



**UNIVERSIDAD DE CIENCIAS MÉDICAS DE VILLA CLARA**  
**UNIDAD DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS**

**SUSCEPTIBILIDAD GENÉTICA POLIMÓRFICA Y FACTORES DE RIESGO**  
**ASOCIADOS AL DESARROLLO DE LESIONES EN CUELLO UTERINO**  
**VILLA CLARA 2018 - 2021**

Tesis presentada en opción del grado científico de Doctor en Ciencias Médicas

**Danay Heredia Ruiz**

**VILLA CLARA**

**2023**



**UNIVERSIDAD DE CIENCIAS MÉDICAS DE VILLA CLARA**  
**UNIDAD DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS**

**SUSCEPTIBILIDAD GENÉTICA POLIMÓRFICA Y FACTORES DE RIESGO**  
**ASOCIADOS AL DESARROLLO DE LESIONES EN CUELLO UTERINO**

**VILLA CLARA 2018- 2021**

Tesis presentada en opción del grado científico de Doctor en Ciencias Médicas

**Autora:** Lic. Danay Heredia Ruiz, MSc.

**Tutora:** Dra. Manuela Herrera Martínez, Dr. C.

**VILLA CLARA**

**2023**

*Dedicatoria*

*A mis padres Ada y Osvaldo*

*A mi hermana Dania, Rogelio y Ale*

*A Douglas, mi compañero en la vida*

## *Agradecimientos Especiales*

*A mis queridos padres Ada y Osvaldo por su amor infinito, educación, optimismo diario y por ser mi refugio en los momentos difíciles.*

*A mi sobrino Ale por ser mi niño lindo y darme la alegría que necesité durante estos largos años.*

*A mi hermana Dania (ñaña), su esposo Rogelio y su hijo Erick por la comprensión, dedicación, el apoyo en lo personal y la logística.*

*A Douglas por acompañarme en la vida y en el trabajo, por compartir días y noches de desvelo dedicadas a la investigación, por su cariño y apoyo en las horas de tensión.*

*A mi Tutora Dr.C. Manuela Herrera Martínez por enseñarme y guiarme durante años, por dedicar horas de descanso a mi preparación profesional, por el empuje incansable para la culminación de este proyecto y sobre todo por confiar en mí..Gracias profe.*

*A los Doctores Lázara Gladys López Ocampo, Sergio Santana Rodríguez y Luis Estévez Cobo por la valiosa labor asistencial, su colaboración en la selección de la muestra y las observaciones a la tesis.*

*A los Doctores Juan Antonio Suárez González y Mario Gutiérrez Machado del hospital Gineco-Obstétrico Provincial, por las acertadas sugerencias y la información precisa para la selección de los casos.*

*Al profesor Raúl Ferreira Capote del Centro Nacional de Genética Médica por su colaboración en la estandarización de técnicas de Biología Molecular en los laboratorios de la Unidad de Investigaciones Biomédicas. Por su sabiduría y cooperación en útiles de laboratorio.*

*A las profesoras del Comité Doctoral Nélida Sarasa Muñoz, María Boffill Cárdenas, Tahirry Gómez Hernández y Leticia Bequer Mendoza por compartir sus conocimientos, sugerencias y empeño para que la investigación avance.*

*A los profesores Otmara Guirado Blanco y Oscar Cañizares Luna, que aunque la vida nos arrebató temprano, nos brindaron un caudal de conocimientos durante muchos años. Llegue a ellos el agradecimiento eterno. Descansen en paz †.*

*Al Dr. C. Emilio González Rodríguez por trabajar incansablemente en un proyecto que fusionó educación y salud, lo que permitió la creación del laboratorio de Estrés Oxidativo. Gracias al equipamiento y los reactivos donados por ese proyecto, presentamos hoy una parte importante de este estudio.*

*Al MSc. Jesús Alfonso Rodríguez por haber trabajado junto a mí durante años en el laboratorio de Estrés Oxidativo y compartir su experiencia en la temática.*

*A los Doctores en Ciencia Lisette Ruiz, Raimundo Carmona, Tahiry Gómez, Nélide Sarasa, Ivonne Cepero, Carlos Hidalgo y Anselmo Guillén, por el tiempo dedicado a la revisión de la tesis, sus opiniones y propuestas.*

