado de una serie de eventos o accidentes que ocurren en la replicación del DNA al azar (Cha y Yim, 2013) por lo que no es probable que existan dos pacientes con cáncer genéticamente idénticos, aunque sea el mismo tipo de cáncer.

El proceso de proliferación celular esta mediada por el mecanismo que indica a la célula en formación que puede pasar el punto de restricción de inicio que ocurre en el proceso de división celular así como también al punto que le indica que está en proceso de diferenciación final para salir del ciclo celular y empezar su función dentro del organismo (Alberts y col, 2002) o bien que inicie el proceso de apoptosis para mantener la homeostasis en las poblaciones celulares de los tejidos (Elmore, 2007).

Derivado de lo anterior en este apartado se hablará brevemente de los genes implicados en el proceso de carcinogénesis; los proto-oncogenes, oncogenes y los genes supresores de tumores. Para ello se debe saber que existen dos maneras de producir la mutación que llevará a la carcinogénesis y posteriormente a la metástasis: (Wang y col, 2014).

- i. El primero consiste en excitar un gen estimulador llamado oncogén, el cual se define como un gen que presenta un estímulo o alteración el cual promueve el desarrollo del cáncer (Alberts y col, 2002; Becker y col, 2007).

En ese sentido Becker y col, (2007) afirman que después de una serie de experimentos donde cultivaron celulares cancerosas de vejiga humana en una cepa de células murinas se identificó el primer oncogén humano, el gen mutante *RAS* que codifica para una forma anormal de la proteína Ras, la cual funge un papel importante en la señalización del crecimiento celular. Además la Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades de EUA (ATSDR) sostiene que los científicos han identificado más de 300 genes alterados los cuales pueden participar en la oncogénesis (ATSDR, 2010). El alelo normal de los oncogenes se les conoce como proto-oncogén, del griego *onkos*, tumor (Alberts y col, 2002). Sin embargo los proto-oncogenes no son genes dañinos que están esperando el estímulo para iniciar la carcinogénesis, por el contrario son genes normales que contribuyen de manera importante en la regulación del crecimiento

celular y la supervivencia (Becker y col, 2007). Aunado a ello diversas investigaciones afirman que se han descubierto más de 60 proto-oncogenes en el ser humano (Alberts y col, 2002).

Debe quedar claro que el término proto-oncogén solamente hace alusión cuando estos genes sufren una alteración en su actividad y estructura por varios tipos de mutaciones, la forma mutante de estos genes propician la carcinogénesis.

- ii. Posterior al paso número i, es necesario inactivar las dos copias del gen inhibidor o deletarlas siendo recesivo estos tipos de genes, a los cuales se les denominan genes supresores de tumores (Becker y col, 2007).

Becker y col, (2007) afirman que las mutaciones que convierten a los proto-oncogenes en oncogenes se resumen en 5 puntos:

- a. Mutaciones puntuales: es el mecanismo más sencillo para convertir un proto-oncogén en oncogén, esto implica la sustitución de un solo nucleótido en el DNA que causa la sustitución de un solo aminoácido en la proteína codificada por el proto-oncogén normal. Los oncogenes más comunes en este tipo de mutación son los oncogenes *RAS* que como ya se mencionó codifican para la formas anormales de la proteína Ras. Se han identificado a los oncogenes *RAS* en varios tipos de cáncer en el hombre como son en el cáncer de pulmón, colon, páncreas y tiroides.
- b. Amplificación genética: significa amplificar los genes para aumentar el número de copias de un proto-oncogén. Esto quiere decir que al aumentar el número de copias genéticas hace que se produzcan grandes cantidades de la proteína que codifica el proto-oncogén, incluso que la proteína sea normal. En ese sentido se sabe que poco más del 25% de todos los tipos de cáncer de mama y ovario se deben a la amplificación de copias del gen *ERBB2* el cual codifica para un receptor del factor de crecimiento.
- c. Traslocación cromosómica: es el proceso en el cual una parte de un cromosoma se extrae físicamente y es unido a otro. Un ejemplo claro ocurre en el linfoma de Burkitt, un tipo de cáncer asociado con el virus de Epstein-Barr (EBV) (Becker y col, 2007). La infección con EBV estimula la proliferación celular, pero es insuficiente para causar cáncer por sí sola. La enfermedad en si aparece cuando se produce una traslocación que afecta el cromosoma 8, donde el proto-oncogén *MYC* se traslada del cromosoma 8 al

cromosoma 14 (región altamente estimuladora que codifican anticuerpos) lo anterior provoca que *MYC* sea activado conduciendo a la sobreproducción de la proteína Myc (un factor de transcripción que estimula la proliferación celular).

- d. Reordenaciones locales del DNA: Este mecanismo implica reordenaciones locales donde las secuencias de bases de los proto-oncogenes se alteran por deleciones, inserciones, inversiones (eliminación de una secuencia seguido de una reinserción en dirección opuesta) o transposiciones. Ejemplos de estos reordenamientos locales de DNA se han encontrado en el cáncer de tiroides y en los de colon.
- e. Mutagénesis insercional: en este punto algunos oncogenes son introducidos a las células huésped por retrovirus que mediante la transcripción inversa copian su DNA al genoma del huésped donde se desarrollará la carcinogénesis (Alberts y col, 2002; Becker y col, 2007). La Mutagénesis insercional se observa con frecuencia en el cáncer de animales pero raramente en el hombre. Sin embargo Becker y col, (2007) sostienen que este medio es una buena opción para desarrollar terapias génicas en pacientes con cáncer.

Por otro lado se conoce como gen supresor de tumor aquel que mediante la inactivación o pérdida del mismo inicia el proceso de carcinogénesis (Becker y col, 2007; NCI, 2014b), solo unas pocas docenas de estos tipos de genes muestran esta propiedad.

La investigación en los genes supresores de tumores proviene de un tipo de cáncer raro, el retinoblastoma hereditario el cual fue descubierto aproximadamente en la década de los 80 mismo que se desarrolla en los infantes con historia familiar de la patología (Alberts y col, 2002). Estos infantes heredan una deleción en el cromosoma 13, por si sola esta deleción no genera carcinogénesis, pero en las múltiples divisiones celulares así como en el desarrollo del infante, si una segunda deleción aparece en el mismo locus del segundo cromosoma el proceso de carcinogénesis iniciará en esas células.

Derivado de lo anterior es como se identificó a través de diversos estudios que el gen *RB* es el responsable o en este caso ausente en el cromosoma 13. Dicho gen codifica para la proteína Rb está implicada en el control de la progresión de la fase G1 a la fase S del ciclo celular, es decir forma parte del mecanismo de paro o frenado para que las células pasen del punto de G1 a la fase de síntesis en ausencia de una señal del factor de crecimiento (Becker y col, 2007). Por tal

motivo la alteración o inactivación de las dos copias del gen *RB* elimina por completo el mecanismo de restricción y deja la puerta abierta a la oncogénesis.

Si bien es cierto el retinoblastoma es un tipo de cáncer con poca incidencia, pero la pérdida del gen *RB* es un paso importante en la oncogénesis el cual está presente en varios tipos de cáncer comunes de pulmón, de mama y vejiga (Alberts y col, 2002).

Al igual que los retrovirus que mediante la transcripción inversa inyectan su material genético en el genoma del huésped, los virus DNA hacen lo mismo, se aprovechan del genoma del huésped para activarlo y usarlo como maquinaria de replicación del DNA de la célula. Ejemplos de estos virus son los VHB, donde los pacientes con esta patología muestran cáncer de hígado.

Otro gen supresor de tumores que juega un papel muy importante es el denominado *P53* o *TP53* esto debido a que junto con el gen de *RB* pueden formar un síndrome denominado Li-Fraumeni; esto es debido a que pueden ser heredados a los hijos las dos copias de los genes *P53* y *RB* dañadas desarrollando carcinogénesis en los adultos jóvenes (Alberts y col, 2002). Contrario a las células no tumorales que solo tiene defectuosas una copia de estos genes.

El gen *P53* se encuentra ubicado en el brazo corto del cromosoma 17 y actúa inhibiendo la progresión de las células de la fase G1 a la fase S en el ciclo celular, lo anterior se muestra en la Figura 1. Presenta una función reguladora negativa de la proliferación celular y se cree que funciona bloqueando las células en G1 o induciendo apoptosis (Cairns y col, 2011; Lu y col, 2014; Poblete, 2001).

Es por lo anterior que se considera que la función normal del *P53* es el de bloquear la proliferación celular (el paso de la fase G1 a la fase S), siendo altamente riesgoso una mutación o inactivación de dicho gen, en primer lugar por el bloqueo hacia la fase S de las células que presentan mutaciones y en segunda instancia porque permitirá que futuras mutaciones en el DNA se generen cuando las primeras células salgan de la fase M del ciclo celular. Diversos académicos e investigadores (Alberts y col, 2002; Becker y col, 2007; Lu y col, 2014; Nobusawa y col, 2014; Okal y col, 2014; Poblete, 2001; Simon y col, 2014; Thomas y col, 2014; Zheng y col, 2014) afirman que el gen *P53* presenta un amplio espectro de tumores diferentes, siendo responsable de más del 50% del cáncer diagnosticado alrededor del mundo, por tal motivo el

Cuadro 2 ilustra la relación entre algunos genes supresores de tumores humanos y su relación con diferentes tipos de cáncer.

Asimismo existen otros genes que juegan un papel al regular las funciones de *P53* como por ejemplo *P21*, *NQ01*, *GADD45*, *Ciclina G*, *Bax* e *IGF-BP3* y *MDM2* por mencionar algunos. En ese sentido el gen *MDM2* se encuentra ubicado en el brazo largo del cromosoma 12 el cual codifica la proteína Mdm2, donde diversos investigadores (Momand y col, 1992; Zhao y col, 2014) afirman que esta cuando se sobreexpresa en el ciclo de división celular interfiere con la progresión normal del ciclo celular al unirse a proteínas claves que controlan su evento como p53, formando un complejo Mdm2-p53 el cual aumenta la degradación de este complejo en el citoplasma. Asimismo Mdm2 al unirse a Rb interfiere entre el promotor de fase S, E2F1, y Rb (complejo Rb-E2F1) formando los complejos Rb-Mdm2 y E2F1-Mdm2. La unión de Mdm2 con E2F1 potencia la capacidad de transactivación génica de E2F1, todo lo anterior permitiendo así que se inicie la carcinogénesis, para una apreciación más esquemática de lo anterior se muestra la Figura 2 (Flores y Sobrevia, 2000).

#### D. VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO

El VPH es un virus DNA tumoral transmitido por vía sexual siendo el principal factor etiológico de morbilidad y mortalidad de CaCU y es el segundo tipo de cáncer más frecuente en la mujer a nivel mundial (Bencomo-Alvarez y col, 2012; Conde-Ferraez y col, 2012; OPS, 2013b). Diversas investigaciones aseveran que las infecciones con alto riesgo de VPH (causadas por los genotipos 16 y 18) también conocidas como neoplasias intraepitelial de cuello uterino tipo 2 y 3 (NIC-2 y NIC-3) son responsables de más del 99% de todos los tipos de CaCU (Alemany y col, 2014; Bencomo-Alvarez y col, 2012; Lewis, 2004), además de las NIC-2/3 existen lesiones precursoras conocidas como neoplasias intraepitelial de cuello uterino de grado 1 (NIC-1).

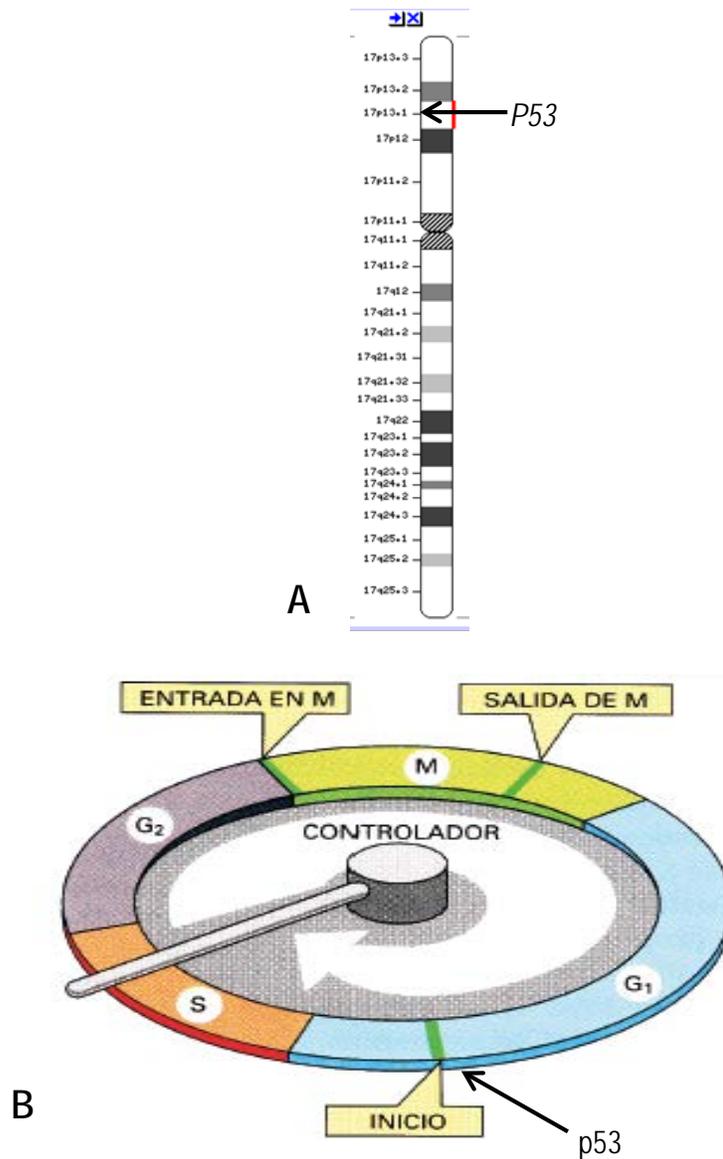


Figura 1 Ubicación del gen *P53* en su cromosoma y ubicación de p53 en el ciclo de división celular. A. El gen *P53* se encuentra ubicado en el brazo corto del cromosoma 17. B. La proteína p53 actúa inhibiendo la progresión de las células de la fase G1 a la fase S en el ciclo celular, presenta una función reguladora negativa de la proliferación celular y se cree que funciona bloqueando las células en G1 o induciendo apoptosis.

Cuadro 2 Algunos genes supresores de tumores en seres humanos

Gen	Síndrome heredado	Tipo de cáncer
<i>APC</i>	Poliposis adenomatosa familiar	Colon
<i>BRCA1</i>	Cáncer de mama familiar	Mama, ovario
<i>BRCA2</i>	Cáncer de mama familiar	Mama
<i>SMAD4</i>	Cáncer colorectal	Colon, recto
<i>NF-1</i>	Neurofibromatosis tipo 1	Neurofibromas
<i>NF-2</i>	Neurofibromatosis tipo 2	Células de Schwann, meninges
<i>CDKN2A</i>	Melanoma familiar	Melanoma, otros
<i>P53</i>	Li-Fraumeni	Óseo, mama, leucemia, cerebro, adrenal, otros
<i>RB</i>	Retinoblastoma hereditario	Retina, óseo, otros
<i>HL</i>	Von Hippel-Lindau	Riñón, retina, cerebro
<i>WT-1</i>	Tumor de Wilms	Riñón

Tomado de Becker y col, (2007)

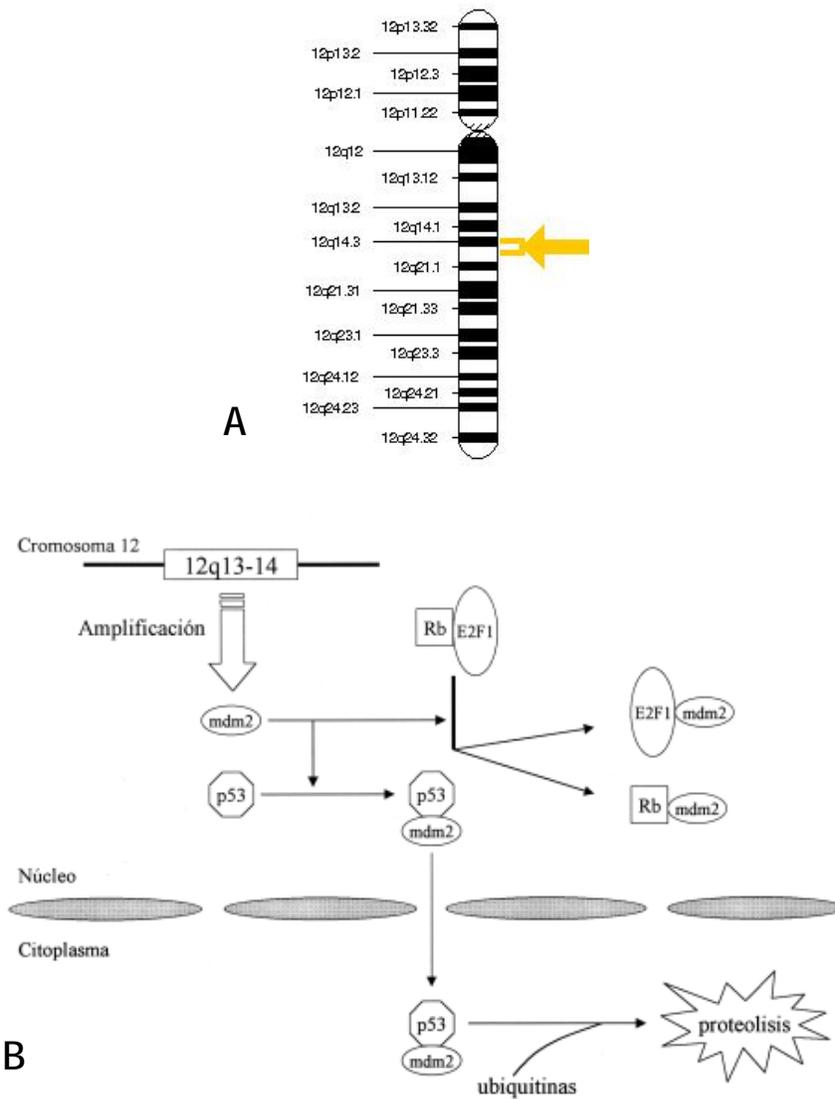


Figura 2 Ubicación del gen *MDM2* en su cromosoma y esquematización de sus funciones. A. El gen *MDM2* se ubica en el brazo largo del cromosoma 12. B. La proteína Mdm2 en el ciclo celular interfiere con la progresión normal del ciclo al unirse a p53, formando un complejo Mdm2-p53 el cual aumenta la degradación de este complejo en el citoplasma. Asimismo Mdm2 al unirse a Rb interfiere entre el promotor de fase S, E2F1, y Rb (complejo Rb-E2F1) formando los complejos Rb-Mdm2 y E2F1-Mdm2. La unión de Mdm2 con E2F1 potencia la capacidad de transactivación génica de E2F1, todo lo anterior permitiendo así que se inicie la oncogénesis.

De igual forma que los genotipos del VPH de alto riesgo (16 y 18) se han incluido en la lista de virus oncógenos a los genotipos 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73 y 82 (Lewis, 2004; Lizano y col, 2009; Rivera y col, 2002). El riesgo de ser contagiado por la infección genital de VPH esta mediado por la actividad sexual, por lo tanto el CaCU sigue un patrón típico de ITS, en ese sentido los principales factores de riesgo del infección del VPH son: a) La promiscuidad (INC, 2014). b) Inicio de relaciones sexuales a temprana edad (INC, 2014; López y Lizano, 2006; Rivera y col, 2002). c) Contar con historial clínico de otras ITS (López y Lizano, 2006; Rivera y col, 2002). d) Resultado de prueba de Pap anormales; verrugas genitales (López y Lizano, 2006). e) Pareja sexual con cáncer de cérvix o en pene. f) La edad; la infección es más común en jóvenes sexualmente activas (18-30 años). El CaCU es más común después de los 35 años. g) Persistencia viral. h) Uso de anticonceptivos orales (CDC, 2011; INC, 2014; Lewis, 2004; Rivera y col, 2002). Investigaciones recientes aseguran que entre las mujeres infectadas por VPH aquellas que utilizaron anticonceptivos orales entre 5 y 9 años presentan aproximadamente 3 veces más posibilidades de contraer cáncer invasivo y aquellas que usaron por 10 años o más presentan hasta 4 veces más probabilidades de contraer cáncer invasivo (INC, 2014). i) Coinfección en cérvix con otros virus; herpes simple (HVS) tipo II, citomegalovirus (CMV) herpes humano tipo 6 y 7 (HHV-6) (López y Lizano, 2006). j) Carga viral; sobre todo el genotipo 16 respecto a otros y la predisposición genética (López y Lizano, 2006).

En el desarrollo de lesiones y cáncer el resultado típico del contacto con el VPH es una verruga o papiloma, estas pueden ser planas (superficiales) o verrugas plantares (profundas). Las verrugas genitales, o condilomas, son transmitidas por contacto sexual dentro de las cuales aproximadamente el 90% de estas son ocasionadas por los genotipos 6 y 11 (López y Lizano, 2006).

López y Lizano, (2006) afirman que el CaCU de células escamosas es el más común de los tipos de cáncer y solamente el 10% de los casos son de origen granular o adenocarcinomas. Cerca del 50% de las pacientes con adenocarcinoma *in situ* (AIS) presentan también NIC y es común diagnosticarlas en pacientes poscirugía por carcinoma escamoso. La incidencia de estos tipos de cáncer se encuentra en aumento en pacientes jóvenes que habitan en países desarrollados y se relaciona con el incremento en el consumo de anticonceptivos orales.

## 1. Biología molecular del virus del papiloma humano

El VPH pertenece a la familia *Papillomaviridae*, recientemente reconocida como distinta de los polyomavirus estos virus infectan el epitelio escamoso de más de 20 especies diferentes de mamíferos, aves y reptiles (Lizano y col, 2009).

El VPH tiene una cápside de 72 capsómeros con un diámetro aproximado de 55 nm, cada capsómero están formados por dos proteínas estructurales: L1 en mayor proporción y L2. El VPH es estable y gracias a que no presenta envoltura permanece en estado infeccioso en ambientes ricos en humedad durante meses (López y Lizano, 2006). Asimismo el genoma del VPH es una molécula de DNA circular de doble cadena de 8 Kb aproximadamente, mismo que para su estudio se divide en 3 regiones; la región larga de control, LCR que no contiene marco de lectura alguno; la región que corresponde a las proteínas tempranas (E1 a E8) y la región correspondiente a las regiones tardías (L<sub>1</sub> y L<sub>2</sub>) lo anterior se observa en la Figura 3 (García-Tamayo y col, 2010; López y Lizano, 2006; Rivera y col, 2002).

La región larga de control (LCR) carece marco de lectura pero contiene múltiples elementos de respuesta que gobiernan la expresión génica y la replicación del VPH. López y Lizano, (2006) sostiene que el tamaño varía según el genotipo del virus, pero oscila entre un 7 a 11% del genoma con 850 pb en el caso de los VPH genitales. La LCR se divide en 3 regiones: el promotor temprano, el amplificador y la región más alejadas del 5'. Numerosos factores celulares y componentes virales están interactuando en esta región como las proteínas E1 y E2 que se encuentran modulando la transcripción y replicación del virus entre otros (López y Lizano, 2006).