*A los oponentes en el ejercicio de predefensa Dr. C. Rigoberto Fimia Duarte y Dr. C. Lourdes Faurés Vergara por la exhaustiva revisión, señalamientos, sugerencias y aportes a la memoria escrita.*

*A la Dra. Lourdes Sánchez, viróloga excepcional, jefa del Laboratorio del Centro provincial de Higiene y Epidemiología, por su desinteresada contribución para obtener los resultados de los genotipajes del VPH.*

*A los colegas del programa doctoral Noel, María Elena, Marianela, Elizabeth, Alina, Calixto, Vicente, Celidany, con los que he transitado este camino y aprendido que juntos ha sido la mejor manera de llegar.*

*Al programa doctoral en Ciencias Básicas de la Universidad de Ciencias Médicas de Villa Clara y al departamento Unidad de Investigaciones Biomédicas perteneciente a la Dirección de Ciencia e Innovación Tecnológica, por permitimos realizar la investigación en sus instalaciones.*

*Y un agradecimiento especial a las mujeres que de forma altruista colaboraron con esta investigación. El resultado obtenido es por ellas y por la salud de muchas.*

*Gracias a todos.*

## LISTADO DE ABREVIATURAS

- ADN:** Ácido Desoxirribonucleico
- APS:** Atención Primaria de Salud
- ASO:** Oligonucleótido Alelo Específico
- ASS:** Atención Secundaria de Salud
- CAT:** Enzima catalasa
- CCU:** Cáncer Cérvico Uterino
- CE:** Carcinoma epidermoide
- CIS:** Carcinoma in situ
- DO:** Densidad Óptica o Absorbancia
- EDTA:** Ácido Etiléndiamino-Tetraacético
- EO:** Estrés Oxidativo
- ERNs:** Especies Reactivas de Nitrógeno
- EROs:** Especies Reactivas del Oxígeno
- GPx:** Enzima glutatión peroxidasa
- GRd:** Enzima glutatión reductasa
- GSH:** Glutatión reducido
- GSSG:** Glutatión oxidado
- GST:** Enzima glutatión S- transferasa
- GSTM1:** Glutatión S-transferasa clase Mu
- GSTT1:** Glutatión S-transferasa clase Theta
- H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>:** Peróxido de hidrógeno
- ITS:** Infección de Trasmisión Sexual
- LIE:** Lesión Intraepitelial Escamosa
- LIEAG:** Lesión Intraepitelial Escamosa de Alto Grado
- LIEBG:** Lesión Intraepitelial Escamosa de Bajo Grado