Por otro lado las proteínas tempranas del VPH para su estudio se clasifican de la siguiente forma: proteína E1; el gen E1 es el más grande y de los más conservados de los VPH con casi 2 kb de secuencia y 67.5 a 76.2 kDa con 681 aa aproximadamente (López y Lizano, 2006). La proteína E1 se divide en 3 regiones: una de dominio amino terminal que regula las actividades de E1 residentes en C-terminal, la segunda una región espaciadora de longitud variable y una región carboxilo más grande. La proteína E1 interacciona directamente con la DNA polimerasa  $\alpha$  junto con las proteínas RPA para darle estabilidad a la cadena sencilla dúplex abierta, topoisomerasas I y II y los cofactores PCNA y RFC para que se desarrolle el proceso de replicación.

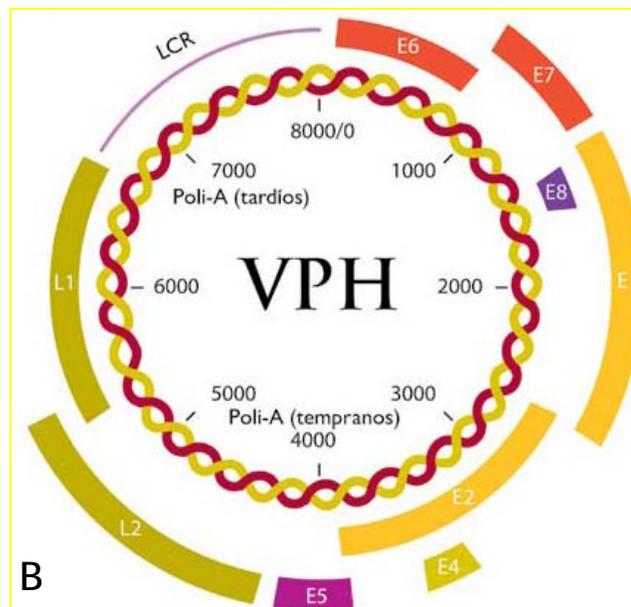
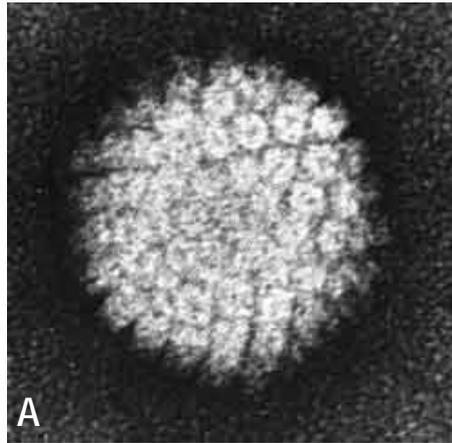


Figura 3 Micrografía del VPH y las 3 regiones de división para su estudio. A. El VPH tiene una cápside de 72 capsómeros con un diámetro aproximado de 55 nm. B. Para su estudio el VPH se divide en 3 regiones; región de proteínas tempranas (E1-E8), regiones tardías (L1 y L2) y región larga de control (LCR).

Otra proteína que forma parte del genoma del VPH es la E2, producto del gen E2 de 1100 pb aproximadamente, cuya proteína nuclear oscila en los 45 kDa. Para su estudio se divide en 3 dominios (López y Lizano, 2006); el primero es el dominio de activación (E2TAD), cuya función es regular la transcripción y replicación del DNA viral. El segundo dominio es el de bisagra o dominio central de longitud más variable. El tercer dominio es el extremo carboxilo terminal, el cual se dimeriza y se une al DNA. Asimismo López y Lizano, (2006) sostienen que E2 cumple una función anti-proliferativa pudiendo reprimir el crecimiento e inducir apoptosis a través de la represión en la transcripción de E6 y E7. E2 también induce el secuestro en G1 a través del complejo p21/WAF, inhibidor del complejo ciclina E/CDK2. Por otro lado la proteína E4 de 10 a 44 kDa., cuyo gen E4 es de aproximadamente 260 pb. Esta proteína se expresa a partir de un RNAm procesado (E1<sup>+</sup>E4) en concentraciones abundantes durante las etapas tardías del ciclo viral y la replicación vegetativa del DNA viral (López y Lizano, 2006). Parte de la proteína E4 se ubica en los filamentos intermedios de queratina del citoplasma (IF) durante las NIC-1 ocasionadas por el VPH-16, sin embargo se han localizado proteínas E4 de manera difusa en las zonas perinucleares y citoplasmáticas, lo que trae como consecuencia el colapso de queratinas relacionándose con la expulsión de los viriones.

E4 puede expresarse al mismo tiempo con E1 y E2 durante la infección por VPH, logrando inhibir el ciclo celular, por lo tanto López y Lizano, (2006) sostienen que E2 y E4 trabajan en conjunto durante el ciclo celular del VPH. Asimismo diversas investigaciones sostiene que E4 regula los niveles de las proteínas nucleares de E2, facilitando así la amplificación del genoma viral y la expresión de proteínas tempranas (García-Tamayo y col, 2010).

En otras instancias la proteína E5 de los VPH de aproximadamente 90 aa con un peso molecular de 14 kDa., codificada por el gen E5 de aproximadamente 230 a 250 pb. La proteína E5 es de membrana hidrofóbica ubicada en el retículo endoplásmico y Golgi, aunque también se ha encontrado en el citoplasma del VPH (López y Lizano, 2006). La principal función de E5 es acomplejarse y sobre regular la actividad de los receptores de factores de crecimiento como el factor de crecimiento epidermal (EGFR) o del factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGFR). En ese sentido García-Tamayo y col, (2010) sostienen que E5 del VPH-16 tiene la capacidad de inhibir la acidificación de los endosomas lo que ocasiona que se retenga el

receptor, en la prolongación de su señal activa y en el reciclaje del 40% de los receptores para anclarse por nueva cuenta en la superficie. Se sabe que EGF es indispensable en G1 del ciclo celular, se cree que la actividad de E5 es estimular a las células a través de esta fase y en S. Asimismo estudios aseguran que si E5 inhibe la acidificación de los endosomas tardíos en los HFK, podría afectar la interacción con los antígenos de las moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) clase II (López y Lizano, 2006).

Una de las proteínas que juegan un papel muy importante en el VPH es la E6. El gen E6 de aproximadamente 450 a 500 pb codifica para una proteína de casi 150 aminoácidos (aa) con un peso molecular que oscila entre 16 y 18 kDa. López y Lizano, (2006) sostiene que por sí sola la proteína E6 presenta una capacidad oncogénica débil, cooperando con la proteína E7 que en conjunto confieren una capacidad de transformarse el virus y volverse altamente oncogénico. E6 se expresa de manera muy rápida durante un contacto con el VPH, lo que le permite modificar el ambiente celular por ejemplo bloqueando la apoptosis mediante la degradación de p53, altera la transcripción de genes a través de la interacción con p300 y CBP e incrementa la vida celular gracias a la activación de la telomerasa (López y Lizano, 2006).

El papel central que juega E6 de los VPH de alto riesgo es inhibir la función de la proteína 53 a través de la degradación por la vía de la ubiquitina contrario a lo que ocurre en los VPH de bajo riesgo que no se une a p53 o lo realiza débilmente y no logra degradarlo (García-Tamayo y col, 2010; López y Lizano, 2006). E6 tiene la capacidad además de retener a p53 en el citoplasma bloqueando su translocación al núcleo inhibiendo su función, por lo tanto López y Lizano, (2006) afirma que E6 inhibe la capacidad de p53 para activar o reprimir la transcripción de los genes blancos además de que puede superar la apoptosis dependiente e independiente de *P53*.

Otra proteína junto con la E6 que juega un papel muy importante en el genoma del VPH es la proteína E7. El gen E7 de aproximadamente 300 a 320 pb codifica para la proteína E7 de aproximadamente 100 aa con un peso molecular de 10 kDa. E7 presente la más alta capacidad de transformarse y actúa sobre la unión a proteínas supresoras de tumores de la familia pRB y estos a su vez interactúan con factores de transcripción de la familia E2F. La función de la familia pRB es controlar la replicación celular (Lizano y col, 2009). Cuando E7 se une a la forma activa a pRB desencadena la liberación de los factores de transcripción E2F independientemente de la

presencia de los factores de crecimiento externos, provocando el progreso de la fase S y por ende la replicación celular (García-Tamayo y col, 2010). E7 se asocia además a otras proteínas como desacetilasas de histonas, AP1 e inhibidores de los complejos CDK como p21 y p27, como resultado de la liberación de E2F se expresa ciclina E, importante en el progreso de la fase S.

En los últimos años López y Lizano, (2006) afirma que se ha identificado una nueva proteína E2, que es producto del resultado de la pequeña proteína E8 con parte de la proteína E2; la proteína E2<sup>E8</sup>. La función principal es de reprimir la replicación y transcripción viral, por tal motivo se considera que esta proteína es la que le confiere la propiedad de estar en estado de latencia en las células del epitelio estratificado.

En otro sentido las proteínas L1 y L2 de 43 a 53 kDa respectivamente son las proteínas minoritarias de la cápside del VPH mismas que al igual que L1 se produce en las células que expresan la E4. La proteína que se encuentra en mayor abundancia la L1 forma cerca del 80% de la cápside y es expresada después de L2 (García-Tamayo y col, 2010), asimismo López y Lizano, (2006) asevera que la cápside contiene 360 copias de L1 y 12 copias de L2, organizadas conjuntamente en 72 capsómeros. La proteína L2 se agrupa en estructuras nucleares llamadas dominios oncogénicos de la proteína de leucemia pro-monocítica (PML), por lo tanto se sugiere que los cuerpos PML son el sitio de replicación del DNA del VPH (López y Lizano, 2006).

## 2. El ciclo viral del papiloma humano

Los viriones entran a las células basales o germinales mediante una abertura en el epitelio estratificado, donde no se ha identificado un receptor de membrana definido para la entrada del virus, sin embargo López y Lizano, (2006) sostiene que se ha propuesto al complejo integrina  $\alpha 6 - \beta 4$  como un candidato. Se ha observado que la presencia de proteoglicanos de sulfato de heparina presentes en la membrana plasmática podrían ser el lugar de unión inicial previo a la unión con el receptor. Asimismo el patógeno ingresa a través de endocitosis como vesículas recubiertas de clatrina y la expulsión del virión es generada gracias al rompimiento de enlaces disulfuro internos de la cápside (López y Lizano, 2006).

Una vez ocurrido el contacto con el virus y posterior al desensamble en las células basales, el virus para mantener su genoma expresa las proteínas E1 y E2, mismas que facilitan la expresión

correcta de los genomas durante la mitosis del ciclo viral. Aunado a la infección inicial López y Lizano, (2006) afirman que esta es continuada por una fase proliferativa que lleva a la conducción en el incremento del número de líneas celulares basales que contienen el genoma viral, mismas que requieren que sean expresadas las proteínas E6 y E7 que van a estimular el progreso a la fase S del ciclo celular.

La expresión de las proteínas E6 y E7 del RNA bajo el control del promotor temprano en la LCR permite que la célula basal no interfiera o interrumpa el ciclo celular. Por lo tanto E6 y E7 retardan la diferenciación celular incentivando la proliferación a través de interacciones con proteínas celulares responsables del control del ciclo celular (López y Lizano, 2006).

Para que sean sintetizados viriones patógenos del papiloma humano, estos deben amplificar su genoma viral y empaquetarlo en la partícula proteica, lo anterior se lleva a cabo en las capas superiores del epitelio, en el estrato espinoso. Este promotor se encuentra ubicado en el gen 7 el cual origina la transcripción de proteínas involucradas en la replicación del DNA viral como E1, E2, E4 y E5 así como los componentes que forman la cápside L1 y L2. Para que la replicación viral se lleve a cabo es necesario que E2 se una a la LCR y que estos promuevan la unión de E1. Asimismo López y Lizano, (2006) afirman que el ensamblaje de las partículas víricas ocurre en el estrato granular del epitelio y eventualmente las células infectadas se descaman en la parte superior. El virus es muy estable fuera de la célula lo anterior porque resiste la desecación y puede ser transmitido directamente a otras personas. Además se sabe que el VPH no es lítico y se cree que la proteína E4 permite la salida del virus de las capas superiores del epitelio mediante la lisis de los complejos de citoqueratina (López y Lizano, 2006).

#### E. CÁNCER CERVICOUTERINO

Para iniciar este apartado es indispensable dejar claro que el cáncer ginecológico se puede definir como cualquier tipo de cáncer que inicia en los órganos del aparato reproductor femenino (CDC, 2011), aunque en el lenguaje médico es común que se refieran como un grupo, el cáncer ginecológico es particular para cada órgano que integra el aparato reproductor femenino, con características, signos, sintomatología y factores de riesgo muy bien diferenciados.

Derivado de lo anterior los CDC (2011) afirman que los cinco tipos principales de cáncer ginecológico son: 1) CaCU que inicia en el cuello del útero, es decir la parte inferior del útero o matriz. 2) Cáncer de ovario: el cual inicia en los ovarios. 3) Cáncer de útero: de igual forma comienza en el útero (órgano en forma de pera invertida situado en la pelvis). 4) Cáncer de vagina: comienza en la vagina y es el tubo que conecta desde la base del útero a la parte exterior del cuerpo. 5) Cáncer de vulva: este tipo de cáncer comienza en la parte externa del aparato reproductor femenino, es decir los órganos genitales externos (que incluyen los labios mayores o externos y los labios menores o internos, el clítoris y la abertura de la vagina). Existen también otros tipos de cáncer asociados a este grupo, como son el cáncer de trompas de Falopio y el cáncer peritoneal primario.

Por tal motivo el CaCU también conocido como cáncer uterino o de cuello uterino se puede definir como el crecimiento incontrolado de células y tejidos anormales en el cuello uterino, siendo un tipo de cáncer que crece lentamente que incluso puede darse el caso que no presente sintomatología, pero se encuentra diferencias claras en el frotis de Pap común. En el caso de los tipos de CaCU que presenten sintomatología se pueden presentar sangrado vaginal, expulsión de flujo vaginal inusual, dolor pélvico, dolores durante las relaciones sexuales (CDC, 2011; INC, 2014). Para la detección y diagnóstico del CaCU se pueden utilizar los procedimientos descritos en el Cuadro 3.

Como ya se mencionó en los principales datos epidemiológicos en las mujeres se observa que dentro de los 5 tipos de cáncer con mayor frecuencia a nivel mundial el CaCU ocupa la quinta posición (CDC, 2013; WHO, 2014a). En lo que a la región de las Américas respecta la PAHO (2014a) sostiene que el CaCU es la segunda causa más frecuente de cáncer en las mujeres de América Latina y el Caribe, donde fue responsable de más de 35,600 muertes en el 2012 y en Centroamérica fue el cáncer que más vidas cobro. En ese sentido las tasas de mortalidad de CaCU son 3 veces más altas en América Latina y el Caribe que en Norteamérica debido a la desigualdad en los servicios de salud (PAHO, 2014).

En México en las mujeres las neoplasias en órganos genitales fue la segunda causa de morbilidad con un 16.7% (principalmente en cuello uterino y útero), y en lo que a las causas de mortalidad en las mujeres se refiere, el cáncer en órganos genitales ocupa el tercer lugar (13.43

por cada 100 mil habitantes) (INEGI, 2014b). De la misma forma el INEGI (2014a) asegura que el cáncer en órganos genitales ocupa el tercer lugar en morbilidad en las mujeres en Sinaloa con 11.6% (principalmente el cáncer de cuello uterino y del útero) y en lo que a las tasas de mortalidad se refiere en las féminas el cáncer en órganos genitales ocupa la tercera posición nuevamente con 9.66 por cada 100 mil habitantes (siendo principalmente cáncer de cuello uterino y del útero).

Por tal motivo y con base en los datos antes mencionados es de vital importancia seguir trabajando en el diagnóstico y sobre todo prevención del CaCU, considerada por la WHO (2014a) como una enfermedad de salud pública a nivel mundial, sobre todo cuando esta terrible enfermedad puede disminuir en más del 80% su morbilidad y mortalidad al llevar a cabo los programas de detección oportunos como la prueba de Pap (INC, 2014).

En materia de salud en México, el programa nacional de cribado de cáncer cervicouterino ha existido desde 1974, y a pesar de los avances tecnológicos y científicos el cáncer en órganos genitales (CaCU y de útero principalmente) es la tercera causa de muerte entre las mujeres mayores de 20 años que padecen cáncer (INEGI, 2014b).

En ese sentido la prueba de Pap es actualmente la principal herramienta de detección de CaCU en el mundo (Flores y col, 2011), asimismo dichos investigadores aseguran que en algunos países a reducido significativamente la morbilidad por CaCU. Reportes de los sistemas de salud especializados en cáncer de los Estados Unidos de América afirman que los exámenes de detección como la prueba de Pap pueden disminuir la incidencia y mortalidad por cáncer en más del 80% (INC, 2014), datos que coinciden en México donde se tiene evidencia que los programas de cribado de cáncer bien implementados pueden reducir potencialmente el CaCU entre un 60-90% posterior a los 3 años del cribado e incluso la sensibilidad de la prueba de Pap oscila entre el 40-80% para la detección de NIC 2/3 (Flores y col, 2011).

Desafortunadamente para el correcto diagnóstico ha existido discrepancias en la nomenclatura que se le han venido asignando a las displasias cervicales, por ello y debido a la complejidad para solventar estos problemas en la clasificación es importante mencionar que uno de los sistemas de clasificación que sigue ampliamente utilizado es el propuesto por Richard en 1967 (Lacruz-Pelea, 2003), donde propuso el termino de neoplasia intraepitelial cervical (NIC) con tres

grados progresivos (NIC-1, NIC-2 y NIC-3) incluyendo en el grado 3 a displasias graves y al carcinoma in situ (CIS) resaltando que la ventaja principal en este sistema de clasificación es el reconocimiento de la unidad del proceso patológico lo cual conlleva a una relación con las técnicas terapéuticas, clasificación que vale la pena mencionar ha sido considerada bastante adecuada por más de 20 años y que sigue siendo utilizada en la práctica médica actual, desafortunadamente numerosas publicaciones a nivel internacional señalaron el hecho de la baja seguridad diagnóstica tanto en material cito como histológico que presenta Richard, por tal motivo Lacruz-Pelea (2003) sostiene que diversos organismos internacionales, científicos y profesores en el Instituto Nacional del Cáncer en Estados Unidos de América en Bethesda (Maryland) en 1988 llevaron a cabo un nuevo sistema de nomenclatura para informes citológicos y ginecológicos (Sistema o clasificación de Bethesda), en el que unificaron criterios y se adoptaron recomendaciones en general donde la parte fundamental de esta nueva clasificación se sustentan en un sistema binario para catalogar anomalías. La clasificación contempla para células preneoplásicas el término lesiones escamosas intraepiteliales de bajo o alto grado (LEIBG o LEIAG) donde las LEIBG contemplan a las NIC-1 y NIC-2 de Richard y las LEIAG a las NIC-3. Cabe la pena mencionar que esta clasificación ha tenido mínimas modificaciones siendo la del 2001 la última actualización.

Con relación a la nomenclatura para el CaCU y los diferentes estadios el INC (2014) propone la siguiente clasificación:

1) Carcinoma *in situ* (estadio cero): las células anormales se localizan en la parte más interna del cuello uterino, las cuales se pueden volver cancerosas e iniciar el proceso de metástasis.

2) Estadio I: en este estadio el cáncer se localiza solamente en el cuello uterino, para su estudio este se divide en estadio IA y IB dependiendo de la cantidad de cáncer que se encuentre.

3) Estadio II: en esta etapa el cáncer se diseminó más allá del cuello uterino pero no ha llegado a la pared de la pelvis o al tercio inferior de la vagina. Para su estudio este estadio se divide en IIA y IIB dependiendo de la distancia a la que el cáncer se haya diseminado.

Cuadro 3 Pruebas para detección y diagnóstico de cáncer cervico uterino

Procedimiento	Descripción
Examen físico y antecedentes	El objetivo es revisar el estado general de salud e identificar cualquier signo de enfermedad, como nódulos. Se registran datos de los hábitos de salud de la paciente, antecedentes de enfermedades y tratamientos aplicados según sea el caso.
Examen pélvico	Examen de la vagina, cuello uterino, útero, las trompas de Falopio, los ovarios y el recto. El prestador de servicios introduce uno o dos dedos cubiertos con guantes lubricados en la vagina al mismo tiempo que ejerce ligera presión con la otra mano en la parte inferior del abdomen para palpar el tamaño, la forma y posición del útero y los ovarios. También se introduce un espejo vagina para que se observe la propia vagina y el cuello uterino en búsqueda de anomalías, normalmente se toma una prueba de Pap así como es inspeccionado el recto para palpar masas o áreas anormales.
Prueba de Pap	Prueba que permite tomar células de la superficie del cuello uterino y la vagina. Con un trozo de algodón, un cepillo y una paleta o mango de madera se raspa suavemente las células del cuello uterino y la vagina, estas son observadas en microscopio en busca de anomalías.
Prueba del VPH	Estudio de laboratorio donde se analizan las muestras que se extrajeron en la prueba de Pap trabajando con el DNA o RNA de células del cuello uterino en búsqueda de infecciones por el VPH.
Legrado endocervical	Procedimiento que recoge células o tejidos del canal del cuello uterino a través de un instrumento en forma de cuchara (cureta) para observarlas bajo microscopio y determinar si hay signos de carcinogénesis. Se puede llevar a cabo al mismo tiempo que la colposcopia.
Colposcopia	Se realiza a través de un instrumento con aumento y luz (colposcopio) para determinar si hay áreas anormales en la vagina y cuello uterino. De ser necesario se puede extraer tejido para observarse en microscopio con una cureta.
Biopsia	Se solicita si se encuentran anomalías en la prueba de Pap, cortando una muestra de tejido del cuello uterino para que el patólogo la observe al microscopio y determine si hay signos de cáncer.

Modificado del Instituto Nacional de Cáncer (2014)

4) Estadio III: en esta etapa el cáncer se diseminó hasta el tercio inferior de la vagina, incluso hasta la pared de la pelvis o haber causado daño renal, de igual forma que el estadio II, en esta etapa dependiendo de la distancia a la que se diseminó el cáncer se clasifica en IIIA y IIIB.

5) Estadio IV: existe plena metástasis, logrando llegar a la vejiga, el recto o incluso otras partes como el hígado, los intestinos, los pulmones, los huesos y se clasifica en estadio IVA y IVB dependiendo de la magnitud de la metástasis.

Por todo lo anterior queda claro que las displasias cervicales de no ser diagnosticadas a tiempo y en última instancia el CaCU es un problema de salud pública de primer orden a nivel internacional, el cual puede ser prevenible en más de un 80% su morbimortalidad de implementar estrategias de prevención y diagnóstico. En ese sentido si bien es cierto existen trabajos en la región respecto a la genotipificación del VPH previamente realizados por el grupo de investigación encabezados por el Dr. Guadalupe Rendón aún no se ha dilucidado la asociación entre los polimorfismos genéticos en *P53* y *MDM2* y el desarrollo de displasias cervicales y/o CaCU.

#### F. ANTECEDENTES

Las investigaciones relacionadas a la genotipificación del VPH y la asociación a los SNP en el codón 72 del gen *P53* y en 309 de *MDM2* con el desarrollo de displasias cervicales y el CaCU a nivel internacional destacan las siguientes:

Los genotipos del VPH 16 y 18, considerados de alto riesgo son responsables de más del 99% del CaCU (Alemany y col, 2014; Bencomo-Alvarez y col, 2012; Lewis, 2004), además Lizano y col, (2009), Lewis, (2004), Rivera y col, (2002) afirman que se han incluido a la lista de virus de alto riesgo a los genotipos 31, 33, 35, 39, 45, 51 52, 56, 58, 59, 68, 73 y 82. De tal manera que los VPH de bajo y alto riesgo pueden ser causantes de NIC-1. Una metaplasia atípica que sea inducida principalmente por un VPH genotipo 16, 18 y 31 en el cérvix o útero puede progresar a unas NIC-2 o NIC-3, responsables directas del CaCU, asimismo diversas investigaciones muestran que los genotipos del VPH 16 y 18 han conferido un riesgo de 11 a 16.9 veces de desarrollar rápidamente una NIC-2/3 (INC, 2014).

Por otro lado en una revisión un grupo de investigadores Lizano y col, (2009) mostraron evidencia donde se afirma que existen más de 200 genotipos de VPH, resaltando los que infectan a la mucosa genital se agrupan como  $\alpha$ -papilomavirus mientras los que infectan la piel son los  $\beta$ -papilomavirus, existen también otros grupos como  $\mu$ -,  $\delta$ -, y  $\gamma$ -papilomavirus. Además los genotipos más comunes a nivel mundial fueron reportados el VPH 16 ( $\geq 50\%$ ), 18 (menor frecuencia que el VPH 16), 31 ( $\approx 6\%$ ), 33 (4-8%), 45, 52 y 58 (sin datos). Por su alta frecuencia a nivel mundial del VPH 16 y 18 en el CaCU se han identificado 5 ramas filogenéticas del VPH 16: Europea (E), Asiático (As), Asiático Americano (AA), dos variantes de África (Af-1 y Af-2). Mientras que en el genotipo VPH 18 se han identificado 3 ramas filogenéticas: Europea (E), Asia-Amerindia (AsAi) y África (Af). Se ha propuesto que las ramas filogenéticas del genotipo VPH 18 están vinculadas a los patrones de migración en la historia de la humanidad.

En otra instancia El khair y col, (2010) reportaron que los pacientes con el genotipo Arg presentan una alta probabilidad de desarrollar CaCU con respecto a las que presentan el genotipo Pro. Por tal motivo los autores examinaron si el SNP de Arg en el codón 72 del gen *P53* pudiera representar un factor de riesgo para las pacientes con VPH de alto riesgo (16 y 18) asociados con displasias cervicales en Marruecos. Los resultados indicaron que no se encontró asociación significativa en la distribución de los SNP de Arg en el codón 72 del gen *P53* en sí, así como la combinación con el VPH no puede ser un factor de riesgo genético para CaCU, por tal motivo se debe de prestar especial atención a otros factores de riesgo ya conocidos como el comportamiento sexual (promiscuidad, ITS, inicio de actividad sexual, etc.) el tabaquismo por mencionar algunos.

Asimismo en una investigación realizada en Venezuela Cruz-Gómez y col, (2010) tuvieron como objetivos determinar la distribución del SNP del codón 72 en el gen *P53* en pacientes con displasias cervicales ocasionadas por VPH. Para probar sus estudios utilizaron 59 controles sanos y 59 pacientes con NIC-1, NIC-2, NIC-3, se amplificó el exón 4 del gen *P53* y se genotipificó el codón 72 mediante PCR. Se determinaron las frecuencias de los genotipos homocigotos Arg/Arg 32.2% de los casos y los controles 50.85%, para el genotipo Pro/Pro 5.09% de los casos y controles 11.86% y el heterocigoto Pro/Arg 62.71% de los casos y 37.29% para los

controles. Se llegó a la conclusión que no existió una relación estadísticamente significativa entre la presencia del homocigoto para Arg y el desarrollo de displasias cervicales.

De nuevo en Venezuela, ahora Chiurillo y col, (2010) determinaron a través de PCR-RFLP la frecuencia del SNP Arg72Pro en el gen *P53* en una muestra mixta de la región centroccidental de Venezuela y etnias amerindias (Pemón y Warao) residentes del mismo país. Observaron que predominó el alelo Arg en el SNP en la población venezolana de origen mixto (69.3%) como en las etnias de nativos americanos (Warao: 81%; Pemón: 86.2%). Encontraron diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.001$ ) con respecto a la población africana y asiática, lo anterior resalta la importancia de marcadores polimórficos y la variación étnica son el resultado potencial de la migración y el mestizaje.

Bertuccio y col, (2011) se propusieron aumentar la utilidad clínica de los datos virológicos a través de la identificación del ARNm de la oncoproteína E6 y E7, y encontrar una correlación entre el SNP del codón 72 del gen *P53* y la integración de VPH en el genoma de la célula huésped. Se analizaron 80 muestras cervicales con VPH 16, 18, 31, 33 y 45. Los resultados indicaron que el 20% del total de las muestras analizadas fueron positivas para el RNAm del VPH, donde no hubo diferencias significativas en la distribución de los homocigotos para Pro y Arg. Bertuccio y col, (2011) sugieren con base en sus resultados que una diferencia estructural en el codón 72 del gen *P53* no es un factor de riesgo suficiente para la el desarrollo de CaCU.

En otras investigaciones, en Sudan, Eltahir y col, (2012) analizaron los genotipos 16 y 18 de VPH en 78 pacientes con CaCU vs 36 casos control. La pérdida de heterocigosidad (LOH) del gen del retinoblastoma (*RB*) en dos sitios polimórficos (intrones 1 y 17) y el SNP en el codón 72 de *P53* se detectaron por RFLP y PCR-alelo específico, respectivamente. El VPH 16 y 18 se encontraron con las frecuencias de 93.6% y 8.3% en las muestras de CaCU y control respectivamente. LOH fue detectado en el 63% de los pacientes en el intrón 1 y/o intrón 17. La frecuencia de *P53* para homocigotos en Arg fue de 43.6% (34 de 78 pacientes), para heterocigotos Arg/Pro fue de 37.2% (29/78) y para homocigotos en Pro 19.2% (15 de 78 pacientes). El presente estudio mostró una asociación significativa en la pérdida alélica del cromosoma *RB* en pacientes con CaCU, mientras que tal asociación se observó con otros parámetros, como el estadio clínico y el grado de diferenciación; por lo tanto, no puede ser un determinante de comportamiento del tumor en el

CaCU. Aunque el alelo Arg *P53* es en sí mismo un factor de riesgo importante para el CaCU, el riesgo combinado con LOH de *RB*, que parece ser mayor, podría indicar un posible efecto epistático de los dos genes/polimorfismos

Las infecciones de alto riesgo ocasionadas por los genotipos del VPH 16 y 18 han sido documentadas como un agente etiológico causal del CaCU. Por tal motivo Oliveira y col, (2012) se dieron a la tarea de evaluar el papel de la Asp1853Asn de la proteína mutada ataxia-telangiectasia (*ATM*) (5557G>A) y el SNP 53bp1 Asp353Glu (1236C>G) en el desarrollo del CaCU. El análisis estadístico reveló que las pacientes homocigotas Gly en 5557 de *ATM* (RM=1.94;  $p=0.444$ ) presentan un mayor riesgo de desarrollar infecciones de bajo riesgo causadas por VPH (NIC-1), mientras que el SNP Cys1236Gly en *P53BP1* no se encontró ninguna asociación. Sin embargo se observó una mayor probabilidad a una infección de alto riesgo de VPH (genotipos 16 y 18; o NIC-2/3) en aquellos pacientes portadores de alelos Cys en el codon1236 de *P53BP1* (RM=1.63;  $p=0.069$ ). La regresión logística ajustado por edad no reveló diferencias significativas en el análisis ajustado. Este es el primer estudio para evaluar el papel de Asp1853Asn de *ATM* y el SNP Cys1236Gly en *P53BP1* en la susceptibilidad al cáncer de CaCU. Este estudio reveló una posible tendencia de ambos SNP de un patrón de susceptibilidad genética del desarrollo del CaCU.

Por otro lado Chansaenroj y col, (2013) desarrollaron un proyecto donde los objetivos trazados fueron investigar la relación de 3 SNP en la progresión del CaCU en mujeres infectadas con HPV 16. Se tipificaron 2,000 muestras cervicales por el método de secuenciación de PCR para Arg72Pro de *P53*, *P16* (Ins29G>C) y (Ins69C>T y *NQO1* (Pro187Ser). Los resultados indicaron que el SNP Arg72Pro en *P53* podría estar asociado con el riesgo de desarrollo de CaCU en pacientes con VPH 16.

El genotipo de Arg/Arg vs Arg/Pro o Pro/Pro en el codón 72 del gen *P53* asociado al VPH 16 ha sido identificado como un marcador de riesgo en CaCU. El objetivo de otra investigación (Burrioni y col, 2013) fue identificar si el SNP de Arg72Pro de *P53* solo y la combinación variantes específicas del VPH 16 (proteína E6) presentar riesgo en el desarrollo de NIC-1 y NIC-2/3 en una población italiana. Los datos mostraron diferentes distribuciones estadísticamente significativas en los controles sanos y las pacientes con lesiones NIC-1 respecto a las pacientes homocigoto

Arg en *P53* donde aumenta a una NIC-2/3. La variante Thr350Gly del VPH 16 fue la más observada en la población italiana que muestra una disminución en la gravedad de la displasia, mientras que el genotipo Thr en el codón 530 aumentó ligeramente la gravedad de la displasia cervical. En conclusión, homocigotos Arg en el gen *P53* se encontró que se incrementó en LEIAG, soportado en los resultados de investigaciones anteriores que indican que los pacientes VPH positivos Arg/Arg en *P53* tienen un mayor riesgo de desarrollar displasias cervicales. Además, la variante Thr350Gly VPH 16 fue sobre representada en mujeres homocigoto Arg en *P53* con lesiones cervicales. Cuando los genotipos *P53* y el genotipo VPH 16 se consideran en conjunto, no hay diferencia entre los casos y controles.

En otras instancias la OPS sostiene que la probabilidad de padecer CaCU en América Latina y el Caribe relacionada con una variante AA del VPH fue mayor que en comparación con la variante E (Lewis, 2004). Además en esa misma publicación la OPS afirma que casi el 25% del CaCU en México se atribuyeron a variantes AA del VPH 16. Asimismo Lewis (2004) afirma que en Costa Rica las mujeres infectadas con las variantes no europeas de VPH 16 hubo 11 veces más posibilidades de que fueran diagnosticadas con CaCU en comparación con las mujeres infectadas con el genotipo 16 del VPH.

Un estudio epidemiológico en pacientes con CaCU en México Lizano y col, (2009) sugieren que la variante AA del VPH 16 (subclases de AA y AA-A-C) pueden ser hasta 9 veces más oncogénico que la variante E, mientras que la variante AA comparada con otras que no sea la E existe un riesgo de hasta 4.5 veces de NIC-2/3. Respecto a la variante VPH 18 en CaCU, LEIBG y epitelio cervical normal tiene un comportamiento diferente, la variante Af del VPH 18 se encuentra en carcinoma de células escamosas y en una proporción más alta en LEIBG, mientras que la variante E y AsAi del VPH 18 fueron encontradas en todos los tipos histológicos, incluyendo aquellos con los peores pronósticos.

Aunado a ello en una investigación Illades-Aguiar y col, (2009) llevaron a cabo con pacientes en el estado de Guerrero, encontrando que el VPH estuvo presente en el 100% del CaCU y en el 35.5% de los controles. Los genotipos de distribución del CaCU fueron; HPV 16 (66.8%), 18 (9%), 31 (7.5%), 45 (4.5%), 58 (3.7%), 69 (3%), 52 (1.6%), 6, 11, 33, 56, y 67 (0.8% cada uno). Los factores de riesgo significativos encontrados con el CaCU se asocian a la edad de la primera

relación sexual <16 años (RM = 9,6) y contar con 3 o más gestas (RM = 16). Las conclusiones son que el genotipo 16 es por mucho el más frecuente en el CaCU, siendo los VPH 16 y 18 los responsables de 75.8% de los casos de CaCU y para las infecciones de VPH de alto riesgo (NIC 2/3) representan el 94.7%.

Asimismo en otra investigación Pina-Sanchez y col, (2011) analizaron la secuencia del exón 4 del gen *P53* en pacientes con CaCU. El SNP Arg72Arg del gen *P53* fue el más común de los SNP detectados y el análisis Hardy-Weinberg mostró un equilibrio en las muestras control de CaCU ( $p>0.05$ ). Para el SNP Arg72Arg del gen *P53* las diferencias entre las muestras control y las de CaCU fueron ( $p=0.043$ ). los resultados mostraron una asociación entre VPH 16/18 y el SNP en el codón 72 del gen *P53* en pacientes con CaCU ( $p=0.026$ ). Genotipo G>C del codón 36 y 72 tuvo una asociación estadísticamente significativa con CaCU ( $p=0.011$ ). El VPH 16 fue el genotipo viral más común. El SNP Arg72Arg es el polimorfismo más común en la población mexicana y que podría estar asociado con los genotipos VPH 16 o 18 en CaCU.

En un meta-análisis Peralta-Rodríguez y col, (2012) determinaron que los genotipos del VPH más frecuentes en México son los siguientes: HPV 16 (63,1%), 18 (8,6%), 58, y 31 (5%) para CaCU; VPH 16 (28,3%), 58 (12,6%), 18 (7,4%), y 33 (6,5%) para NIC-2/3; VPH 16 (13,1%), 33 (7,4%), 18 (4,2%), y 58 (2,6%) para NIC-1, y el VPH 16 (3,4%), 33 (2,1%), 18, y 58 (1,2 %) para pacientes con citología cervical normal (N). Peralta-Rodríguez y col, (2012) concluyeron que en conjunto los genotipos 58 y 31 (10%) son más comunes que el genotipo 18 (8,6%) en el CaCU.

Investigaciones recientes en Yucatán, México realizadas por Gonzalez-Herrera y col, (2014) evaluaron la asociación común entre el SNP en 6C>T y Ala1298Cys del gen *MTHFR* y el SNP de Arg72Pro del gen *P53* en NIC-1/2/3 o CaCU en mujeres infectadas por VPH. El SNP Ala1298Cys *MTHFR* evidenció diferencias significativas para el heterocigoto A/C y el alelo C, mientras que el genotipo del A/A y el alelo A mostraron ser factores de riesgo para la NIC o CaCU ( $p<0.03$ ). El SNP Pro72 Arg del gen *P53* mostró los genotipos de Arg/Pro y Pro/Pro y para el alelo Pro una asociación de riesgo significativa solo para NIC ( $p<0.03$ ). La interacción *MTHFR/P53* mostraron que las combinaciones AA/ArgArg y AA/ArgPro se asociaron con CaCU y NIC ( $p<0.05$ ) respectivamente. Por lo tanto los resultados sugieren que el SNP Ala1298Cys de *MTHFR* contribuyó con NIC y CaCU. Mientras que SNP Arg72Pro de *P53* solamente contribuyó para la

NIC. El SNP *MTHFR/P53* en combinaciones genéticas con AA/ArgArg y AA/ArgPro están asociados con factores de riesgo genéticos para CaCU y NIC en pacientes infectadas de VPH en México.

En otras investigaciones referentes a otros genes, diversos científicos (Hu y col, 2010) examinaron la asociación del SNP en pacientes con CaCU y NIC-3. Para ello utilizaron dos genes que median la estabilidad de *P53*, -309T>G de *MDM2* y *NQO1* (Pro187Ser) y (Arg139Trp). Además también se examinó la relación entre el genotipo del huésped y el genotipo del tumor del VPH. El péptido de la Arg del codón 72 del gen *P53* fue sobretransmitida en familias caucásicas ( $p=0.043$ ) y los resultados encontrados mejoraron en el subgrupo de pacientes infectadas con VPH 16 y/o VPH 18 afín VPH ( $p=0.026$ ). El alelo C del SNP Pro187Ser de *NQO1* fue también sobretransmitido en todos los casos ( $p=0.026$ ). No se encontró asociación entre SNP -309T>G de *MDM2* o SNP465 *NQO1* en CaCU. Los resultados de Hu y col, (2010) indicaron que los polimorfismos funcionales del codón 72 en el gen *P53* y SNP Pro187Ser de *NQO1* mostraron asociación con CaCU especialmente en mujeres infectadas con VPH 16 y/o 18.

En ese sentido Nunobiki y col, (2010) en Japón investigaron la importancia del SNP -309T>G de *MDM2* en el CaCU. Se examinó el SNP -309T>G de *MDM2* junto con VPH, en total fueron 195 muestras de frotis cervical y 8 de células con CaCU mediante PCR-RFLP. Los resultados obtenidos fueron que 41 pacientes con NIC-2/3 presentaron mayor frecuencia de VPH genotipo 16 y 18 que las 102 muestras con NIC-1 y los 52 controles. Para ello tuvieron un RM (8.88; IC=2.34 a 33.63,  $p=0.003$ ) para el genotipo T>G y G>G en los casos de NIC-2/3 en comparación con los 68 controles. Como conclusiones aseveran que el SNP -309T>G de *MDM2* y la infección de VPH genotipos 16 y 18 pueden estar estrechamente relacionados con el CaCU en pacientes de Japón.

Los estudios son contradictorios mientras un grupo de investigadores en Brasil afirmó una hipótesis que una variante del promotor *MDM2* se asocia con diagnóstico de riesgo a temprana edad de CaCU. Para ello utilizaron PCR y no observaron asociación estadísticamente significativa entre el SNP -309T>G y el CaCU a temprana edad (Nunobiki y col, 2011). Sin embargo Nunobiki y col, (2011) afirman que un SNP -309T>G de *MDM2* aumenta la afinidad del promotor para activador de la transcripción Sp1, lo que genera una mayor cantidad de RNAm del

promotor *MDM2* y por lo tanto una mayor concentración de la proteína Mdm2 y por ende una alteración o inactivación de la vía del *P53*. El SNP -309T>G de *MDM2* se produce con una frecuencia relativamente alta en la población en general y se ha relacionado con la carcinogénesis (Nunobiki y col, 2011).

Por tal motivo Nunobiki y col, (2011) llevaron a cabo un análisis del genotipo de SNP -309T>G de *MDM2* con la genotipificación del VPH en un total de 195 frotis cervicales de pacientes originarias de Japón (52 muestras control, 102 muestras con NIC-1 y 41 muestras con NIC-2/3). Cuando se comparó el genotipo de T/T con T/G + el genotipo G/G, las 41 pacientes con NIC-2/3 tuvieron una mayor frecuencia estadísticamente significativa de VPH genotipos 16 y 18 vs las 102 pacientes con NIC-1 y las 52 pacientes control. Sin embargo no existió diferencias estadísticamente significativa en la prevalencia del genotipo T/G + G/G de la frecuencia en los alelos entre las pacientes con células intraepiteliales escamosas (SIL) y las pacientes control. Además no se encontró diferencia en la frecuencia que fuera estadísticamente significativa entre las SIL del SNP -309T>G de *MDM2* y los 127 pacientes sin VPH genotipos 16 y 18. Además se presentó un aumento de RM para T/G + el genotipo de G/G en los NIC-2/3 en comparación con los 68 pacientes con VPH 16 y 18.

Cabe la pena resaltar que recientemente un grupo de investigadores encabezados por Rios-Tostado y col, (2016) en Sinaloa, México realizaron hasta el momento de la edición de esta investigación el primer estudio genético, el cual por objetivo tuvieron determinar la asociación entre el SNP Arg72Pro de *P53* y el riesgo de desarrollar lesiones cervicales intraepiteliales escamosas en mujeres infectadas con VPH 16 y/o VPH 18. Para ello utilizaron dos grupos; uno de 74 pacientes con VPH16 y/o VPH 18 diagnosticadas con lesiones intraepiteliales escamosas y otro grupo de 130 hemodonadores sanos. Se observó en pacientes con LEIAG que estaban infectadas principalmente por VPH 16 (60.72%) comparados con LEIBG con un 39.28%. VPH 18 estuvo presente en un 68.96% en LEIBG y 31.04% en LEIAG. LEIAG fue la displasia más común en aquellas pacientes que estaban coinfectadas con VPH 16/18. El genotipo Pro/Arg fue el genotipo más común en pacientes con LEIBG vs LEIAG. Por lo tanto Rios-Tostado y col, (2016) concluye que el homocigoto para Arg muestra una mayor susceptibilidad a la infección de

VPH 16, y que estos presentan cerca de 12 veces una probabilidad de riesgo a desarrollar LEIAG comparado con las heterocigotos y el VPH 18.

Con base en los antecedentes mencionados se puede concluir que aún existe controversia a nivel internacional respecto a la asociación entre los polimorfismos Arg72Pro de *P53* y -309T>G de *MDM2* y el desarrollo de displasias cervicales, así como dichos polimorfismos genéticos y el desarrollo de CaCU, y si a esto le sumamos la escasa información existente en México y en Sinaloa entorno a dicha asociación queda claro entonces que el trabajo aun es largo sin embargo los beneficios que se pueden alcanzar al realizar la presente investigación y sobre todo que las autoridades sanitarias como en este caso los SSA puedan implementar un programa permanente de screening a todos sus usuarias a través del HM y el ISC sería una herramienta muy importante de diagnóstico que permitiría a las autoridades en materia de salud tomar decisiones estratégicas en pro a estas patologías, pues como y ya se mencionó hasta un 80% puede curarse de contar con herramientas de diagnóstico, motivo por el cual se cree importante desarrollar esta investigación.

#### IV. JUSTIFICACIÓN

Por todo lo anterior se puede decir que el CaCU es un problema de salud pública internacional, el cual se encuentra entre los 5 tipos de cáncer más comunes en las mujeres. Este tipo de cáncer se presenta con incremento en la frecuencia en países en vías de desarrollo como México, donde ocupa el segundo y tercer lugar en morbi-mortalidad respectivamente.

En México el programa nacional de cribado de cáncer cervicouterino se ha implementado por la Secretaría de Salud desde 1974, el cual actualmente además de realizar el Pap, lleva a cabo la observación del cérvix a través de colposcopia y captura de híbridos; sin embargo, es prioritario realizar diagnóstico molecular y análisis genético de la población tanto para los papilomavirus como para factores de riesgo como antecedentes patológicos y no patológicos, heredofamiliares, consumo de tabaco y drogas, exposición a agroquímicos, edad de inicio de relaciones sexuales por mencionar algunos, los cuales se han asociado a la infección por VPH y que desafortunadamente no son tomados en cuenta.

Hoy en día el diagnóstico molecular es implementado en muchos países de primer mundo, en ese sentido, la genotipificación del VPH está muy limitada en México; sin embargo, existe evidencia que el CaCU se puede disminuir en más del 80% su morbi-mortalidad internacionalmente al implementar programas de diagnóstico molecular y estudios genéticos de detección oportuna. Desafortunadamente en Sinaloa se carece de este tipo de programas motivo por el cual se propone la presente investigación.

## V. HIPÓTESIS

Los genes *P53* y *MDM2* están asociados al desarrollo de displasias cervicales que son propensas a desarrollar cáncer cervicouterino en presencia del virus del papiloma humano 16 y 18 en pacientes atendidas en el Hospital de la Mujer y el Instituto Sinaloense de Cancerología en Culiacán, Sinaloa.

## VI. OBJETIVO GENERAL

### A. OBJETIVO GENERAL

Determinar la frecuencia del virus del papiloma humano y los genotipos de alto riesgo en mujeres con displasias y sin displasias cervicales atendidas en el Hospital de la Mujer y en el Instituto Sinaloense de Cancerología, así como evaluar la asociación de los polimorfismos de *P53* y *MDM2* con la patología.