**MDA:** Malonildialdehído

**NIC:** Neoplasia Intraepitelial Cervical

**O<sub>2</sub><sup>•-</sup>:** Anión superóxido

**OH•:** Radical hidroxilo

**OMS:** Organización Mundial de la Salud

**ON:** Óxido Nítrico

**OPS:** Organización Panamericana de la Salud

**OR:** Odds Ratio (razón de productos cruzados o razón de riesgos)

**PAOP:** Productos Avanzados de la Oxidación de Proteínas

**PBS:** Buffer fosfato

**PCR:** Reacción en Cadena de la Polimerasa

**PDPCCU:** Programa de detección precoz de cáncer cérvico uterino

**PT:** Proteínas totales

**RL:** Radicales libres

**rpm:** revoluciones por minuto

**SC:** Santa Clara

**SNPs:** Single Nucleotide Polymorphisms (polimorfismo de un único nucleótido)

**SOD:** Enzima superóxido dismutasa

**SPSS:** Statistical Package for the Social Science (paquete estadístico)

**VC:** Villa Clara

**VPH:** Virus de Papiloma Humano

**VPH-AR:** Virus de Papiloma Humano de Alto Riesgo

**VPH-BR:** Virus de Papiloma Humano de Bajo Riesgo

## **SÍNTESIS**

Se realizó un estudio caso control dirigido a determinar la interacción genética asociada a polimorfismos de la enzima glutatión S-transferasa (GST) y factores de riesgo, en mujeres con lesiones de cuello uterino en diferentes estadios. Los casos se conformaron en tres grupos: mujeres con lesiones intraepiteliales de bajo grado, alto grado y carcinoma epidermoide IIb, y un grupo control de mujeres con citología negativa. Al total de mujeres (N= 265) se le aplicó cuestionario sobre variables de riesgo y determinaron indicadores redox; en 140 fue realizado el genotipaje de los polimorfismos *GSTT1* y *GSTM1*. Los estudios de asociación bivariados, multivariados y de interacción, detectaron factores de riesgo en cada grupo de lesiones. Los indicadores redox evidenciaron afectación del sistema antioxidante endógeno y daño oxidativo a lípidos y proteínas en estadios avanzados de la enfermedad. En el carcinoma epidermoide se encontró asociación del genotipo *GSTM1* nulo e interacción genética para la presencia de ambos genotipos nulos. La interacción gen-ambiente evidenció incremento de los riesgos en los tres tipos de lesiones. La susceptibilidad genética asociada a polimorfismos de GST junto a otras variables produce una potenciación de los riesgos, en la medida que las lesiones de cuello uterino avanzan en estadio.



<b>TABLA DE CONTENIDOS</b>	<b>Páginas</b>
DEDICTORIA	
AGRADECIMIENTOS	
LISTADO DE ABREVIATURAS	
SÍNTESIS	
INTRODUCCIÓN.....	1
Situación problemática.....	2
Problema Científico.....	3
Hipótesis de investigación.....	3
Objetivos.....	4
Fundamento metodológico de la tesis.....	4
Organización del informe.....	6
Consideraciones éticas.....	7
Novedad científica.....	8
Aportes.....	8
CAPÍTULO 1. ESTADO ACTUAL DE LA TEMÁTICA.....	10
1.1 Conceptos. Definiciones. Clasificación de lesiones premalignas y cáncer cérvico uterino (CCU).....	10
1.2 Aspectos epidemiológicos del CCU.....	12
1.2.1 Epidemiología del Virus de Papiloma Humano (VPH).....	13
1.3. Virus oncogénico y CCU.....	14
1.3.1 Estructura viral y genética del VPH.....	15
1.3.2 Mecanismos asociados a la infección por VPH.....	16
1.4 Mecanismos de origen y desarrollo del CCU.....	17
1.4.1 Factores de riesgo relacionados al CCU.....	18
1.5 Bases genéticas de la susceptibilidad diferencial a las infecciones.....	19
1.5.1 Susceptibilidad de base genética al VPH y al CCU.....	20
1.6 Estrés oxidativo en el cáncer.....	21

1.6.1 Estrés oxidativo en el CCU.....	22
1.7 Polimorfismo de la enzima glutatión S-transferasa (GST) y CCU.....	23
1.7.1 Estructura del gen <i>GST</i> y de la proteína.....	23
1.7.2 Polimorfismos <i>GSTT1</i> y <i>GSTM1</i> .....	23
1.7.3 Estudios de asociación genética de GST en CCU.....	24
1.7.4 Estudios de interacción genética ambiental en el CCU.....	25
1.8 Control de la expresión genética.....	25
1.8.1 Control de la expresión genética de GST.....	25
1.8.2 Control de la expresión genética del VPH.....	26
1.9 Control epigenético de la expresión fenotípica en el CCU.....	26
1.10 Vías de comunicación intercelular implicadas en el CCU.....	27
1.11 Cuadro clínico y profilaxis de las lesiones en cuello uterino.....	27
1.12 Conclusiones parciales.....	28
CAPÍTULO 2. FACTORES DE RIESGOS EN MUJERES CON LESIONES EN CUELLO UTERINO EN DIFERENTES ESTADIOS.....	29
2.1 Objetivos parciales.....	29
2.2 Diseño metodológico.....	29
2.2.1 Definición del universo, población y muestra para cada grupo de lesión de cuello uterino estudiado.....	29
2.2.2 Criterios de inclusión, exclusión y salida.....	32
2.2.3 Métodos para la recolección del dato primario.....	32
2.2.4 Variables de estudio y su operacionalización.....	34
2.2.5 Metodologías para el análisis de factores de riesgo en estudio caso control.....	35
2.3 Resultados.....	37
2.3.1 Caracterización de variables epidemiológicas y clínicas.....	37
2.3.2 Estudios de asociación bivariado y multivariado.....	39
2.3.3 Interacciones de factores de riesgo en lesiones de cuello uterino.....	44
2.4 Discusión.....	48
2.4.1 Variables epidemiológicas y clínicas en las lesiones de cuello uterino	48