### B. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Determinar la frecuencia de virus del papiloma humano genotipos 16 y 18 en mujeres con displasia y sin displasia cervical atendidas en el Hospital de la Mujer y en el Instituto Sinaloense de Cancerología.
2. Determinar las frecuencias génicas y alélicas del polimorfismo Arg72Pro del gen *P53* en mujeres con displasia y sin displasia cervical atendidas en el Hospital de la Mujer y en el Instituto Sinaloense de Cancerología.
3. Determinar las frecuencias génicas y alélicas del polimorfismo -309T>G del gen *MDM2* en mujeres con displasia y sin displasia cervical atendidas en el Hospital de la Mujer y en el Instituto Sinaloense de Cancerología.
4. Evaluar otros cofactores asociados a displasias y genotipos de VPH en mujeres atendidas en el Hospital de la Mujer y en el Instituto Sinaloense de Cancerología.
5. Correlacionar las frecuencias del VPH y de los polimorfismos en mujeres con displasia y sin displasia cervical atendidas en el Hospital de la Mujer y en el Instituto Sinaloense de Cancerología.

## VII. MATERIALES Y MÉTODOS

### A. MATERIALES

#### 1. Tipo de estudio

El diseño de estudio es retrospectivo, observacional y transversal con un  $n$  de 150 pacientes mismas que fueron seleccionadas del Hospital de la Mujer (HM) y del Instituto Sinaloense de Cancerología (ISC), ambas instituciones ubicadas en Culiacán Sinaloa y pertenecientes a los Servicios de Salud de Sinaloa (SSA). Las muestras fueron colectadas de enero a julio del 2015.

#### 2. Criterios de inclusión

La inclusión de pacientes se obtuvo de aquellas féminas que acudieron al servicio de clínica de colposcopia del HM e ISC respectivamente a realizarse la prueba de Pap. A dichas pacientes se le informó sobre el proyecto y aquellas que aceptaron participar se les solicitó la firma del consentimiento informado.

#### 3. Criterios de exclusión

Las pacientes que no emitieron por escrito su aceptación fueron excluidas del proyecto.

#### 4. Criterios de eliminación

A las pacientes que fueron incluidas en el proyecto se les realizó una punción venosa para extraer sangre periférica para el análisis genético. Las muestras de sangre periférica que no cumplieron con los requisitos internos del Laboratorio de Inmunología de la Facultad de Ciencias Químico Biológicas (FCQB) de la UAS fueron eliminadas el proyecto. En el caso de las muestra de células cervicales que se recolectaron fueron eliminadas aquellas que no fueron suficientes y en las que el control interno de reacción ( $\beta$ -globina) fue negativo, según las políticas de calidad del laboratorio de Microscopia de la misma facultad.

## 5. Cuestionario

Se aplicó una encuesta a las pacientes que hayan aceptado y firmado previamente el consentimiento informado, la cual tuvo como objetivo recabar datos sobre los principales antecedentes heredofamiliares como neoplasias, antecedentes personales no patológicos como multiparidad, el uso de anticonceptivos, tabaquismo, exposición a agroquímicos entre otros antecedentes personales patológicos, incluyendo citología vaginal (Anexo 1).

## 6. Toma de muestra

En el caso de la toma de muestra de sangre periférica consistió en una punción venosa que en la mayoría de los casos la sangre fue extraída de una vena localizada en la parte interna del codo o en el dorso de la mano.

Con relación a la toma de muestra de tejido cervical, se le solicitó a la paciente vestirse con una bata de uso único para cada paciente y se le indicó que se acostara en posición ginecológica en la toma de muestra, con ayuda de un espéculo se introdujo suavemente dos pulgadas en la cavidad vaginal hasta visualizarse el cérvix, inmediatamente se introdujo el citobrush y se giró para extraer células del ectocérvix y endocérvix.

Posteriormente el citobrush se colocó en un tubo de ensaye de vidrio que contenía 1.5 ml de solución amortiguadora de fosfatos (PBS), pH 7.4 debidamente estéril en donde se introdujo el extremo del citobrush con la finalidad de conservar las muestras obtenidas del raspado cervical (Robles-Castro, 2011). Los tubos fueron tapados correctamente con la ayuda de una gasa estéril para posteriormente ser transportados al laboratorio de Inmunología y Microscopia de la FCQB de la UAS, donde fueron procesados para su análisis genético y molecular respectivamente.

## B. MÉTODOS

### 1. Extracción, purificación y cuantificación de DNA

La extracción de ADN de las muestras citológicas fue como a continuación se describe. Las muestras se transportaron a tubos eppendorf de 2 mL en un medio líquido de solución amortiguadora de fosfatos (PBS 1X), se agitaron vigorosamente en vórtex durante 20 segundos, posteriormente se centrifugaron a 14,000 rpm durante 1 minuto. Y se inició la extracción

utilizando el Kit *Wizard Genomic DNA Promega* siguiendo las recomendaciones del fabricante con algunas modificaciones como: se decantó el sobrenadante y se resuspendió el sedimento en 600  $\mu\text{L}$  de *Nuclei Lysis solution* más 8  $\mu\text{L}$  de proteinasa K (10 mg/mL) y mezclar por pipeteo e incubar a 55 °C por 24 horas. Posterior a la incubación se agregaron 3  $\mu\text{L}$  de *RNasa solution* y se incubó a 37 °C durante 30 minutos. Se agregaron 200  $\mu\text{L}$  de *Protein precipitation solution* y se agitó por vórtex a máxima velocidad por 20 segundos y se incubaron las muestras en hielo por 5 minutos. Se centrifugó a 14,000 rpm por 4 minutos y se transfirió el sobrenadante (con ADN) a un tubo nuevo rotulado *eppendorf* de 1.5 mL y se agregaron 600  $\mu\text{L}$  de isopropanol frío, mezclar cada uno por inversión suave (hasta observar hebras blancas de ADN). Se centrifugó a 14,000 rpm por 1 minuto y descartará el sobrenadante cuidadosamente. Se agregaron 600  $\mu\text{L}$  de etanol al 70% y se lavó el ADN por inversión suave, se centrifugó a 14,000 rpm durante 1 minuto; este paso se repetó dos veces. Se dejó secar el pellet de ADN en una campana de extracción hasta observar que el tubo esté completamente seco. Se agregaron 50  $\mu\text{L}$  de *ADN Rehydration solution* y se incubó a 65 °C durante 1 hora. Una vez extraído el ADN se comprobó la integridad de éste mediante electroforesis en geles de agarosa al 1%, fue evidenciado el ADN con la ayuda de un agente intercalante como el *GelRed* a una concentración de 1000x que se le añadió a la agarosa previamente. Posteriormente con la ayuda de un Transiluminador UV (*EspectroLine*) será visualizado el material genético.

## 2. Genotipificación del virus de papiloma humano 16 y 18

Una vez extraído el ADN se cuantifico su concentración mediante espectrofotometría y se verificó su integridad en electroforesis en geles de agarosa al 1%. La reacción en cadena de polimerasa (*PCR*) se realizó a un volumen de 25  $\mu\text{l}$ , lo anterior respaldado por los protocolos reportados con ligeras variaciones como la temperatura de alimentación. Se emplearon 12.5  $\mu\text{l}$  de Master Mix (Promega); 1.5  $\mu\text{l}$  de  $\text{MgCl}_2$ ; 1  $\mu\text{l}$  de cada oligonucleótido; 4  $\mu\text{l}$  de agua inyectable y 5  $\mu\text{l}$  de DNA a cada una de las muestras.

Se utilizó un termociclador *mastercycler (Eppendorf)* para llevar a cabo la *PCR*. Para la verificación de las condiciones de ADN se amplificó un fragmento de 250 pb, correspondientes al gen de la  $\beta$ -globina humana, esto para llevar un control interno de la reacción. Los productos de

*PCR* se corrieron en geles de agarosa al 1.5% mismos que fueron visualizados con gel red 0.5X en el transiluminador (*Spectrolite Select Series*). Como control negativo se utilizó agua inyectable estéril, en lugar de ADN en la mezcla de 25 µl y como control positivo para VPH 16 y 18 se utilizó ADN de células *SiHa* y *HeLa*, respectivamente.

Las condiciones de reacción de *PCR* así como la temperatura de desnaturalización, alineación y de extensión para el control interno de reacción y de los VPH genotipos 16 y 18 se muestran en el Cuadro 4 y Cuadro 5 respectivamente. Asimismo, las secuencias de los iniciadores para el control interno, el VPH 16 y 18 se describen en el Cuadro 6.

Para la genotipificación del VPH, primero se busca la presencia del virus amplificando una región del gen estructural de la cápside viral utilizando oligos consenso GP (5/6+) que amplifican un fragmento de 150 pb. Posteriormente, se busca la presencia de los genotipos de VPH 16 y 18 para los cuales se utilizaron los iniciadores específicos, mismos que amplifican una región de los genes E6/E7 (76-82) del genoma del papilomavirus 16 y 18 mediante *PCR Nested Multiplex* para poder identificar el genotipo del papilomavirus y verificarlo mediante electroforesis en geles de agarosa al 1.5%.

La primera ronda de *PCR* se realizó con los *primers* consensos GP-E6/E7 (Cuadro 6) la cual, facilitó la amplificación inicial del ADN genómico de todos los VPH de tipo mucosas y así, se obtuvo el suficiente material para ser reamplificado por *Nested PCR* con *primers* de tipo específico (para VPH- 16 se generó un amplicón de 457 pb y para VPH-18 de 322 pb).

Para ello, se tomaron 200 ng de cada muestra, con el cual se realizó el mix con las condiciones que se muestran en el Cuadro 4 y la programación del termociclador en el Cuadro 5.

### 3. Análisis genético

El material genético para ambos genes fue amplificado con la secuencia de iniciadores que se muestran en el Cuadro 7 y las condiciones de reacción para amplificar la región de interés de *P53* y de *MDM2* se observan en los Cuadro 8 y Cuadro 9 respectivamente, asimismo el Cuadro 10 ilustra el programa de termociclado para ambos genes (cabe la pena resaltar que las condiciones fueron las mismas para los dos genes estudiados). Para el gen *P53* se obtuvo un producto final de 203 pb y para el gen *MDM2* se obtuvo un producto de 352 pb, para ambos casos el producto

de PCR se observó mediante electroforesis en geles de agarosa al 1.5% para corroborar la amplificación.

Posteriormente el producto de PCR para *P53* y *MDM2* fueron sometidos a fragmentos de restricción polimórficos de longitud variable (RFLP) según las condiciones que muestran los Cuadro 1 Cuadro 11 y Cuadro 12 respectivamente. La enzima empleada para llevar a cabo la digestión de *P53* fue BstUI y en el caso de *MDM2* se utilizó la enzima MspA1I. Finalmente el producto digerido fue visualizado en geles de agarosa al 2% y en geles de poliacrilamida al 7.5% para *P53* y *MDM2* respectivamente. En el caso de *P53* se observaron los siguientes genotipos: individuos normales A/A (203 pb), individuos heterocigotos A/G (78, 125 y 203 pb) e individuos mutados G/G (78 y 125 pb). Para el gen *MDM2* mostraron los siguientes genotipos: individuos normales T/T (31, 88 y 233 pb), individuos heterocigotos T/G (31, 46, 88, 187 y 233 pb) e individuos mutados G/G (31, 46, 88 y 187 pb).

#### 4. Análisis estadístico

Se empleó estadística descriptiva, los datos de genotipificación de VPH y el análisis genéticos fueron asociados utilizando la prueba estadística de chi cuadrada de Pearson, con un valor de significancia del 95% mediante el software IBM SPSS v 20, posteriormente se calculó la Razón de Riesgo y sus intervalos de confianza.

Cuadro 4 Condiciones de reacción para PCR punto final para genotipificar VPH

Producto	[ ] final
Buffer Master Mix	1X
MgCl <sub>2</sub>	2 mM
Primers	0.2 μM
H <sub>2</sub> O	cbp 50 μL
DNA	200 ng/μL

Tomado de López-Silva (2016)

Cuadro 5 Condiciones del termociclado de PCR punto final para el β-globina, VPH 16 y 18

Productos de PCR	Temperaturas	Tiempos (minutos)
B-globina	Desnaturalización: 94° C	10:00; 0:50
	Alineación: 55° C	0:50
	Extensión: 72° C	7:00
GP (E6/E7)	Desnaturalización: 94° C	5:00; 1:00
	Alineación: 40° C	01:00
	Extensión: 72° C	02:00; 07:00
VPH 16/ 18	Desnaturalización: 94° C	5:00; 00:30
	Alineación: 56° C	00:30
	Extensión: 72° C	00:45; 04:00

Tomado de López-Silva (2016)

Cuadro 6 Secuencia de iniciadores para el control interno, VPH 16 y 18

Primers		Secuencias
β-globina	F	5´- GAAGAGCCAAGGACAGGTAC-3´
	R	5´- CAACTTCATCCACGTTCCACC-3´
GP E6/E7	3F	5´- GGGWGGKACTGAAATCGGT-3´
	5B	5´- CTGAGCTGTCARNTAATTGCT CA-3´
	6B	5´- TCCTCTGAGTYGYCTAATTGCTC-3´
VPH 16	F	5´- CACAGTTATGCACAGAGCTGC -3´
	R	3´- CATATATTCATGCAATGTAGGTGTA -5´
VPH 18	F	5´- CACTTCACTGCAAGACATAGA -3´
	R	3´- GTTGTGAAATCGTCGTTTTTCA -5´

Tomado de López-Silva (2016)

Cuadro 7 Secuencia de iniciadores para polimorfismo Arg72Pro de *P53* y -309T>G *MDM2*

Primers		Secuencias
<i>P53</i>	F	5´-CCC GGA CGA TAT TGA ACA-3´
	R	5´-AGA AGC CCA GAC GGA AAC-3´
<i>MDM2</i>	F	5´-CGG GAG TTC AGG GTA AAG GT-3´
	R	5´-AGC AAG TCG GTG CTT ACC TG-3´

Cuadro 8 Condiciones de reacción para PCR punto final del polimorfismo Arg72Pro de *P53*

Reactivo	[ ] Inicial	[ ] Final	Vol (uL)
H <sub>2</sub> O	-	c.b.p. 50 uL	30.8
Buffer	5X	1X	10
MgCl <sub>2</sub>	25 mM	2.5 mM	5
dNTP's	10 mM	0.2 mM	1
Iniciador F	20 uM	0.2 uM	1
Iniciador R	20 uM	0.2 uM	0.5
Taq DNA Pol	5 U/uL	1.0 U	0.5
DNA	100 ng/uL	200 ng	2

Cuadro 9 Condiciones de reacción para PCR punto final del polimorfismo -309T>G de *MDM2*

Reactivo	[ ] Inicial	[ ] Final	Vol (uL)
H <sub>2</sub> O	-	c.b.p. 50 uL	32.8
Buffer	5X	1X	10
MgCl <sub>2</sub>	25 mM	2.5 mM	3
dNTP's	10 mM	0.2 mM	1
Iniciador F	20 uM	0.2 uM	0.5
Iniciador R	20 uM	0.2 uM	0.5
Taq DNA Pol	5 U/uL	1.0 U	0.2
DNA	100 ng/uL	200 ng	2

Cuadro 10 Programa de termociclado para polimorfismo de *P53* y *MDM2*

Etapa	Temp (°C)	t (min)	Ciclos
Desnaturalización	95	10:00	1
	95	0:30	30
Alineación	57	0:30	
Elongación	72	0:30	
Elongación final	72	5:00	1
Conservación	25	5:00	1

Cuadro 11 Condiciones de digestión enzimática para polimorfismo Arg72Pro de *P53*

Reactivo	[ ] inicial	Vol (uL)
H <sub>2</sub> O	-	2.9
NE Buffer	10X	2
Enzima (BstUI)	20 U/uL	0.1
Amplicón	-	15
Incubar a 60°C durante 3 horas		

Cuadro 12 Condiciones de digestión enzimática para polimorfismo -309T>G de *MDM2*

Reactivo	[ ] Inicial	Vol (uL)
H <sub>2</sub> O	-	2.4
Buffer C	10X	2
BSA	10 ug/uL	0.4
Enzima (MspA1I)	10 u/uL	0.2
Amplicón	-	15
Incubar a 37° C durante 3 horas		
Inactivar a 65° C durante 15 min		

## VIII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En esta investigación se determinó la frecuencia del VPH genotipos 16 y 18 mediante PCR anidada múltiple y se calcularon las frecuencias génicas y alélicas de polimorfismos en los genes *P53* y *MDM2* a través de PCR-RFLP; finalmente se evaluaron otros cofactores asociados a displasias cervicales con la ayuda de un cuestionario tipo encuesta aplicado a las pacientes que fueron atendidas en el HM e ISC de los SSA.

### A. GENOTIPIFICACIÓN DEL VPH

Los datos encontrados muestran que la edad media fue de 39 años con una desviación estándar de 12 años, los resultados del Pap mostraron que 81 (54%) pacientes resultaron con citología normal, 52 (34.7%) pacientes presentaron displasia cervical y 17 (11.3%) fueron descartadas, lo anterior se puede apreciar en el Cuadro 13.

Asimismo para el cálculo de la frecuencia del VPH se empleó la metodología descrita en el capítulo anterior, mismo que se resume en la Figura 4. Después de una adecuada elección y eliminación de muestra, se determinó incluir una n=133 mujeres y se trabajó con 133 muestras de DNA, derivado de lo anterior se observó una frecuencia de 89 (67%) pacientes VPH positivas y 44 (33%) VPH negativas. Dentro de las positivas, la frecuencia de VPH 16 fue de 19 (21.3%), para VPH 18 fue 6 (6.7%) y coinfección VPH16/18 de 6 (6.7%). demás se identificaron otros genotipos de VPH diferentes al 16 y 18 en 52 (65.2) pacientes, los resultados antes mencionados se muestran en el diagrama de Venn en la Figura 5.

Velazquez-Marquez y col, (2010) en su investigación a través del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) en Tlaxcala relacionaron la edad y la infección por VPH observando que la prevalencia de ésta fue más alta (43.5%) en el grupo de 18 a 24 años de edad, y el más bajo (19%) en el grupo de 45 a 54 años de edad. Ninguno de los factores de riesgo mostró asociación con el grado de neoplasia cervical. Por otro lado De la Rosa-Martinez y col, (2016) reportaron en San Luis Potosí que la prevalencia de VPH más alta (78.2%) se observó en el grupo de 15 a 24 años. Resultados que contrastan con la presente investigación porque se encontró que el 100% de la prevalencia de VPH oscila entre el grupo de 30 a 39 años, no mostrando asociación el

grupo etario con el genotipo de VPH, resultados que concuerdan con los observado por Velazquez-Marquez y col, (2010).

En términos generales los resultados encontrados en esta región del país (identificando en primer lugar al VPH 16 con 21.3%) coinciden con los datos observados por Velazquez-Marquez y col, (2010) quienes genotipificaron el VPH en Tlaxcala encontrando al VPH 16 con 45.9% y al VPH 18 con 31.1%, asimismo Salcedo y col, (2014) identificaron en diferentes ciudades de México través del IMSS el VPH 16 en primer lugar (39.4%). Sin embargo, respecto al estudio de De la Rosa-Martinez y col, (2016) afirman que VPH 16 se encuentra en segundo lugar con 16.66% por debajo del VPH 33 con 33.1%, el cual está asociado a LEIAG. Como se puede observar tanto en centro, en diferentes ciudades del país y el noroeste se encontró por mucho en primer y segundo lugar al VPH 16, resultados que coinciden con múltiples investigaciones reportadas en la literatura, donde alrededor el VPH genotipo 16 se ubica como uno de los principales papilomavirus presentes en cérvix tanto en pacientes que presentan algún tipo de displasia como en incluso aquellas pacientes los sistemas de salud pública las catalogan como citología normal al diagnosticarlas como Pap (-) puesto que aún no desarrollan lesiones cervical pero que al presentar infección por VPH y que no ser identificadas a tiempo y sometidas a tratamiento, pueden desarrollar displasias cervicales de alto grado hasta desarrollar CaCU.

El Cuadro 14 se muestra la asociación entre el tipo de displasia cervical y el genotipo de VPH donde cabe resaltar que de las 81 (60.90%) mujeres diagnosticadas con Pap negativo (es decir citología normal) sorprendentemente 39 (48.1%) resultaron positivas a VPH y de las 42 (31.57%) pacientes diagnosticadas con LEIBG, 2 (4.8%) resultaron negativas a VPH. Como se puede observar el Pap no está diseñado para detectar la presencia del genoma viral del papiloma en el DNA del huésped, simplemente permite dar pie a sospechas de lesiones o anomalías a nivel cervical, desafortunadamente los SSA y en general el programa nacional de cribado de cáncer cervicouterino la primer prueba diagnóstica que utilizan es el Pap, mientras no se observe lesión cervical no canalizaron a la paciente a la clínica de colposcopia y en última instancia muestrearla para hacer la captura de híbridos. Lo ideal sería incluir en el programa nacional de cribado de cáncer cervicouterino otras pruebas que incluyan diagnóstico molecular, para canalizar a las

pacientes en etapas tempranas o intermedias lo cual le permitirá tener un diagnóstico oportuno que les permitirá poder manejar mejor las patologías y tener un mejor pronóstico las pacientes. Derivado de lo anterior; un método muy citado y que se afirma que es de los más completos en el mercado es el *Lineal Array* de laboratorios Roche, el cual ya se encuentra ya en el mercado y ha sido sometido a diferentes pruebas científicas por diversos investigadores (Aguilar-Lemarroy y col, 2015; Castro y col, 2015) comparando su calidad, capacidad de diagnóstico y fiabilidad, incluso Flores-Miramontes y col, (2015) analizaron dicho método con pacientes del occidente en México reiterando que es uno de los métodos más completos actualmente. Para la inclusión de estos métodos moleculares podría verse reflejado a corto y mediano plazo en una baja en la frecuencia de displasias cervicales y CaCU permitiendo que estas mujeres puedan llevar una vida normal al diagnosticarlo a tiempo y ser productivas tanto en lo social, lo laboral y en lo personal. En términos generales la asociación entre el tipo de displasia cervical y el genotipo de VPH dio un valor de  $p=0.000$  según el estadístico chi cuadrada de Pearson por lo tanto se afirma que existió asociación estadísticamente significativa entre ambas variables de estudio.

Cuadro 13 Frecuencia de displasias cervicales

Diagnostico	Edad	Total		
	Media	Desviación estándar	Conteo	Porcentaje
Pap (-)	41	11	81	54.0%
LEIBG	34	10	43	28.7%
LEIAG	33	11	6	4.0%
CaCU	34	6	3	2.0%
Sin diagnóstico	44	14	17	11.3%
Total	39	12	150	100.0%

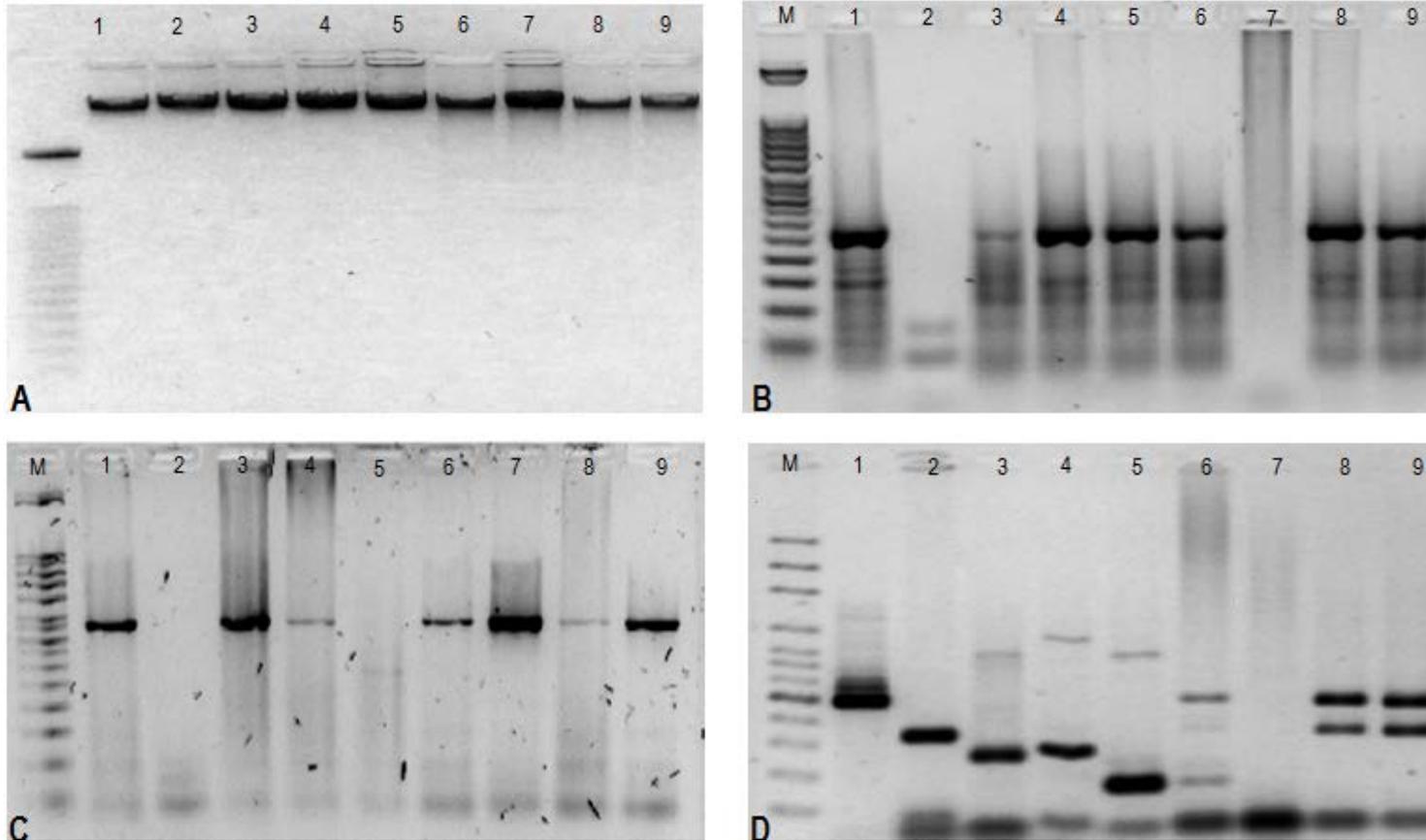


Figura 4 Metodología empleada para genotipificar el papiloma humano. A. Gel de agarosa ilustrando en todos los carriles DNA de células cervicales. B. Gel de agarosa de la amplificación de  $\beta$ -globina como control interno de reacción. C. Gel de agarosa amplificando la región MY (76-82) del VPH. D. Gel de agarosa al 2% donde se aprecia VPH 16 (carril 1 y 6), VPH 18 (carril 2) y coinfección 16/18 (carril 8 y 9).

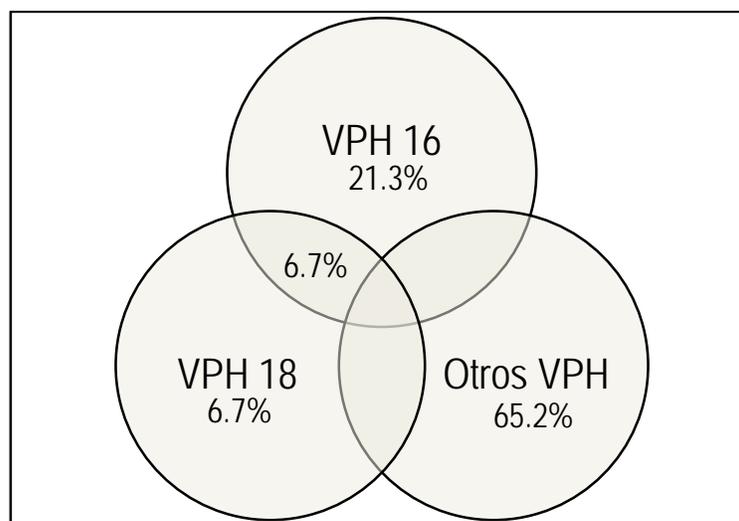


Figura 5 Frecuencia de VPH. Para el cálculo de la frecuencia de VPH no se incluyen a las 17 pacientes que no presentaron diagnóstico de Pap, por lo tanto se trabajó con una n=133 de las cuales 89 (67%) fueron VPH (+) y 44 (33%) fueron VPH (-). De las pacientes VPH (+) 19 (21.3%) pacientes fueron VPH 16, se observó 6 (6.7%) de VPH 18 y el mismo valor para la coinfección VPH 16/18, así como 58 (65.2%) pacientes para otros VPH.

Cuadro 14 Asociación entre el tipo de displasia cervical y el genotipo de VPH

Diagnostico	VPH					Total
	VPH 16	VPH 18	VPH 16/18	Otros VPH	Negativo	
Pap (-) Conteo (%)	13 (16.0)	3 (3.7)	4 (4.9)	19 (23.5)	42 (51.9)	81 (100.0)
LEIBG Conteo (%)	5 (11.9)	3 (7.1)	2 (4.8)	30 (71.4)	2 (4.8)	42 (100.0)
LEIAG Conteo (%)	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)	7 (100.0)	0 (0.00)	7 (100.0)
CaCU Conteo (%)	1 (33.3)	0 (0.00)	0 (0.00)	2 (66.7)	0 (0.00)	3 (100.0)
Total Conteo (%)	19 (14.3)	6 (4.5)	6 (4.5)	58 (43.6)	44 (33.1)	133 (100.0)

## B. ANÁLISIS DEL POLIMORFISMO Arg72Pro DE *P53*

Para el cálculo de las frecuencias génicas y alélicas del polimorfismo en *P53* se empleó la metodología descrita en el capítulo 5, la cual se resume en la Figura 6. Cabe la pena mencionar que la Figura 6 es un ejemplo representativo para identificar las frecuencias génicas del SNP en *P53*, para identificar la frecuencia génica de *MDM2* se utilizó la misma metodología con una variante, posterior a la digestión enzimática se verificó a través de electroforesis en geles de poliacrilamida al 7.5%.

Producto de lo anterior se pudieron obtener las frecuencias génicas del polimorfismo Arg72Pro del gen *P53*, mismos que se muestran en el Cuadro 15, se observó que el homocigoto para prolina fue el más frecuente con 76 (57.1%) pacientes respecto a los otros 2 genotipos, con relación a las frecuencias alélicas se observaron 196 (73.7%) alelos (es decir 98 pacientes) que presentaron guanina, resultados que concuerdan con las frecuencias génicas estando en mayor proporción el homocigoto en prolina (G/G). Lo anterior complementa el primer estudio de Rios-Tostado y col, (2016) en Sinaloa que además de genotipificar el VPH asociaron el SNP Arg72Pro de *P53* y el desarrollo de CaCU y observaron el homocigoto para arginina en primer lugar con una frecuencia de 71.24% de las pacientes y el heterocigoto en segundo lugar con 28.58%.

Respecto a la asociación entre los tipos de displasia cervical y las frecuencias génicas y alélicas el Cuadro 16 muestra los resultados, donde destaca que tanto las pacientes diagnosticadas con Pap (-) y LEIBG presentaron una frecuencia de 45 (56%) y 24 (57%), respectivamente de homocigotos para prolina; sin embargo, en términos generales el homocigoto para prolina presentó una frecuencia de 76 (57%) con un valor de  $p=0.889$  no mostrando asociación estadísticamente significativa entre las displasias cervicales y el genotipo en el polimorfismo de *P53*. Respecto a lo reportado recientemente por Rios-Tostado y col, (2016) se observó una asociación entre el genotipo (homocigotas para arginina) y el riesgo de desarrollar una displasia cervical (poco más de 11 veces probabilidad de desarrollar una LEIAG).

Por otro lado, la asociación entre las frecuencias alélicas y las pacientes con Pap (-) y LEIBG mostró una frecuencia de 118 (72%) (es decir 59 pacientes) y 61 (74.4%) (es decir 30.5 pacientes) de alelos para guanina y en términos generales para los alelos con guanina presentaron una frecuencia de 196 (73.7%) alelos (es decir 98 pacientes) presentes con un valor

de  $p=0.658$  no mostrando asociación estadísticamente significativa. Asimismo para tener un panorama más claro de lo anterior, la Figura 7 muestra una gráfica de barras donde se observa la distribución génica y alélica del SNP Arg72Pro de *P53* con relación al tipo de displasia cervical.

En tanto a la distribución genotípica de las pacientes con Pap (-) se observó un valor de  $p=0.057$  para el Equilibrio de Hardy-Weinberg (EHW) por lo tanto se considera que la población está en equilibrio, y en las pacientes Pap positivas se encontró una  $p=0.856$ , por lo que también se considera que están en equilibrio. Con relación al EHW Rios-Tostado (2016) reportaron que su población de estudio también estuvo en equilibrio.

A pesar de tratarse de dos investigaciones realizadas en el mismo estado, incluso en una institución perteneciente a los SSA como el Hospital General Regional de Culiacán para el caso de Rios-Tostado y col, (2016) y los nosocomios HM e ISC de los SSA para la presente investigación los objetivos fueron muy similares; sin embargo, las poblaciones de estudio fueron diferentes, si los datos concuerdan o en todo caso no contrastan entre estos dos estudios, ambos permiten tener un panorama más completo acerca de la genética poblacional y la predisposición o una posible mutación que proteja a los individuos de una misma región en torno a posibles displasias cervicales y el desarrollo de CaCU.

Complementando lo anterior Koshiol y col, (2009) observaron en Costa Rica una relación entre el SNP Arg72Pro de *P53* y el desarrollo de displasias cervicales, resultados que no concuerdan con los observados en la presente investigación, lo cual podría deberse principalmente a que Koshiol y col, (2009) trabajaron con un total de 465 casos (pacientes con NIC 3), 380 mujeres con infección persistente por VPH, lo cual contrasta con la población estudiada donde el 54% fueron pacientes con citología normal (Pap negativo) y 28.7% con LEIBG, por lo que las poblaciones a pesar de presentar infección por VPH, el mayor porcentaje de la población presentó citología cervical normal (Pap negativo) lo cual afecta directamente las variables a comparar. Lo ideal sería localizar un grupo poblacional con las mismas características de Koshiol y col, (2009), genotipificarlas y analizar el polimorfismos para así poder emitir un comentario crítico y objetivo.

Por otro lado Habbous y col, (2012) afirman que en Canadá el SNP Arg72Pro de *P53* no se asocia con el desarrollo de lesiones cervicales o el inicio de CaCU, resultados que contrastan con el estudio recientemente publicados por Rios-Tostado y col, (2016) en Sinaloa México. Cabe

mencionar que ambas investigaciones analizaron el genotipo de *P53* en pacientes con lesiones cervicales. La controversia se presenta entre la asociación de ciertos polimorfismos genéticos y el desarrollo de displasias cervicales pues es claro se están comparando dos genéticas poblacionales diferentes, sin embargo a eso se refieren los científicos pues mientras en estas investigaciones no coinciden en otros estudios como los de Yuan y col, (2015) realizado en China sí existe asociación entre el polimorfismo Arg72Pro de *P53* y el desarrollo de CaCU, tal y como observo Rios-Tostado y col, (2016) en México.

Incluso en estudios del mismo país como es el caso de Pina-Sánchez y col, (2011) quienes afirman que el homocigoto para Arg en el codón 72 de *P53* es el genotipo más común en México, lo cual no concuerda con los resultados observados en esta investigación donde el genotipo homocigoto mutado (el cambio de citocina por una guanina que dará como resultado un cambio de una arginina en el codón 72 por una prolina en *P53*), se encontró con mayor frecuencia respecto a los otros genotipos.

Es claro entonces que en México y sobre todo en Sinaloa hace falta mucho trabajo por realizar debido a que como ya se comentó el trabajo de Rios-Tostado y col, (2016) y la presente investigación representa los primeros dos estudios referentes al análisis del polimorfismo Arg72Pro en *P53* y el desarrollo de displasias y CaCU, por lo tanto es importante que se lleven a cabo más estudios de este tipo para poder tener un panorama más completo de cómo se comporta la genética poblacional en relación a la asociación a displasias cervicales y el desarrollo de CaCU en Sinaloa.

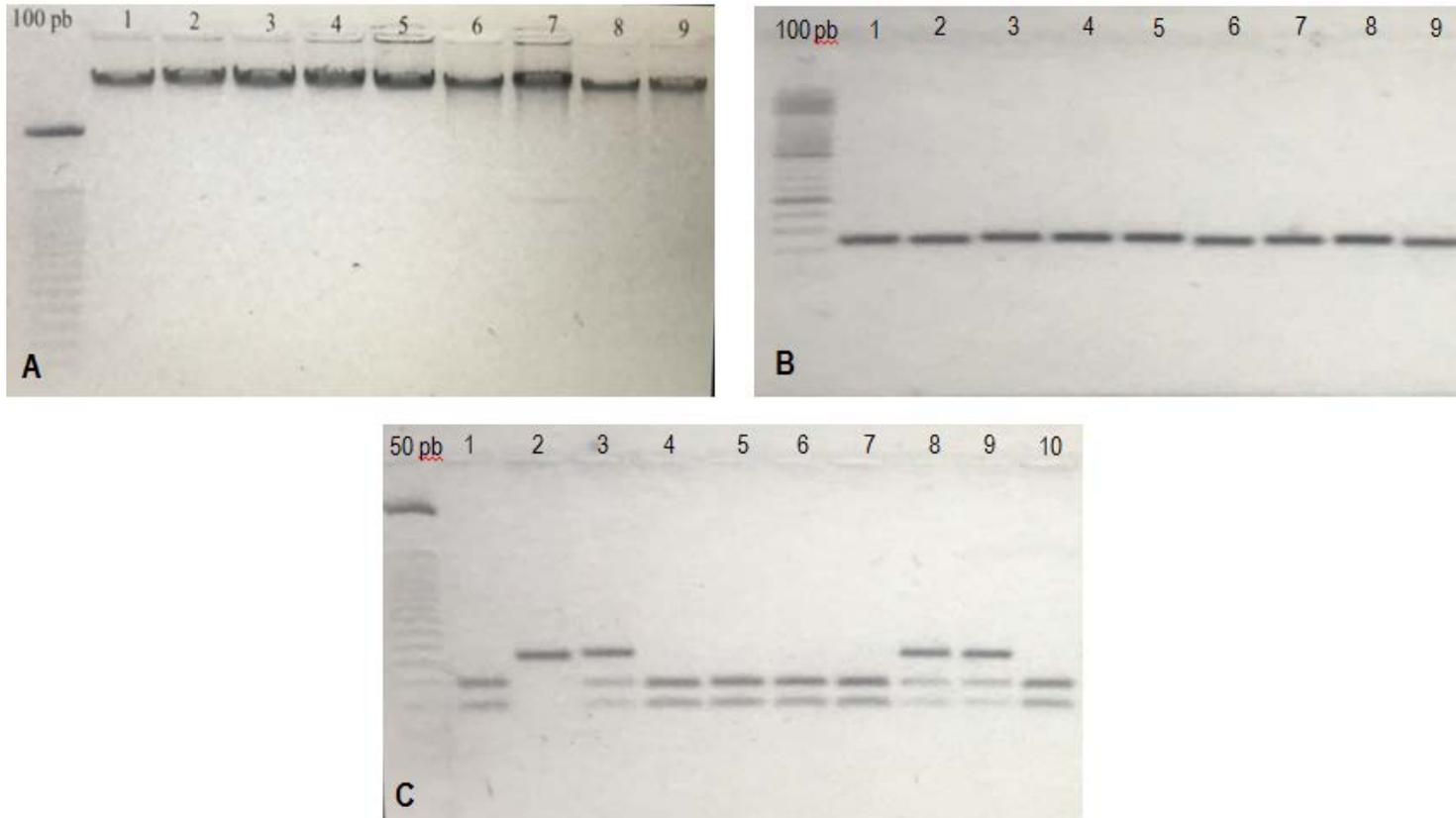


Figura 6 Metodología empleada para identificar las frecuencias génicas de los polimorfismos en *P53* y *MDM2*. A. Gel de agarosa al 1.5% ilustrando la extracción de DNA de a partir de sangre periférica. B. Gel de agarosa al 1.5% de una PCR punto final con un amplicón de 203 pb. C. Gel de agarosa al 2% mostrando la digestión enzimática para SNP Arg72Pro de *P53*, donde se aprecia carril 1, 4, 5, 6, 7 y 10 HM, carril 3, 8, 9 para HT y carril 2 HT.

Cuadro 15 Frecuencia génicas y alélicas del SNP Arg72Pro de *P53*

	Frecuencias génicas				Frecuencias alélicas	
	HN <sup>C/C</sup>	HT <sup>C/G</sup>	HM <sup>G/G</sup>	Total	C	G
Conteo	13	44	76	133	70	196
Frecuencia (%)	9.8	33.1	57.1	100.0	26.3	73.7

Cuadro 16 Asociación entre los tipos de displasia cervical y las frecuencias génicas y alélicas del SNP Arg72Pro de *P53*

			Frecuencias génicas				Frecuencias alélicas		
			HN <sup>C/C</sup>	HT <sup>C/G</sup>	HM <sup>G/G</sup>	Total	C	G	Total
Dx	Pap (-)	Conteo (%)	10 (12.0)	26 (32.0)	45 (56.0)	81 (100.0)	46 (28.0)	118 (72.0)	164 (100.0)
	LEIBG	Conteo (%)	3 (7.0)	15 (36.0)	24 (57.0)	42 (100.0)	21 (25.6)	61 (74.4)	82 (100.0)
	LEIAG	Conteo (%)	0 (0.0)	2 (26.0)	5 (71.0)	7 (100.0)	2 (14.3)	12 (85.7)	14 (100.0)
	CaCU	Conteo (%)	0 (0.0)	1 (33.3)	2 (66.6)	3 (100.0)	1 (16.7)	5 (83.3)	6 (100.0)
Total		Conteo (%)	13 (10.0)	44 (33.0)	76 (57.0)	133 (100.0)	70 (26.3)	196 (73.7)	266 (100.0)

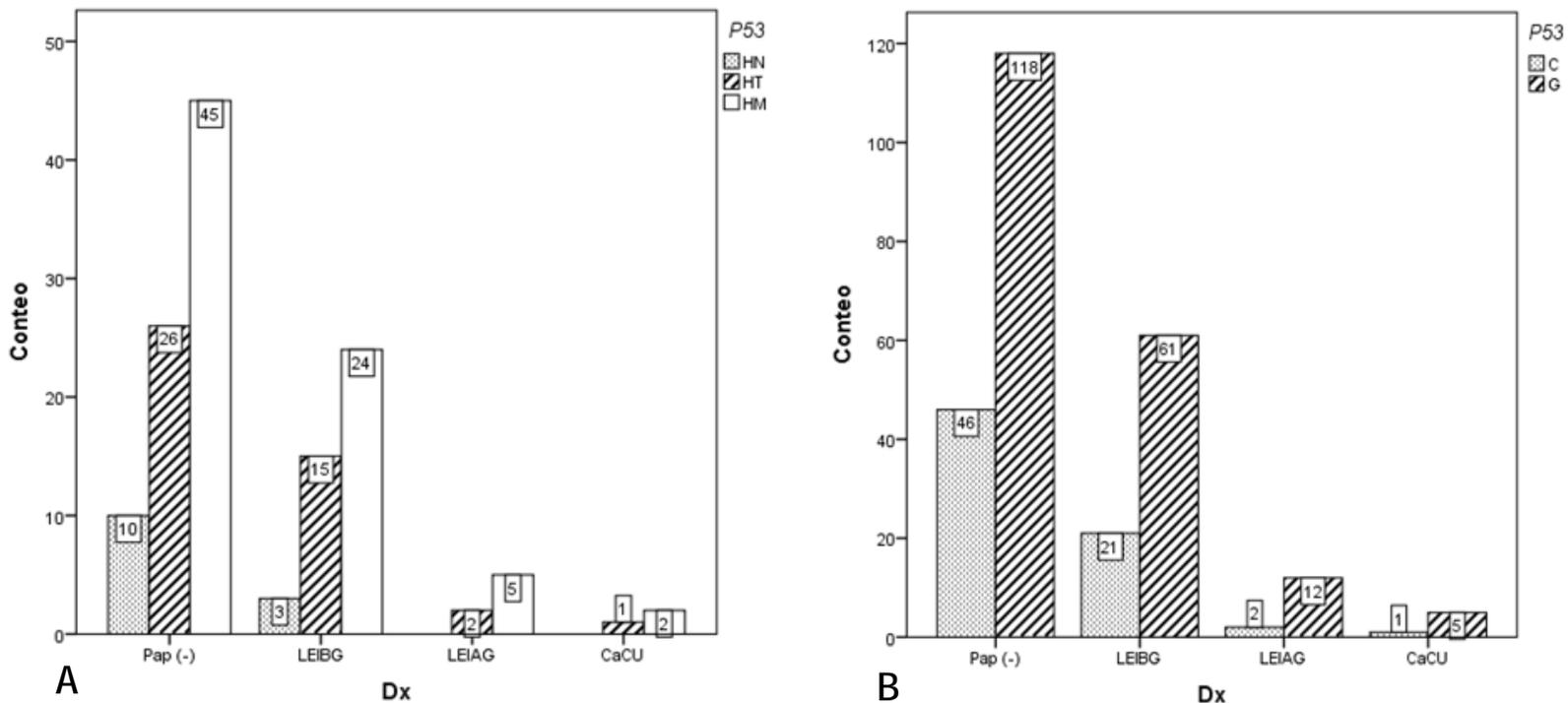


Figura 7 Distribución génica y alélicas del SNP Arg72Pro de *P53* con relación al tipo de displasia cervical. A. Distribución génica de *P53* con respecto al diagnóstico donde se observa que para las pacientes Pap (-) representan 81 (60.90%) pacientes; la distribución génica fue 10 (12%) para HN, 26 (32%) para HT y 45 (56%) para HM. B. Frecuencia alélica donde sobresale en 196 (73.7%) alelos la G respecto a A, resultados que concuerdan con el genotipo presentándose en 76 (57%) de los 133 pacientes el genotipo HM con respecto a los otros.

### C. ANÁLISIS DEL POLIMORFISMO -309T>G DE *MDM2*

Para el cálculo de las frecuencias génicas y alélicas del polimorfismo -309T>G de *MDM2* en el Cuadro 17 se aprecian los resultados encontrados, resaltando que el genotipo heterocigoto (T/G) se presentó con mayor frecuencia 78 (58.6%) en relación a los otros genotipos. En lo que a las frecuencias alélicas respecta, es importante mencionar que aproximadamente aparecen en equilibrio (48.9% para timina *versus* 51.1% para guanina) resultados que respaldan que el genotipo heterocigoto se encuentre en mayor proporción respecto a los otros dos genotipos.