2.4.2 Factores de riesgo con probable asociación a las lesiones de cuello uterino.....	52
2.4.3 Interacciones entre factores de riesgo en lesiones de cuello uterino	59
2.5 Conclusiones parciales del capítulo.....	60
CAPÍTULO 3. INDICADORES BIOQUÍMICOS DE ESTRÉS OXIDATIVO EN MUJERES CON LESIONES EN CUELLO UTERINO EN DIFERENTES ESTADIOS.....	62
3.1 Objetivos parciales.....	62
3.2 Diseño metodológico.....	62
3.2.1 Muestra para el estudio de indicadores de estrés oxidativo.....	62
3.2.2 Variables de estudio y su operacionalización.....	62
3.2.3 Métodos para los estudios analíticos de estrés oxidativo.....	63
3.2.4 Metodología para el análisis de indicadores de estrés oxidativo.....	65
3.3 Resultados.....	66
3.3.1 Indicadores de estrés oxidativo en casos y controles.....	66
3.3.2 Indicadores de estrés oxidativo en mujeres con VPH.....	69
3.3.3 Indicadores de estrés oxidativo en mujeres con presencia de factores de riesgo.....	70
3.4 Discusión.....	71
3.4.1 Indicadores de estrés oxidativo en casos y controles.....	71
3.4.2 Indicadores de estrés oxidativo en mujeres con VPH.....	75
3.4.3 Indicadores de estrés oxidativo en mujeres con lesiones en cuello uterino y factores de riesgo asociados.....	76
3.5 Conclusiones parciales del capítulo.....	78
CAPÍTULO 4. POLIMORFISMOS GENÉTICOS <i>GSTT1</i> Y <i>GSTM1</i> EN MUJERES CON LESIONES EN CUELLO UTERINO DE DIFERENTES ESTADIOS.....	79
4.1 Objetivos parciales.....	79
4.2 Diseño metodológico.....	79
4.2.1 Muestra para el análisis de polimorfismos <i>GSTs</i> .....	79

---

4.2.2 Variables de estudio y su operacionalización.....	80
4.2.3 Métodos para el estudio de polimorfismos <i>GST</i> .....	80
4.2.4 Metodología para el estudio de polimorfismos <i>GST</i> en estudio caso control.....	82
4.3 Resultados.....	85
4.3.1 Frecuencias genotípicas de los polimorfismos <i>GSTT1</i> y <i>GSTM1</i> en lesiones de cuello uterino.....	86
4.3.2 Asociación genética de los polimorfismos <i>GSTT1</i> y <i>GSTM1</i> a las lesiones de cuello uterino.....	88
4.3.3 Interacción gen - gen para la presencia de doble nulo ( <i>GSTT1</i> -/ & <i>GSTM1</i> -/ ).....	90
4.3.4 Interacción gen - ambiente entre los polimorfismos <i>GSTT1</i> -/ y <i>GSTM1</i> -/ y factores de riesgo.....	90
4.4 Discusión.....	91
4.4.1 Frecuencias alélicas y genotípicas de los polimorfismos <i>GSTT1</i> y <i>GSTM1</i> en lesiones de cuello uterino.....	92
4.4.2 Asociación de polimorfismos <i>GSTT1</i> y <i>GSTM1</i> en mujeres con lesiones en cuello uterino.....	93
4.4.3 Interacción gen - gen.....	96
4.4.4 Interacción gen - ambiente.....	97
4.5 Conclusiones parciales del capítulo.....	98
CONCLUSIONES.....	99
RECOMENDACIONES.....	100
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	
AUTOBIBLIOGRAFÍA	
DOCUMENTOS RELACIONADOS A LA TESIS	
ANEXOS	

## INTRODUCCIÓN

El Cáncer Cérvico Uterino (CCU) es una neoplasia maligna en el cuello del útero, precedido de una historia de diez a quince años de cambios celulares pre-invasivos, que varían desde la displasia leve hasta el carcinoma in situ y pueden evolucionar a carcinomas cervicales o carcinoma invasor.<sup>1</sup> Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), el CCU representa una causa frecuente de morbimortalidad en mujeres en edad reproductiva. Ocupa el cuarto lugar en frecuencia en la mujer en todo el mundo, con una incidencia global estimada en 2020 de 604 000 nuevos casos y una mortalidad de 342 000, donde el 90 % de los fallecimientos ocurrieron en países de bajos y medianos ingresos.<sup>2</sup> En Cuba, los tumores malignos se consideran la segunda causa de mortalidad y dentro de ellos el CCU ocupa el quinto lugar en el sexo femenino. La incidencia en el país en el año 2020 fue de 925 casos y fallecieron 549 mujeres.<sup>3</sup>