Asimismo el Cuadro 18 muestra la asociación entre los tipos de displasia cervical y las frecuencias génicas y alélicas, destacando que en general el genotipo heterocigoto presentó una frecuencia de 78 (59%) pacientes y la asociación entre el genotipo y la displasia cervical se observó un valor de  $p=0.739$  no mostrando asociación estadísticamente significativa. Asimismo la distribución genotípica para las pacientes Pap (-) mostró un valor de  $p=0.018$  del EHW por lo tanto se considera que la población está en desequilibrio. En tanto en las pacientes Pap (+) se observó una  $p=0.779$  del EHW por lo tanto se considera que están en equilibrio.

Con relación a la asociación entre las frecuencias alélicas de *MDM2* y el tipo de displasia cervical se observó una  $p=0.739$  no mostrando asociación estadísticamente significativa entre ambas variables, esto se ilustra en la Figura 8, la cual muestra una gráfica de barras donde se observa la distribución génica y alélicas del SNP -309T>G de *MDM2* en relación al tipo de displasia cervical, misma que permitirá tener una panorama más claro.

Respecto a otros estudios Singhal y col, (2013) buscaron asociar el SNP con displasias y CaCU encontraron que los homocigotos para Arg en *P53* y el SNP -309T>G de *MDM2* mostraron una proporcionalidad directa en el grado del tumor en CaCU y la infección de VPH, resultados que no concuerdan con los hallazgos encontrados por Rios-Tostado y col, (2016) respecto al polimorfismo en *P53* y que en el caso *MDM2* con relación a la presente investigación tampoco concuerda, debido a que no se asoció el SNP en *MDM2* y displasias, por lo tanto se confirma lo que se mencionó que existe controversia respecto a la asociación entre algunos SNP y el desarrollo de displasias cervicales, por lo tanto se deben de considerar otras variables de estudio para poder correlacionarlas y tener un marcador predictivo más certero, así como no olvidar al

querer comparar diferentes estudios que las muestras poblacionales estudiadas presenten las mismas características.

#### D. ANÁLISIS DE COFACTORES ASOCIADOS A DISPLASIA CERVICALES

Para iniciar este apartado con relación a los principales cofactores asociados a displasias cervicales el Cuadro 19 muestra la asociación entre el genotipo de VPH y los principales antecedentes no patológicos capturados gracias a la encuesta aplicada a las pacientes donde la asociación entre el número de partos y el genotipo viral presentó una  $p=0.888$  no mostrando asociación estadísticamente significativa, aunque cabe la pena destacar que el 64 (48.12%) tuvieron 3 o más partos encontrando en 30 (46.9%) pacientes otros genotipos de VPH que no fueron ni el 16 ni 18.

En tanto a la asociación entre el uso de anticonceptivos orales y los genotipos de VPH se observó un valor de  $p=0.350$  no mostrando asociación estadísticamente significativa, sin embargo se observó un comportamiento de 61 (45.86%) que no usan anticonceptivos orales.

Respecto a la asociación entre el uso de condón y los genotipos virales presentaron un valor de  $p=0.345$  no mostrando asociación estadísticamente significativa, sin embargo el comportamiento entre las pacientes fue que el 78 (58.64%) no usan condón siendo un riesgo muy alto no solo para el contagio de VPH sino de otras ITS que pueden traer consecuencias más graves.

En tanto a la asociación entre el número de parejas sexuales de las pacientes y los genotipos virales mostraron un valor de  $p=0.256$  no evidenciando asociación estadísticamente significativa, sin embargo un dato a resaltar es que el 108 (81.20%) respondieron que no saben cuántas parejas sexuales previamente tuvieron sus cónyuges y dentro de estas 108 pacientes el 49 (45.4%) resultaron positivo para otros genotipos de VPH que no fueron ni 16 ni 18.

Con relación a la asociación entre el tabaquismo activo y el tabaquismo pasivo *versus* los genotipos del papilomavirus se observó un valor de  $p=0.136$  y  $p=0.727$  respectivamente, no mostrando asociación estadísticamente significativa para ambas variables.

Respecto a la asociación entre el consumo de drogas y los genotipos de VPH se encontró una  $p=0.001$  evidenciando asociación estadísticamente significativa entre ambas variables de estudio.

Por otro lado la asociación entre la exposición a agroquímicos y los genotipos virales se detectó un valor de  $p=0.449$  no evidenciando asociación estadísticamente significativa.

Respecto a la asociación entre las edades promedio y las infecciones por VPH no se encontró asociación estadísticamente significativa, mostrando un valor de  $p=0.355$  calculado mediante análisis de varianza, derivado de lo anterior el Cuadro 20 muestra los hallazgos encontrados sorprendentemente la infección por VPH 16 fue la que se presentó a una edad promedio menor (34.63 años, desviación estándar de 11.44, IC del 95%: 29.12 - 40.15) encontrando una edad mínima de infección por VPH 16 a los 16 años lo cual es verdaderamente preocupante, ya que el VPH 16 es un papilomavirus de alto riesgo siendo el que muestra mayor asociación al desarrollo de una LEIAG. Estos datos muestran que hace falta mucho trabajo por parte del estado en tanto a la educación sexual y los sistemas de salud en promover aún más el primer nivel de la medicina preventiva así como también educar a los padres para que orienten a sus hijos acerca del inicio de sus vidas sexuales. En tanto a las pacientes positivas a VPH 18 y las que dieron negativo para VPH fueron las pacientes que presentaron una edad promedio mayor (40.50 y 40.57 respectivamente). En tanto a la asociación entre el número de parejas sexuales y los genotipos de VPH se observó una  $p=0.391$  mediante el estadístico de Kruskal Wallis, no mostrando asociación estadísticamente significativa para ambas variables.

Por otro lado el Cuadro 21 muestra la asociación entre los principales antecedentes patológicos y los genotipos de VPH, observándose que la asociación entre ITS respecto a los genotipos de papilomavirus presentaron un valor de  $p=0.263$  no mostrando asociación estadísticamente significativa.

Respecto a la asociación entre el diagnóstico de ITS *versus* el genotipo de VPH se observó un valor de  $p=0.411$  de chi cuadrada de Pearson no evidenciando asociación estadísticamente significativa a pesar de que el 72.93% de los pacientes que afirmaron ser negativos para ITS el 62.88% (61 pacientes) presentar positividad para VPH.

En tanto a la asociación entre las parejas con ITS *versus* el genotipo viral se encontró una  $p=0.282$  no mostrando asociación estadísticamente significativa. Sin embargo la asociación entre el diagnóstico de dichas ITS y el genotipo de VPH se encontró un valor de  $p=0.003$  evidenciando asociación estadísticamente significativa.

Cuadro 17 Frecuencia génicas y alélicas del SNP -309T>G de *MDM2*

	Frecuencias génicas				Frecuencias alélicas	
	HNT/T	HTT/G	HMG/G	Total	T	G
Conteo	26	78	29	133	130	136
Frecuencia (%)	19.5	58.6	21.8	100.0	48.9	51.1

Cuadro 18 Asociación entre los tipos de displasia cervical y las frecuencias génicas y alélicas del SNP -309T>G de *MDM2*

		Frecuencias génicas				Frecuencias alélicas		
		HNT/T	HTT/G	HMG/G	Total	T	G	Total
Dx	Pap (-) Conteo (%)	13 (16.0)	51 (63.0)	17 (21.0)	81 (100.0)	78 (47.6)	86 (52.4)	164 (100.0)
	LEIBG Conteo (%)	10 (24.0)	21 (50.0)	11 (26.0)	42 (100.0)	40 (48.8)	42 (51.2)	82 (100.0)
	LEIAG Conteo (%)	2 (29.0)	4 (57.0)	1 (14.0)	7 (100.0)	8 (57.1)	6 (42.9)	14 (100.0)
	CaCU Conteo (%)	1 (33.3)	2 (66.6)	0 (0.00)	3 (100.0)	4 (66.7)	2 (33.3)	6 (100.0)
Total	Conteo (%)	26 (19.0)	78 (59.0)	29 (22.0)	133 (100.0)	130 (48.9)	136 (51.1)	266 (100.0)

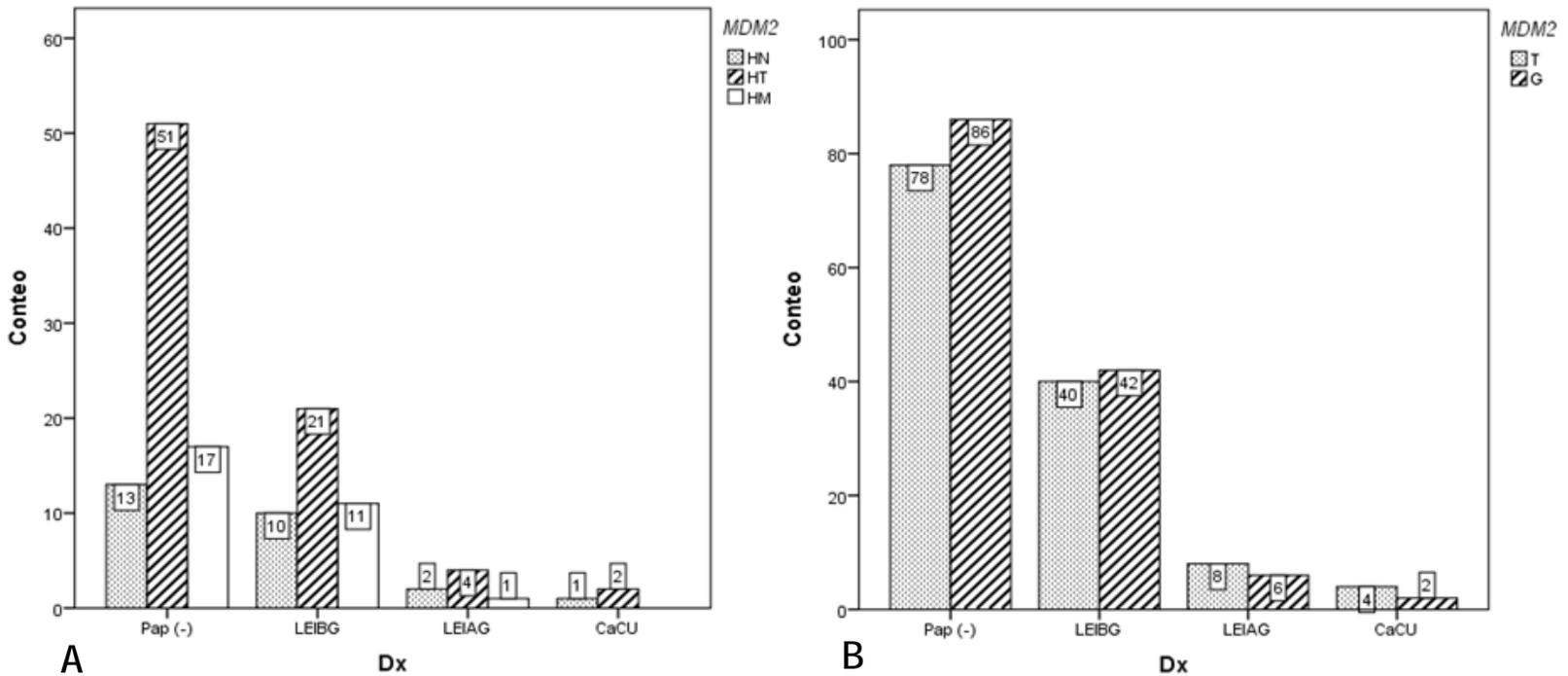


Figura 8 Distribución génica y alélicas del SNP -309T>G de *MDM2* con relación al tipo de displasia cervical. A. Distribución génica de *MDM2* con respecto al diagnóstico donde se observa que las pacientes Pap (-) representan 81 (60.90%) pacientes; donde la distribución génica fue 13 (16%) para HN, 51 (63%) para HT y 17 (21%) para HM. B. Frecuencia alélica donde por una diferencia mínima se presentan en 136 (51.1%) alelos la G respecto a la T, resultados que concuerdan con el genotipo presentándose en 78 (59.0%) de 133 pacientes el genotipo HT con respecto a los otros.

Cuadro 19 Asociación entre el genotipo de VPH y antecedentes no patológicos

		VPH					
		VPH 16	VPH 18	VPH 16/18	Otros VPH	Negativo	Total
		Conteo (%)					
Número de partos	Ninguno	1 (5.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (5.0)	2 (100.0)
	1	4 (13.3)	1 (3.3)	3 (10.0)	11 (36.7)	11 (36.7)	30 (100.0)
	2	6 (19.4)	2 (6.5)	1 (3.2)	14 (45.2)	8 (25.8)	31 (100.0)
	3 ó más	8 (12.5)	3 (4.7)	2 (3.1)	30 (46.9)	21 (32.8)	64 (100.0)
	No respondió	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	3 (50.0)	3 (50.0)	6 (100.0)
	Total	19 (14.3)	6 (4.5)	6 (4.5)	58 (43.6)	44 (33.1)	133 (100.0)
Uso de anticonceptivos orales	No	8 (13.1)	1 (1.6)	2 (3.3)	29 (47.5)	21 (34.4)	61 (100.0)
	Si	7 (23.3)	2 (6.7)	3 (10.0)	9 (30.0)	9 (30.0)	30 (100.0)
	Alguna vez	4 (9.5)	3 (7.1)	1 (2.4)	20 (47.6)	14 (33.3)	42 (100.0)
	Total	19 (14.3)	6 (4.5)	6 (4.5)	58 (43.6)	44 (33.1)	133 (100.0)
Uso de condón	No	10 (12.8)	1 (1.3)	4 (5.1)	37 (47.4)	26 (33.1)	78 (100.0)
	Si	6 (19.4)	2 (6.5)	2 (6.5)	10 (32.3)	11 (35.5)	31 (100.0)
	Alguna vez	3 (12.5)	3 (12.5)	0 (0.0)	11 (45.8)	7 (29.2)	24 (100.0)
	Total	19 (14.3)	6 (4.5)	6 (4.5)	58 (43.6)	44 (33.1)	133 (100.0)
Parejas sexuales de su pareja	Ninguna	3 (25.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	4 (33.3)	5 (41.7)	12 (100.0)
	1	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (25.0)	3 (75.0)	4 (100.0)
	No respondió	1 (11.1)	2 (22.2)	1 (11.1)	4 (44.4)	1 (11.1)	9 (100.0)
	No sabe	15 (13.9)	4 (3.7)	5 (4.6)	49 (45.4)	35 (32.4)	108 (100.0)
	Total	19 (14.3)	6 (4.5)	6 (4.5)	58 (43.6)	44 (33.1)	133 (100.0)

Asociación entre el genotipo de VPH y antecedentes no patológicos (continuación)

		VPH					
		VPH 16	VPH 18	VPH 16/18	Otros VPH	Negativo	Total
		Conteo (%)					
Tabaquismo activo	Nunca	17 (14.2)	4 (3.3)	6 (5.0)	51 (42.5)	42 (35.0)	120 (100.0)
	Rara vez	1 (14.3)	0 (0.0)	0 (0.0)	4 (57.1)	2 (28.6)	7 (100.0)
	Frecuente	1 (25.0)	1 (25.0)	0 (0.0)	2 (50.0)	0 (0.0)	4 (100.0)
	Muy frecuente	0 (0.0)	1 (50.0)	0 (0.0)	1 (50.0)	0 (0.0)	2 (100.0)
	Total	19 (14.3)	6 (4.5)	6 (4.5)	58 (43.6)	44 (33.1)	133 (100.0)
Tabaquismo pasivo	Nunca	9 (11.1)	5 (6.2)	4 (4.9)	37 (45.7)	26 (32.1)	81 (100.0)
	Rara vez	4 (23.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	9 (52.9)	4 (23.5)	17 (100.0)
	Frecuente	2 (25.0)	0 (0.0)	1 (12.5)	3 (37.5)	2 (25.0)	8 (100.0)
	Muy frecuente	4 (14.8)	1 (3.7)	1 (3.7)	9 (33.3)	12 (44.4)	27 (100.0)
	Total	19 (14.3)	6 (4.5)	6 (4.5)	58 (43.6)	44 (33.1)	133 (100.0)
Consumo de drogas	Nunca	19 (14.7)	5 (3.9)	5 (3.9)	57 (44.2)	43 (33.3)	129 (100.0)
	Rara vez	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (100.0)	1 (100.0)
	Frecuente	0 (0.0)	1 (50.0)	0 (0.0)	1 (50.0)	0 (0.0)	2 (100.0)
	Muy frecuente	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (100.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (100.0)
	Total	19 (14.3)	6 (4.5)	6 (4.5)	58 (43.6)	44 (33.1)	133 (100.0)
Exposición a agroquímicos	Nunca	15 (15.5)	5 (5.2)	6 (6.2)	38 (39.2)	33 (34.0)	97 (100.0)
	Rara vez	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	8 (80.0)	2 (20.0)	10 (100.0)
	Frecuente	2 (25.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	5 (62.5)	1 (12.5)	8 (100.0)
	Muy frecuente	2 (11.1)	1 (5.6)	0 (0.0)	7 (38.9)	8 (44.4)	18 (100.0)
	Total	19 (14.3)	6 (4.5)	6 (4.5)	58 (43.6)	44 (33.1)	133 (100.0)

Cuadro 20 Asociación entre las edades de las pacientes y la infección de VPH

	N	Media	Desviación estandar	Error estandar	Media del IC 95%		Mínimo	Maximo
					Límite inferior	Límite superior		
VPH 16	19	34.63	11.442	2.625	29.12	40.15	16	53
VPH 18	6	40.50	12.373	5.051	27.51	53.49	24	61
VPH 16/18	6	36.67	13.604	5.554	22.39	50.94	21	57
Otros VPH	58	37.36	10.911	1.433	34.49	40.23	17	59
Negativo	44	40.57	11.567	1.744	37.05	44.08	20	67
Total	133	38.14	11.402	.989	36.19	40.10	16	67

Cuadro 21 Asociación entre el genotipo de VPH y antecedentes patológicos

		VPH					
		VPH 16	VPH 18	VPH 16/18	Otros VPH	Negativo	Total
		Conteo (%)					
ITS	No	13 (13.3)	6 (6.1)	5 (5.1)	37 (37.8)	37 (37.8)	98 (100.0)
	Si	5 (15.2)	0 (0.0)	1 (3.0)	20 (60.6)	7 (21.2)	33 (100.0)
	No respondió	1 (50.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (50.0)	0 (0.0)	2 (100.0)
	Total	19 (14.3)	6 (4.5)	6 (4.5)	58 (43.6)	44 (33.1)	133 (100.0)
Dx de ITS	VPH	4 (14.8)	0 (0.0)	0 (0.0)	16 (59.3)	7 (25.9)	27 (100.0)
	Verrugas	1 (20.0)	0 (0.0)	1 (20.0)	2 (40.0)	1 (20.0)	5 (100.0)
	Condiloma	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (100.0)
	No respondió	1 (25.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	3 (75.0)	0 (0.0)	4 (100.0)
Pareja con ITS	Negativo ITS	13 (13.4)	6 (6.2)	5 (5.2)	37 (38.1)	36 (37.1)	97 (100.0)
	Total	19 (14.3)	6 (4.5)	6 (4.5)	58 (43.6)	44 (33.1)	133 (100.0)
	No	15 (14.6)	6 (5.8)	5 (4.9)	39 (37.9)	38 (36.9)	103 (100.0)
	Si	3 (10.7)	0 (0.0)	1 (3.6)	18 (64.3)	6 (21.4)	28 (100.0)
Dx de pareja con ITS	No respondió	1 (50.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (50.0)	0 (0.0)	2 (100.0)
	Total	19 (14.3)	6 (4.5)	6 (4.5)	58 (43.6)	44 (33.1)	133 (100.0)
	VPH	1 (5.9)	0 (0.0)	0 (0.0)	12 (70.6)	4 (23.5)	17 (100.0)
	Verrugas	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (100.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (100.0)
Dx de pareja con ITS	Herpes	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (100.0)	1 (100.0)
	Sífilis	1 (100.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (100.0)
	No respondió	2 (28.6)	0 (0.0)	0 (0.0)	5 (71.4)	0 (0.0)	7 (100.0)
	Negativo ITS	15 (14.2)	6 (5.7)	5 (4.7)	41 (38.7)	39 (36.8)	106 (100.0)
	Total	19 (14.3)	6 (4.5)	6 (4.5)	58 (43.0)	44 (33.1)	133 (100.0)

Asociación entre el genotipo de VPH y antecedentes patológicos (continuación)

		VPH					
		VPH 16	VPH 18	VPH 16/18	Otros VPH	Negativo	Total
		Conteo (%)					
Cirugía en tracto urogenital	No	11 (16.9)	3 (4.6)	5 (7.7)	24 (36.9)	22 (33.8)	65 (100.0)
	Si	8 (11.9)	3 (4.5)	1 (1.5)	33 (49.3)	22 (32.8)	67 (100.0)
	No respondió	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (100.0)	0 (0.0)	1 (100.0)
	Total	19 (14.3)	6 (4.5)	6 (4.5)	58 (43.6)	44 (33.1)	133 (100.0)
Tipo de cirugía en tracto urogenital	Legrado	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (100.0)	0 (0.0)	2 (100.0)
	Cesárea	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (50.0)	1 (50.0)	2 (100.0)
	Salpingo	1 (100.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (100.0)
	Otras	7 (11.5)	3 (4.9)	1 (1.6)	30 (49.2)	20 (32.8)	61 (100.0)
	No respondió	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (50.0)	1 (50.0)	2 (100.0)
	Negativo cirugía	11 (16.9)	3 (4.6)	5 (7.7)	24 (36.9)	22 (33.8)	65 (100.0)
Tumores o quistes en útero u ovarios	Total	19 (14.3)	6 (4.5)	6 (4.5)	58 (43.6)	44 (33.1)	133 (100.0)
	No	12 (11.4)	5 (4.8)	6 (5.7)	50 (47.6)	32 (30.5)	105 (100.0)
	Si	6 (24.0)	1 (4.0)	0 (0.0)	7 (28.0)	11 (44.0)	25 (100.0)
	No respondió	1 (50.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (50.0)	0 (0.0)	2 (100.0)
	Negativo tumores	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (100.0)	1 (100.0)
	Total	19 (14.3)	6 (4.5)	6 (4.5)	58 (43.6)	44 (33.1)	133 (100.0)

Con relación a la asociación entre los tumores o quistes en útero u ovarios y el tipo de genotipo viral se observó un valor de  $p=0.502$  no mostrando asociación estadísticamente significativa entre las variables de estudio. Desde hace más de 20 años se tiene evidencia que existen múltiples factores de riesgo asociados al desarrollo de displasias cervicales, con el paso del tiempo diversos investigadores han encontrado asociación entre estos factores de riesgo y otros más no han encontrado asociación es por ello que la controversia sigue presente Burk y col, (1996) encontraron la edad, la etnia, el número de parejas sexuales como factores de riesgo que son compartidos con las parejas sexuales, es decir las mismas variables deben ser observadas y estudiadas para los hombres.

Derivado de lo anterior varios años después Tarnaud y col, (2011) realizaron un estudio donde investigaron la asociación entre la infección de VPH de bajo riesgo en hombres que se practicaron la circuncisión en Sudáfrica donde observaron que los pacientes que no se practicaron la circuncisión presentaron mayor frecuencia de VPH respecto a los pacientes que si se la realizaron. La presencia de la infección de VPH aumentó con el número de parejas sexuales y la disminución del nivel educativo, también asociado con la falta de uso de preservativos. Por lo tanto concluyeron que existe una reducción en infección por VPH de bajo riesgo en los hombres que se practicaron la circuncisión, resultados que desde hace más de 20 años Burk y col, (1996) venían comentado y que desafortunadamente no han sido tan explotados y bien estudiados como ocurre con las mujeres, por lo tanto se debe poner atención en el sexo masculino para analizar antecedentes patológicos y no patológicos asociados a infecciones por VPH.

Complementando lo anterior Chelimo y col, (2013) afirman que los principales factores de riesgo para infección por VPH es en primer lugar los comportamientos relacionados con la actividad sexual donde sobresale el número de parejas sexuales que ha tenido la paciente y evidentemente el número de parejas sexuales previas que tuvo su pareja, es decir el comportamiento no monógamo. Además aseveran que actualmente hay discrepancias en tanto a la asociación entre la circuncisión masculina y el uso de preservativos, lo anterior también conlleva a ITS relacionadas con el VPH en las féminas. En tanto al riesgo de desarrollar displasias cervicales además de los anteriores también se han asociado el tener parejas sexuales con un diagnóstico confirmatorio de VPH positivos, el número de parejas sexuales, mantener

relaciones sexuales con sexoservidores(as), el uso de anticonceptivos orales a largo plazo, la multiparidad principalmente con 5 o más partos, el consumo de tabaco, presentar coinfecciones con otros VPHs y otras ITS (HIV, Chlamydia, Herpes simple tipo 2).

Como se puede observar sigue siendo contradictoria la asociación entre ciertos antecedentes patológicos y no patológicos con la infección por VPH para el desarrollo de displasias cervicales, aunado a ello se debe de analizar el comportamiento de las relaciones sexuales en un contexto general, es decir no centrar toda la atención de investigadores y autoridades sanitarias en las mujeres si no también estudiar a sus parejas sexuales, desafortunadamente no se analizaron en la presente investigación, concluyendo que producto de los resultados encontrados se afirma que si existe asociación entre el consumo de drogas con la infección de VPH y evidentemente el diagnóstico de ITS *versus* el genotipo de VPH. Por lo tanto se propone para futuras investigaciones en primer lugar incrementar el tamaño de la muestra para poder tener un panorama más general de las patologías y tratar de eliminar el error estadístico, además de analizar los antecedentes patológicos y no patológicos en mujeres y su pareja sexual para poder comprender mejor la historia natural de la enfermedad permitiendo conocer mejor su comportamiento y poder establecer mejores técnicas diagnósticas y terapias farmacológicas.

#### E. ANÁLISIS DE LAS FRECUENCIAS DEL VPH Y DE LOS POLIMORFISMOS EN *P53* Y *MDM2*

Finalmente para correlacionar las frecuencias del VPH y de los polimorfismos se muestran los Cuadro 22 y Cuadro 23 en los cuales se desglosan los resultados encontrados para cada grupo dentro de la clasificación de VPH *versus* el genotipo de *P53* y *MDM2* respectivamente, resaltando que para la asociación entre el SNP Arg72Pro de *P53* y las frecuencias de VPH se observó un valor de  $p=0.716$  no mostrando asociación estadísticamente significativa entre ambas variables de estudio. Sin embargo es importante comentar que el genotipo mutado (homocigotos para prolina en *P53*) en pacientes infectados con VPH 16 presentó una mayor frecuencia 57.9% (11 pacientes) respecto al homocigoto nativo y al heterocigoto.

Respecto a la asociación entre el SNP -309T>G de *MDM2* y los genotipos de VPH se obtuvo una  $p=0.410$  no mostrando asociación estadísticamente significativa, sin embargo el genotipo

heterocigoto para VPH 16 presentó una mayor frecuencia 57.9% (11 pacientes) respecto a los otros dos genotipos.

Por todo lo anterior vale la pena mencionar que un grupo de investigadores encabezados por Yuan y col, (2015) realizaron un estudio en China en el que además de asociar otras variables, relacionaron el SNP Arg72Pro en *P53* con el desarrollo de CaCU concluyendo que dicho polimorfismo se asocia a la oncogénesis del CaCU. Por otro lado Rodríguez-Laprano y col, (2014) analizaron en Brasil a 133 pacientes buscando entre otras cosas una posible asociación entre el SNP Arg72Pro de *P53* y el desarrollo de NIC, concluyendo que no había asociación estadísticamente significativa entre Arg72Pro y el desarrollo de una NIC o LEIBG/LEIAG, resultados que concuerdan con los hallazgos encontrados en esta investigación realizada en Sinaloa, México y que no se relaciona con lo observado también en México por Gonzalez-Herrera y col, (2014) quienes observaron que el SNP Arg72Pro de *P53* presentó relación estadísticamente significativa en el desarrollo de una NIC.

En otros estudios Singhal y col, (2013) estudiaron la asociación del polimorfismo con displasias cervicales y CaCU, encontraron que los homocigotos para arginina en el codón 72 de *P53* y el polimorfismo -309T>G de *MDM2* tenían una proporcionalidad directa en el grado del tumor en CaCU y la infección de VPH. Asimismo Vargas-Torres y col, (2014) observaron en Brasil que el SNP -309T>G de *MDM2* presenta un potencial como un biomarcador del proceso oncogénico en las pacientes no fumadoras, los pacientes con antecedentes heredo familiares (familiares de cáncer) así como antecedentes personales no patológicos (iniciación de relaciones sexuales tardía, después de 16 años). Además, este polimorfismo puede ayudar a identificar a las mujeres con riesgo de desarrollar LIEAG a una edad temprana (<30 años), resultados que no concuerdan con lo observado en la presente investigación donde el SNP de *MDM2* no se asocia el desarrollo de LIEBG ó LEIAG con algún antecedente personal patológico y no patológico.

Cuadro 22 Frecuencias génicas del SNP Arg72Pro de *P53* en los genotipos de VPH

	<i>P53</i>			
	HN <sup>C/C</sup>	HT <sup>C/G</sup>	HM <sup>G/G</sup>	Total
	Conteo (%)	Conteo (%)	Conteo (%)	Conteo (%)
VPH 16	1 (5.3)	7 (36.8)	11 (57.9)	19 (100.0)
VPH 18	1 (16.7)	3 (50.0)	2 (33.3)	6 (100.0)
VPH 16/18	1 (16.7)	1 (16.7)	4 (66.7)	6 (100.0)
Otros VPH	4 (6.9)	22 (37.9)	32 (55.2)	58 (100.0)
Negativo	6 (13.6)	11 (25.0)	27 (61.4)	44 (100.0)
Total	13 (9.8)	44 (33.1)	76 (57.1)	133 (100.0)

Cuadro 23 Frecuencia génicas del SNP -309T>G de *MDM2* en los genotipos de VPH

	<i>MDM2</i>			
	HN <sup>T/T</sup>	HT <sup>T/G</sup>	HM <sup>G/G</sup>	Total
	Conteo (%)	Conteo (%)	Conteo (%)	Conteo (%)
VPH 16	4 (21.1)	11 (57.9)	4 (21.1)	19 (100.0)
VPH 18	0 (0.0)	3 (50.0)	3 (50.0)	6 (100.0)
VPH 16/18	1 (16.7)	3 (50.0)	2 (33.3)	6 (100.0)
Otros VPH	15 (25.9)	35 (60.3)	8 (13.8)	58 (100.0)
Negativo	6 (13.6)	26 (59.1)	12 (27.3)	44 (100.0)
Total	26 (19.5)	78 (58.6)	29 (21.8)	133 (100.0)

## IX. CONCLUSIONES

- Con relación a la frecuencia de displasias cervicales reportadas por institución de salud, en el HM se observaron 81 (81%) pacientes con Pap (-), 2 (2%) pacientes con LEIBG y 17 (17%) pacientes fueron descartadas por no presentar diagnóstico. Respecto al ISC la frecuencia fue de LEIBG en 41 (82%) pacientes, LEIAG para 6 (12%) pacientes y en CaCU se observaron 3 (6%) pacientes.
- Las LEIBG fueron las displasias cervicales que se presentaron con mayor frecuencia; 43 (28.7%) pacientes.
- Del total de muestras genotipificadas se encontró una frecuencia de 89 (67%) pacientes VPH positivas y 44 (33%) pacientes VPH negativas.
- Del 100% de las muestras positivas para VPH, se encontró el VPH 16 en 19 (21.3%) pacientes, el VPH 18 en 6 (6.7%) pacientes y la misma proporción para la coinfección VPH16/18. Además se identificaron otros genotipos de VPH con una frecuencia de 58 (65.2%) pacientes.
- En relación a las frecuencias génicas y alélicas para el polimorfismo Arg72Pro de *P53* no se encontró asociación estadísticamente significativa en el desarrollo de displasias cervicales.
- Respecto a las frecuencias génicas y alélicas para el polimorfismo -309T>G de *MDM2* no se encontró asociación estadísticamente significativa en el desarrollo de displasias cervicales.
- Con base en una extensa búsqueda en diferentes bases de datos científicas solamente se encontró una publicación de Rios-Tostado (2016) quien realizó un análisis genético del polimorfismo Arg72Pro de *P53* y comparó el riesgo de desarrollar CaCU en pacientes sinaloense con displasias cervicales positivas al VPH16 y/o 18.
- La presente investigación viene a aportar mayor información científica al ámbito sinaloense sobre todo analizando la genética población y analizando dos polimorfismos genéticos, los cuales se hipotetizan están presentes en múltiples neoplasias así como otras patologías no asociadas al cáncer y que deberían ser tomadas en cuenta por las autoridades sanitarias y los investigadores de la región para un futuro análisis.

- Se recomienda que los SSA y en general las autoridades sanitarias tomen en consideración implementar técnicas de diagnóstico molecular, las cuales permitirían tener un resultado más confiable a la hora del diagnóstico y la interpretación de hallazgos traduciéndose en una mejora en la calidad de vida de nuestros pacientes.

## X. BIBLIOGRAFÍA

- ACS. 2013. Cancer de seno (mama). In *USA: American Cancer Society*. Disponible el día 16 de junio de 2014 en:  
<http://www.cancer.org/search/index?QueryText=cancer+de+seno&Page=1>
- Aguilar-Lemarroy A, Vallejo-Ruiz V, Cortes-Gutierrez EI, Salgado-Bernabe ME, Ramos-Gonzalez NP, Ortega-Cervantes L, Arias-Flores R, Medina-Diaz IM, Hernandez-Garza F, Santos-Lopez G y Pina-Sanchez P. 2015. Human papillomavirus infections in mexican women with normal cytology, precancerous lesions, and cervical cancer: type-specific prevalence and HPV coinfections. *Journal of Medical Virology* 87(5):871-884.
- Alberts B, Bray D, Lewis J, Raff M, Roberts K y Watson JD. 2002. *Biología molecular de la célula*. 3<sup>ra</sup> ed. Ediciones Omega, Barcelona, España 1:43-70.
- Aleman L, De Sanjose S, Tous S, Quint W, Vallejos C, Shin HR, Bravo LE, Alonso P, Lima MA, Guimera N, Klaustermeier J, Llombart-Bosch A, Kasamatsu E, Tatti SA, Felix A, Molina C, Velasco J, Lloveras B, Clavero O, Lerma E, Laco J, Bravo IG, Guarch R, Pelayo A, Ordi J, Andujar M, Sanchez GI, Castellsague X, Munoz N y Bosch FX. 2014. Time trends of human papillomavirus types in invasive cervical cancer, from 1940 to 2007. *International Journal of Cancer* 135(1):88-95.
- ATSDR. 2010. What You Need to Know. What You Can Do. The Nature of Cancer. In *Cancer and the Environment (Ed.)* Agency for Toxic Substances & Disease Registry. Disponible el día 07 de junio de 2014 en: <http://www.atsdr.cdc.gov/risk/cancer/cancer-nature.html>
- Becker WM, Kleinsmith LJ, Hardin J, Elías ÍA y Céspedes AM 2007. *El mundo de la célula*. 6<sup>ta</sup> edn. Pearson Educación. Madrid, España 6:53-76
- Bencomo-Alvarez AE, Limones-Perches I, Suarez-Rincon AE, Ramirez-Jirano LJ, Borrayo-Carbajal E, Sanchez-Corona J y Montoya-Fuentes H. 2012. Human papillomavirus viral load in cervical intraepithelial neoplasia as a prognostic factor in a mexican population. *Genetics and Molecular Research* 11(4):4720-4727.
- Bertuccio MP, Spataro P, Caruso C y Picerno I. 2011. Detection of human papillomavirus E6/E7 mRNA in women with high-risk HPV types 16, 18, 31, 33 and 45 which are associated

- with the development of human cervical cancer. *European Journal Gynecological Oncology* 32(1):62-64.
- BM. 2016. América Latina y el Caribe (países en desarrollo solamente), México. In *El Banco Mundial*. Descargado el día 18 de marzo de 2016 en:  
<http://datos.bancomundial.org/pais/mexico>
- Burk RD, Ho GY, Beardsley L, Lempa M, Peters M y Bierman R. 1996. Sexual behavior and partner characteristics are the predominant risk factors for genital human papillomavirus infection in young women. *Journal of Infectious Diseases* 174(4):679-689.
- Burroni E, Bisanzi S, Sani C, Puliti D y Carozzi F. 2013. Codon 72 polymorphism of p53 and HPV type 16 E6 variants as risk factors for patients with squamous epithelial lesion of the uterine cervix. *Journal of Medical Virology* 85(1):83-90.
- Cairns RA, Harris IS y Mak TW. 2011. Regulation of cancer cell metabolism. *Nature Reviews Cancer* 11(2):85-95.
- Cárdenas-Sánchez J, Bargalló-Rocha JE, Erazo-Valle A, Poitevin-Chacón A, Valero-Castillo V y Pérez-Sánchez V. 2015. *Consenso Mexicano sobre diagnóstico y tratamiento del cáncer mamario*. In Sexta revisión Elsevier México. Disponible el día 15 septiembre de 2015 en:  
[http://www.consensocancermamario.com/documentos/FOLLETO\\_CONSENSO\\_DE\\_CANCER\\_DE\\_MAMA\\_6aRev2015c.PDF](http://www.consensocancermamario.com/documentos/FOLLETO_CONSENSO_DE_CANCER_DE_MAMA_6aRev2015c.PDF)
- Castro FA, Koshiol J, Quint W, Wheeler CM, Gillison ML, Vaughan LM, Kleter B, van Doorn LJ, Chaturvedi AK, Hildesheim A, Schiffman M, Wang SS, Zuna RE, Walker JL, Dunn ST y Wentzensen N. 2015. Detection of HPV DNA in paraffin-embedded cervical samples: a comparison of four genotyping methods. *BioMedCentral Infectious Disease* 15:544
- CDC. 2011. Conozca su cuerpo: Infórmese sobre los cánceres ginecológicos de los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades. In *Atlanta, USA: Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades*. Descargado el día 07 de julio de 2014 en:  
[http://www.cdc.gov/spanish/cancer/knowledge/pdf/gyn\\_brochure\\_spanish.pdf](http://www.cdc.gov/spanish/cancer/knowledge/pdf/gyn_brochure_spanish.pdf)
- CDC. 2013. Cancer Prevention and Control. In. *Atlanta, USA: Centers for Disease Control and Prevention*. Descargado el día 18 de junio de 2014 en:  
<http://www.cdc.gov/cancer/dcpc/prevention/>

- Conde-Ferraez L, Suarez-Allen RE, Carrillo-Martinez JR, Ayora-Talavera G y Gonzalez-Losa MdelR. 2012. Factors associated with cervical cancer screening amongst women of reproductive age from Yucatan, Mexico. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention* 13(9):4719-4724.
- Cha H-J y Yim H. 2013. The accumulation of DNA repair defects is the molecular origin of carcinogenesis. *Tumor Biology* 34(6):3293-3302.
- Chansaenroj J, Theamboonlers A, Junyangdikul P, Swangvaree S, Karalak A, Chinchai T y Poovorawan Y. 2013. Polymorphisms in TP53 (rs1042522), p16 (rs11515 and rs3088440) and NQO1 (rs1800566) genes in Thai cervical cancer patients with HPV 16 infection. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention* 14(1):341-346.
- Chelimo C, Woulde TA, Cameron LD y Elwood JM 2013. Risk factors for and prevention of human papillomaviruses (HPV), genital warts and cervical cancer. *Journal of Infection* 66(3):207-217.
- Chiurillo MA, Morán Y, Cañas M y Valero G. 2010. Distribución del polimorfismo codon 72 de TP53 en Venezuela: implicaciones étnicas y Geográficas. *Interciencia* 35(3):202-206.
- De la Garza-Salazar JG y Juárez-Sánchez P. 2014. *El Cáncer* (Vol. 1). Monterrey, México: Universidad Autónoma de Nuevo León. Disponible el día 09 de junio de 2014 en: [https://issuu.com/rodrigotomorenado/docs/libro\\_cancer](https://issuu.com/rodrigotomorenado/docs/libro_cancer)
- De la Rosa-Martinez R, Sanchez-Garza M y Lopez-Revilla R. 2016. HPV genotype distribution and anomalous association of HPV33 to cervical neoplastic lesions in San Luis Potosi, Mexico. *Infectious Agents Cancer* 11:16.
- Díaz-Rubio E y García-Conde J. 2000. *Oncología Clínica Básica*. Aran S.A. (Ed). España.
- El khair MM, Ennaji MM, El kebbaj R, Mhand RA, Attaleb M y El Mzibri M. 2010. p53 codon 72 polymorphism and risk of cervical carcinoma in Moroccan women. *Medical Oncology* 27(3):861-866.
- Elmore S. 2007. Apoptosis: a review of programmed cell death. *Toxicologic Pathology* 35(4):495-516.
- Eltahir HA, Elhassan AM y Ibrahim ME. 2012. Contribution of retinoblastoma LOH and the p53 Arg/Pro polymorphism to cervical cancer. *Molecular Medicine Reports* 6(3):473-476.

- Flores-Miramontes MG, Torres-Reyes LA, Alvarado-Ruiz L, Romero-Martínez SA, Ramírez-Rodríguez V, Balderas-Peña L, Vallejo-Ruiz V, Piña-Sánchez P, Cortés-Gutiérrez EI, Jave-Suárez LF y Aguilar-Lemarroy A. 2015. Human papillomavirus genotyping by Linear Array and Next-Generation Sequencing in cervical samples from Western Mexico. *Virology Journal* 12.
- Flores PC y Sobrevia LL. 2000. Tumorigénesis y proteína mdm2. *Revista Médica de Chile* 128:539-546.
- Flores YN, Bishai DM, Lorincz A, Shah KV, Lazcano-Ponce E, Hernandez M, Granados-García V, Perez R y Salmeron J. 2011. HPV testing for cervical cancer screening appears more cost-effective than Papanicolaou cytology in Mexico. *Cancer Causes and Control* 22(2):261-272.
- García-Tamayo J, Molina J y Blasco-Olaetxea E. 2010. El virus del papiloma humano y el cáncer cervical. Una revisión de la historia actualizada sobre la investigación del cáncer del cuello uterino en Venezuela. *Investigación Clínica* 51(2):193-208.
- Cruz-Gómez JF, Vega-Quintero M, Fernández L, Condezo G, Bastidas M y Pons-Puig J. 2010. Distribución del polimorfismo del codón 72 del gen p53 en lesiones de cuello uterino. *Revista Obstetricia y Ginecología* 70(1), 31-36.
- Gonzalez-Herrera L, Rodriguez-Morales P, Gonzales-Losa MdelR, Perez-Mendoza G, Canul-Canche J, Rosado-Lopez I y Canto-DeCetina T. 2014. MTHFR/p53 polymorphisms as genetic factors for cervical intraepithelial neoplasia and cervical cancer in HPV-infected Mexican women. *International Journal of Biological Markers* 29(2):142-149.
- Gustincich S, Manfioletti G, Del Sal G, Schneider C y Carninci . 1991. A fast method for high-quality genomic DNA extraction from whole human blood. *Biotechniques* 11(3):298-300, 302.
- Habbous S, Pang V, Eng L, Xu W, Kurtz G, Liu FF, Mackay H, Amir E y Liu G. 2012. p53 Arg72Pro polymorphism, HPV status and initiation, progression, and development of cervical cancer: a systematic review and meta-analysis. *Clinical Cancer Research* 18(23):6407-6415.

- Hu X, Zhang Z, Ma D, Huettner PC, Massad LS, Nguyen L, Borecki I y Rader JS. 2010. TP53, MDM2, NQO1, and susceptibility to cervical cancer. *Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention* 19(3):755-761.
- IARC. 2013. Latest world cancer statistics global cancer burden rises to 14.1 million new cases in 2012: Marked increase in breast cancers must be addressed. In Press release No. 223. *Media center: International Agency for Research on Cancer*. Disponible el día 06 de octubre de 2014 en: [https://www.iarc.fr/en/media-centre/pr/2013/pdfs/pr223\\_E.pdf](https://www.iarc.fr/en/media-centre/pr/2013/pdfs/pr223_E.pdf)
- Illades-Aguilar B, Cortés-Malagón EM, Antonio-Véjar V, Zamudio-López N, Alarcón-Romero LdC, Fernández-Tilapa G, Hernández-Sotelo D, Terán-Porcayo MA, Flores-Alfaro E y Leyva-Vázquez MA. 2009. Cervical carcinoma in Southern Mexico: Human papillomavirus and cofactors. *Cancer Detection and Prevention* 32(4):300-307.
- INC. 2014. Cáncer de cuello uterino. In *Centro de medios: Instituto Nacional del Cáncer de los Institutos Nacionales de la Salud de EUA*. Disponible el día 08 de julio de 2014 en: <http://www.cancer.gov/espanol/tipos/cuello-uterino>
- INEGI. 2014a. Estadísticas a propósito de... día mundial contra el cáncer (4 de febrero) datos de sinaloa. In *Aguascalientes, México: Instituto Nacional de Estadística y Geografía*. Disponible el día 16 de junio de 2014 en: [http://www.inegi.org.mx/saladeprensa/aproposito/2016/cancer2016\\_0.sinaloa.pdf](http://www.inegi.org.mx/saladeprensa/aproposito/2016/cancer2016_0.sinaloa.pdf)
- INEGI. 2014b. Estadísticas a propósito de... día mundial contra el cáncer (4 de febrero) datos nacionales. In *Aguascalientes, México: Instituto Nacional de Estadística y Geografía*. Disponible el día 16 de junio del 2014 en: [http://www.inegi.org.mx/saladeprensa/aproposito/2016/cancer2016\\_0.pdf](http://www.inegi.org.mx/saladeprensa/aproposito/2016/cancer2016_0.pdf)
- Koshiol J, Hildesheim A, Gonzalez P, Bratti MC, Porras C, Schiffman M, Herrero R, Rodriguez AC, Wacholder S, Yeager M, Chanock SJ, Burk RD y Wang SS. 2009. Common genetic variation in TP53 and risk of human papillomavirus persistence and progression to CIN3/cancer revisited. *Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention* 18(5):1631-1637.

- Rodríguez-Laprano TD, Lemos EH, Pinto-Cunha LM, Junior JE, De Sousa-Teles RA y Baram-Rabenhorst SH. 2014. Association of TP53 codon 72 and intron 3 16-bp Ins/Del polymorphisms with cervical cancer risk. *Tumor Biology* 35(8):7435-7440.
- Lewis MJ. (2004). Análisis de la situación del cáncer cervicouterino en América Latina y el Caribe. In OPS (ed). Washington, DC. EUA.: *Unidad de Enfermedades no Transmisibles, OPS*. Disponible el día 18 de mayo de 2014 en:  
<http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/165964/1/92%2075%2032531%206.pdf>
- Lizano M, Berumen J y Garcia-Carranca A. 2009. HPV-related carcinogenesis: basic concepts, viral types and variants. *Archives of Medical Research* 40(6):428-434.
- López-Silva G. 2016. Frecuencia de genotipos del virus de papiloma humano en mujeres sinaloenses con lesiones cervicouterinas. Tesis de Licenciatura, Facultad de Ciencias Químico Biológicas, Universidad Autónoma de Sinaloa. Culiacán, Sinaloa, México.
- López S y Lizano S. 2006. Cáncer cérvicouterino y el virus del papiloma humano: La historia que no termina. *Cancerología* 1:31-55.
- Lu M, Miller P y Lu X. 2014. Restoring the tumour suppressive function of p53 as a parallel strategy in melanoma therapy. *FEBS Letters* 588(16):2616-2621.
- Luque-Cabrera J y Herráez-Sánchez A. 2012. *Texto ilustrado de biología molecular e ingeniería genética: conceptos, técnicas y aplicaciones en ciencias de la salud*. In Elsevier 2 (ed). Barcelona, España 1:36-70.
- Momand J, Zambetti GP, Olson DC, George D y Levine AJ. 1992. The *Mdm-2* oncogene product forms a complex with the p53 protein and inhibits p53-mediated transactivation. *Cell Press Collection* 69(7):1237-1245.
- NCI. 2013. Metastasis. In Fact Sheet, vol. 2013. USA: *National Cancer Institute at the National Institutes of Health of the USA*. Disponible el día 16 de junio de 2014 en:  
<http://www.cancer.gov/about-cancer/what-is-cancer/metastatic-fact-sheet>
- NCI. 2014a. Cancer Screening Overview (PDQ®). USA: *National Cancer Institute at the National Institutes of Health of the USA*. Disponible el día 20 de junio de 2014 en:  
<http://www.cancer.gov/about-cancer/screening/hp-screening-overview-pdq>

- NCI. 2014b. Dictionary of cancer. In, vol. 2014. USA: *National Cancer Institute at the National Institutes of Health of the USA*. Disponible el día 16 de junio de 2014 en: <http://www.cancer.gov/>
- Nobusawa A, Sano T, Yokoo S y Oyama T. 2014. Ameloblastic carcinoma developing in preexisting ameloblastoma with a mutation of the p53 gene: a case report. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology and Oral Radiology* 118(5):146-150.
- Nunobiki O, Ueda M, Toji E, Yamamoto M, Akashi K, Sato N, Izuma S, Torii K, Tanaka I, Okamoto Y y Noda S. 2011. Genetic Polymorphism of Cancer Susceptibility Genes and HPV Infection in Cervical Carcinogenesis. *Pathology Research International* 2011:8 pages
- Nunobiki O, Ueda M, Yamamoto M, Toji E, Sato N, Izuma S, Okamoto Y, Torii K, Noda S. 2010. MDM2 SNP 309 human papillomavirus infection in cervical carcinogenesis. *Gynecologic Oncology* 118(3):258-61.
- Okal A, Cornillie S, Matissek SJ, Matissek KJ, Cheatham TE y Lim CS. 2014. Re-Engineered p53 Chimera with Enhanced Homo-Oligomerization That Maintains Tumor Suppressor Activity. *Molecular Pharmaceutics* 2014(11):2442-2452
- Oliveira S, Ribeiro J, Sousa H, Pinto D, Baldaque I y Medeiros R. 2012. Genetic polymorphisms and cervical cancer development: ATM G5557A and p53bp1 C1236G. *Oncology Reports* 27(4):1188-1192.
- OMS. 2004. *Programas nacionales de control del cáncer: políticas y pautas para la gestión* (Vol. 2). Washington, D.C. OPS: Organización Mundial de la Salud. Disponible el día 16 de junio de 2014 en: [https://www.google.com.mx/?gfe\\_rd=cr&ei=L8afU7bEJ4uR8QfDzYCwBA&qws\\_rd=ssl#q=programas+nacionales+de+control+del+cancer](https://www.google.com.mx/?gfe_rd=cr&ei=L8afU7bEJ4uR8QfDzYCwBA&qws_rd=ssl#q=programas+nacionales+de+control+del+cancer)
- OPS. 2013a. Mortalidad por cáncer está decayendo en algunos países de las Américas, según nuevo informe de la OPS/OMS. In *Centro de Medios Uruguay: Organización Panamericana de la Salud*. Diponible el día 18 de junio de 2014 en:

[http://www.paho.org/uru/index.php?option=com\\_content&view=article&id=775:mortalidad-por-cancer-esta-decayendo-en-algunos-paises-de-las-americas-segun-nuevo-informe-de-la-opsoms&Itemid=0](http://www.paho.org/uru/index.php?option=com_content&view=article&id=775:mortalidad-por-cancer-esta-decayendo-en-algunos-paises-de-las-americas-segun-nuevo-informe-de-la-opsoms&Itemid=0)

- OPS. 2013b. Prevención y control integrales del cáncer cervicouterino: un futuro más saludable para niñas y mujeres. In *Nota de orientación de la OPS/OMS*. Washington, D.C.: Organización Panamericana de la Salud. Disponible el día 02 de julio de 2014 en: [http://www.paho.org/hq/index.php?option=com\\_docman&task=doc\\_view&gid=22013&Itemid](http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&task=doc_view&gid=22013&Itemid)
- OPS. 2014. *Cáncer en las Américas: Perfiles de país 2013*. Washington, D.C.: Organización Panamericana de la Salud. Disponible el día 16 de junio de 2014 en: [www.paho.org/hq/index.php?option=com\\_docman&task](http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&task)
- PAHO. 2014. 2014 cancer information note. In *Media center: The Pan American Health Organization*. Disponible el día 16 de junio de 2014 en: [http://www.paho.org/hq/index.php?option=com\\_docman&task=doc\\_details&gid=16805&Itemid=270&lang=es](http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&task=doc_details&gid=16805&Itemid=270&lang=es)
- PAHO. undated. The economic burden of noncommunicable diseases in the region of the Americas. In *Media center: The Pan American Health Organization*. Disponible el día 21 de junio de 2014 en: [http://www.paho.org/hq/index.php?option=com\\_docman&task=doc\\_view&gid=16158&Itemid](http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&task=doc_view&gid=16158&Itemid)
- Lacruz-Pelea C. 2003. Nomenclatura de las lesiones cervicales (de Papanicolau a Bethesda 2001). *Revista Española de Patología* 36(1):5-10.
- Peralta-Rodríguez R, Romero-Morelos P, Villegas-Ruiz V, Mendoza-Rodríguez M, Taniguchi-Ponciano K, González-Yebra B, Marrero-Rodríguez D y Salcedo M. 2012. Prevalence of human papillomavirus in the cervical epithelium of Mexican women: meta-analysis. *Infectious Agents and Cancer* 7(1):34.
- Pina-Sánchez P, Hernández-Hernández DM, Taja-Chayeb L, Cerda-Flores RM, González-Herrera AL, Rodea-Avila C, Apresa-García T, Ostrosky-Wegman P, Vázquez-Ortiz G, Mendoza-Lorenzo P, Duenas-González A y Salcedo M. 2011. Polymorphism in exon 4 of

- TP53 gene associated to HPV 16 and 18 in Mexican women with cervical cancer. *Medical Oncology* 28(4):1507-1513.
- Poblete MT. 2001. Marcadores de utilidad en cáncer mamario. *Cuadernos de Cirugía (Valdivia)* 15(1):74-79.
- Rios-Tostado J, Velarde-Felix J, Ramírez-Osuna I, Castillo-Ureta H, Mendez-Martínez R, Osuna-Martínez L, López-Moreno H, Morgan-Ortiz F, Murillo-Llanes J y Rendón-Maldonado J. 2016. Precancerous squamous intraepithelial lesions by human papillomavirus infection and p53 R72P polymorphism in Mexican women. *Medical Research Archives* 3(8).
- Rivera Z, Aguilera T y Larraín A 2002. Epidemiología del virus papiloma humano (HPV). *Revista Chilena de Obstetricia y Ginecología* 67(6):501-506.
- Robles-Castro S. 2011. Frecuencia del virus del papiloma humano 16 y 18 en pacientes de la clínica de displasias del Hospital General de Los Mochis, Sinaloa. Tesis de Licenciatura, Facultad de Ciencias Químico Biológicas, Universidad Autónoma de Sinaloa, Culiacán, Sinaloa, México.
- Salcedo M, Pina-Sanchez P, Vallejo-Ruiz V, Monroy-García A, Aguilar-Lemarroy A, Cortes-Gutiérrez EI, Santos-Lopez G, Montoya-Fuentes H, Grijalva R, Madrid-Marina V, Apresa-García T, Hernández DM, Jave-Suarez LF, Romero P, Poot A, Salgado E, Ramos-Gonzalez P, Gonzalez-Hernandez R, Canton JC, Jimenez-Aranda L, Parra-Melquiadez M, Paniagua L, Mendoza M, Arreola H, Villegas V, Torres-Poveda K, Bahena-Roman M, Gonzalez-Yebra B, Taniguchi K, Rodea C, Mantilla-Morales A, Mora-García ML, Velazquez-Velazquez CK, Cordova-Uscanga C, Peralta R, Lopez-Romero R, Marrero D, Bandala C, Reyes-Leyva J, Furuya ME, Almeida E, Galvan ME y Grijalva I. 2014. Human papillomavirus genotypes among females in Mexico: a study from the Mexican Institute for Social Security. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention* 15(23):10061-10066.
- Simon R, Aparicio R, Housden BE, Bray S y Busturia A. 2014. Drosophila p53 controls Notch expression and balances apoptosis and proliferation. *Apoptosis* 19(1):1430-1443
- Singhal P, Hussain S, Thakur N, Batra S, Salhan S, Bhambani S y Bharadwaj M. 2013. Association of MDM2 and p53 polymorphisms with the advancement of cervical carcinoma. *DNA and Cell Biology* 32(1):19-27.

- Tarnaud C, Lissouba P, Cutler E, Puren A, Taljaard D y Auvert B. 2011. Association of low-risk human papillomavirus infection with male circumcision in young men: results from a longitudinal study conducted in orange farm (South Africa). *Infectious Diseases in Obstetrics and Gynecology* 2011(1):7.
- Thomas SL, Schultz CR, Mouzon E, Golembieski WA, El Naili R, Radakrishnan A, Lemke N, Poisson LM, Gutierrez JA, Cottingham S y Rempel SA. 2014. Loss of Sparc in p53-null astrocytes promotes macrophage activation and phagocytosis resulting in decreased tumor size and tumor cell survival. *Brain Pathology* 25(4):391-400.
- Vargas-Torres SL, Avvad-Portari E, Mendez-Klumb E, DaRocha-Guillobel HC, DeCamargo MJ, Bastos-Russomano F y Brito-Macedo M. 2014. Effects of MDM2 promoter polymorphisms on the development of cervical neoplasia in a Southeastern Brazilian population. *Biomarkers* 19(8):637-645.
- Velazquez-Marquez N, Jimenez-Aranda LJ, Sanchez-Alonso P, Santos-Lopez G, Reyes-Leyva J y Vallejo-Ruiz V. 2010. Human papillomavirus infection in women from tlaxcala, Mexico. *Brazilian Journal of Microbiology* 41(3):749-756.
- Wang W, Ingles SA, Torres-Mejia G, Stern MC, Stanczyk FZ, Schwartz GG, Nelson DO, Fejerman L, Wolff RK, Slattery ML y John EM. 2014. Genetic variants and non-genetic factors predict circulating vitamin D levels in Hispanic and non-Hispanic White women: the Breast Cancer Health Disparities Study. *International Journal of Molecular Epidemiology and Genetics* 5(1):31-46.
- WHO. 2014a. 10 facts about cancer. In *Media center: World Health Organization*. Disponible el día 16 de junio de 2014 en: <http://www.who.int/features/factfiles/cancer/facts/es/>
- WHO. 2014b. Cancer. In Fact sheet N°297. *Media center: World Health Organization*. Disponible el día 18 de junio de 2014 en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/es/>
- Yuan F, Sun R, Chen P, Liang Y, Ni S, Quan Y, Huang J, Zhang L y Gao L. 2015. Combined analysis of pri-miR-34b/c rs4938723 and TP53 Arg72Pro with cervical cancer risk. *Tumor Biology*: 1-7.
- Zhao Y, Yu H y Hu W. 2014. The regulation of MDM2 oncogene and its impact on human cancers. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica (Shanghai)* 46(3):180-189.

Zheng T, Yin D, Lu Z, Wang J, Li Y, Chen X, Liang Y, Song X, Qi S, Sun B, Xie C, Meng X, Pan S, Liu J, Jiang H y Liu L. 2014. Nutlin-3 overcomes arsenic trioxide resistance and tumor metastasis mediated by mutant p53 in Hepatocellular Carcinoma. *Molecular Cancer* 13(1):133.

## ABREVIATURAS

OMS	Organización Mundial de la Salud
OPS	Organización Panamericana de la Salud
CaCU	Cáncer cervicouterino
VPH	Virus del papiloma humano
INEGI	Instituto Nacional de Estadística y Geografía
CDC	Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades de los Estados Unidos de América
NCI	Instituto Nacional del Cáncer de los Institutos Nacionales de Salud de los Estados Unidos de América
ADN	Ácido desoxirribonucleico
Pap	Prueba de Papanicolaou
ITS	Infección de transmisión sexual
LEIBG	Lesiones escamosas intraepiteliales de bajo grado
LEIAG	Lesiones escamosas intraepiteliales de alto grado
NIC	Neoplasia intraepitelial cervical
SNP	Polimorfismo de nucleótido sencillo
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa
RFLP	Fragmentos de restricción de longitud polimórfica
SSA	Servicios de salud de Sinaloa
$\chi^2$	Chi cuadrada de Pearson
ANOVA	Análisis de varianza
HN	Homocigoto normal
HT	Heterocigoto
HM	Homocigoto mutado



Encuesta aplicada pacientes con displasias cervicales atendidas en los SSA (continuación)

IV. ANTECEDENTES PERSONALES PATOLÓGICOS	
1. ¿Ha padecido infecciones de transmisión sexual (ITS)?	No <input type="radio"/> Si <input type="radio"/> Dx.: _____
2. ¿Su pareja ha padecido o padece ITS?	No <input type="radio"/> Si <input type="radio"/> Dx.: _____
3. ¿Se le ha practicado alguna cirugía del tracto urogenital?	No <input type="radio"/> Si <input type="radio"/> ¿Cuál? _____ Fecha: _____
4. ¿Ha padecido tumores o quistes en el útero u ovarios?	No <input type="radio"/> Si <input type="radio"/> Tx: _____
5. ¿Ha padecido algún tipo de cáncer?	No <input type="radio"/> Si <input type="radio"/> ¿Qué tipo? _____

V. CITOLOGÍA CERVICAL PREVIA	
No <input type="radio"/> Si <input type="radio"/> Fecha: _____	
1. Dx. Citológico previo: LIBG <input type="radio"/> LIAG <input type="radio"/>	
2. Dx Colposcópico: _____	
3. Dx Histopatológico: _____	
4. Dx Molecular VPH Positivo <input type="radio"/> Negativo <input type="radio"/> Genotipo: 16 <input type="radio"/> 18 <input type="radio"/> 31 <input type="radio"/> 35 <input type="radio"/> Otro <input type="radio"/>	
5. Sintomatología: Ardor: _____ Escozor: _____ Leucorrea: _____ Dispareunia: _____ penetración profunda	

VI. CONSENTIMIENTO DEL PACIENTE	
Se me ha informado sobre el proyecto y por mi propia voluntad otorgo mi consentimiento para que el material biológico recolectado en la toma de muestra sea elemento de estudio, siempre y cuando se respete la confidencialidad sobre el origen de la muestra en caso de que los resultados de la investigación sean publicados en foros científicos o en medios impresos.	
_____	_____
Fecha	Nombre y firma del paciente
_____	_____
<b>Dr. José Geovanni Romero Quintana</b> Responsable técnico del proyecto	<b>Dr. José Guadalupe Rendón Maldonado</b> Responsable técnico del proyecto

Responsable de la encuesta: _____
-----------------------------------

Tomado de Robles-Castro (2011)



Que se otorga a:

# CARLOS ERNESTO MORA PALAZUELOS

Por haber asistido al **1er curso teórico Avances recientes en microscopía confocal** con una duración de 10 horas, impartido en las instalaciones de la Facultad de Ciencias Químico Biológicas los días 20 y 21 de abril de 2016

  
Ing. Ignacio Melásquez Garafalic  
Rep. Leica Microsystems Latinoamérica

  
Dr. Jorge Milán Carrillo  
Director FCQB

  
Dra. Elsa Mariel Aguilar Medina  
Coordinadora del Curso



# UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SINALOA

A TRAVÉS DE LA

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICO BIOLÓGICAS, FACULTAD DE MEDICINA  
CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DOCENCIA EN CIENCIAS DE LA SALUD  
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA, FACULTAD DE AGRONOMÍA  
CENTRO DE INVESTIGACIÓN APLICADA PARA LA SALUD PÚBLICA



OTORGA LA PRESENTE

# Constancia

A

**MORA PALAZUELOS CE, MURILLO LLANES J, RENDÓN MALDONADO JG,  
RAMOS PAYÁN R, OSUNA RAMÍREZ I, AGUILAR MEDINA EM,  
LÓPEZ MORENO HS, ROMERO QUINTANA JG**

POR SU PARTICIPACIÓN COMO **PONENTES** EN EL **TRABAJO LIBRE**

**Frecuencia de VHP y polimorfismo del gen P53 y MDM2 en mujeres sanas  
y mujeres con cáncer cervicouterino originarias de Sinaloa**

PRESENTADO EN EL



REALIZADO DEL 25 AL 28 DE NOVIEMBRE DE 2015, EN LA CIUDAD DE MAZATLÁN, SINALOA, MÉXICO.

ATENTAMENTE  
"SURSUM VERSUS"

CULIACÁN ROSALES SINALOA, MÉXICO, 28 DE NOVIEMBRE DE 2015

**DR. JUAN EULOGIO GUERRA LIERA**  
RECTOR DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SINALOA

*Sylvia Paz Díaz Camacho*  
**DR. SYLVIA PAZ DÍAZ CAMACHO**  
PRESIDENTA DEL COMITÉ ORGANIZADOR





# UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SINALOA

A TRAVÉS DE

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICO BIOLÓGICAS, FACULTAD DE MEDICINA  
CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DOCENCIA EN CIENCIAS DE LA SALUD  
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA, FACULTAD DE AGRONOMÍA  
CENTRO DE INVESTIGACIÓN APLICADA PARA LA SALUD PÚBLICA

OTORGA LA PRESENTE

# Constancia

A

**CARLOS ERNESTO MORA PALAZUELOS**

POR SU **ASISTENCIA** AL



**PRIMER  
CONGRESO  
INTERNACIONAL DE  
BIOMEDICINA  
MOLECULAR**

REALIZADO DEL 25 AL 28 DE NOVIEMBRE DE 2015, EN LA CIUDAD DE MAZATLÁN, SINALOA, MÉXICO.

ATENTAMENTE  
*"SURSUM VERSUS"*

CULIACÁN ROSALES SINALOA, MÉXICO, 28 DE NOVIEMBRE DE 2015

**DR. JUAN EULOGIO GUERRA LIERA**  
RECTOR DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SINALOA

*Sylvia Paz Díaz Camacho*  
**DHA. SYLVIA PAZ DÍAZ CAMACHO**  
PRESIDENTA DEL COMITÉ ORGANIZADOR







# La Sociedad Mexicana de Inmunología y la Universidad Autónoma de Sinaloa



A través del Capítulo de Citometría de Flujo SMI y la Facultad de  
Ciencias Químico Biológicas UAS

OTORGAN LA PRESENTE CONSTANCIA A:

**QFB CARLOS ERNESTO MORA PALAZUELOS**

Por haber asistido a los talleres teórico-prácticos:  
**FOSFOPROTEÍNAS Y CITOCINAS INTRACELULARES**

Realizado dentro de la "I Jornada Nacional de Aplicaciones en Citometría  
de Flujo-SMI", con una duración de 20 horas.

Culiacán, Sinaloa a 28 de agosto de 2015

Dra. Elsa Maribel Aguilar Medina  
Responsable de la sede  
FCQB-UAS

Dr. Jorge Milán Carrillo  
Director  
FCQB-UAS

Dra. Lourdes A. Arriaga Pizano  
Coordinadora del Capítulo de  
Citometría de Flujo SMI



Sociedad Médica Quirúrgica del  
Hospital Juárez de México A.C.

otorga la presente

## CONSTANCIA

a:

**MTRO. CARLOS ERNESTO MORA PALAZUELOS**

Por haber concluido satisfactoriamente el curso virtual

## "ONCOLOGÍA BÁSICA"

Valor curricular 20 horas

Dr. Onésimo Zaldivar  
Reyna  
Presidente SMOHJM

Dr. Erik Efraín Sosa  
Durán  
Director del Curso

ID Aula MEJOR: c24-870-22244  
Fechas: Del 22-01-2015 al 22-04-2015



# UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SINALOA

A través de la Unidad Académica  
CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DOCENCIA EN CIENCIAS DE LA SALUD  
Y  
EL HOSPITAL CIVIL DE CULIACAN

Otorgan la presente

## CONSTANCIA

a: **CARLOS ERNESTO MORA PALAZUELOS**

Por haber asistido al 1er Simposium  
APLICACIÓN DE LA BIOLOGÍA MOLECULAR E INMUNOHISTOQUÍMICA EN EL CÁNCER  
realizado el 20 y 21 de Febrero de 2015 en Culiacán, Sinaloa con valor curricular de 20 hrs.

A T E N T A M E N T E  
"SURSUM VERSUS"

Culiacán, Rosales , Sinaloa, México. 21 de Febrero de 2015

Dr. Carlos Fernando Corona Sapien  
DIRECTOR DE ENSEÑANZA CIDOCs

Dr. Jesús Israel Martínez Félix  
DIRECTOR DE CIDOCs

Dra. Carmen Beatriz Caballero Rodríguez  
COORDINADORA DEL SIMPOSIUM



Universidad Autónoma de Sinaloa  
Capítulo de Citometría de Flujo de la Sociedad Mexicana de Inmunología (CCF-SMI)  
Becton Dickinson Biociencias

OTORGAN LA PRESENTE CONSTANCIA A

**Carlos Ernesto Mora Palazuelos**

Por su asistencia al

**Primer Curso de Citometría de Flujo**

Facultad de Ciencias Químico Biológicas de la Universidad Autónoma de Sinaloa  
Culliacán, Sinaloa, del 23 al 25 de octubre, 2014

  
**Dr. Jorge Milán Carrillo**  
Director FCQB-UAS

  
**Dra. Arlett Espinoza Jiménez**  
BD Biociencias



**Dra. Lourdes A. Arriaga Pizano**  
Coordinadora del CCF-SMI