La prueba usada en Cuba para el diagnóstico cito-histológico de las lesiones en cuello uterino es la citología exfoliativa, procesada mediante el test de Papanicolaou. La clasificación se basa en el Sistema Bethesda, el cual incluye entre otros términos la Lesión Intraepitelial Escamosa de Bajo Grado (LIEBG) que comprende la infección por el Virus de Papiloma Humano (VPH) y la Neoplasia Intraepitelial Cervical grado I (NIC I), Lesión Intraepitelial Escamosa de Alto Grado (LIEAG) que incluye NIC II, NIC III o carcinoma in situ (CIS), y el carcinoma de células escamosas.<sup>4,5</sup>

El VPH se considera el agente etiológico principal de las lesiones en cuello uterino, que van desde el condiloma acuminado hasta el cáncer infiltrante. Se han identificado alrededor de 200 subtipos del virus y se han clasificado en tipos de bajo riesgo (VPH-BR) y alto riesgo (VPH-AR) oncogénico, de los cuales aproximadamente 30 pueden

infectar el epitelio cervical con riesgo variable de producir enfermedad tumoral progresiva.<sup>1,2,6</sup>

Se ha descrito que además de la infección viral, otros factores de riesgo, tanto ambientales como genéticos, podrían contribuir de manera importante a que la infección persista y progresen las lesiones.<sup>7</sup> El estrés oxidativo (EO) ha sido referido como un cofactor esencial en la carcinogénesis cervical debido a que participa en todas las etapas de este proceso (iniciación, promoción y proliferación). La formación de especies reactivas del oxígeno y el nitrógeno (EROs y ERNs) puede provocar un desbalance entre antioxidantes y pro-oxidantes, afectar la estructura o función de macromoléculas celulares como lípidos, proteínas y ácidos nucleicos e interferir en el funcionamiento celular normal.<sup>8,9</sup>

En las últimas décadas se han fortalecido los estudios de polimorfismos genéticos, pues su presencia confiere inestabilidad genómica y por tanto, susceptibilidad individual a desarrollar diversas enfermedades. Los genes de glutatión S-transferasa clase theta (*GSTT1*) y clase mu (*GSTM1*) que codifican la enzima GST, exhiben polimorfismos de delección homocigótica heredable (genotipo nulo o vacío) que se asocia con ausencia de actividad de la enzima. Por tanto, individuos con este polimorfismo son considerados con riesgo incrementado de malignidades debido a su reducida eficiencia en la protección contra carcinógenos ambientales, agentes quimioterapéuticos y especies reactivas.<sup>10,11</sup>

La mortalidad por tumores malignos a nivel global se ha reducido en las últimas cinco décadas, debido a la implementación de programas para el diagnóstico precoz, la prevención primaria y los hallazgos derivados de investigaciones en la temática. En el CCU el pesquiasaje citológico y las campañas de vacunación para genotipos VPH-AR han mejorado los indicadores, no obstante en países de bajos y medianos ingresos la incidencia y mortalidad continúa en ascenso.<sup>1,2</sup>

### Situación problemática

A pesar de la existencia desde 1968 del programa de detección precoz de CCU, cada año fallecen más de 500 mujeres en Cuba. Por su parte, en Villa Clara según datos obtenidos del departamento de Estadística del Sectorial Provincial de Salud, anualmente enferman con CCU alrededor de 30 mujeres y fallecen cerca de 25.

El VPH se considera el agente causal de más del 90 % de las lesiones en cuello uterino. Aunque el programa de detección de CCU en el país no incluye la prueba diagnóstica del virus, estudios pilotos han confirmado un elevado por ciento de positividad. La susceptibilidad individual a la infección podría ser un elemento importante en el desarrollo de las lesiones.

La alta incidencia de lesiones en cuello uterino constituye una preocupación para ginecólogos y especialistas vinculados al programa materno-infantil, por lo que nuevos conocimientos teóricos se consideran de interés.

### Problema Científico

En Cuba, no existen evidencias científicas que demuestren las interacciones entre la susceptibilidad genética favorecida por los polimorfismos *GSTT1* y *GSTM1* de la enzima glutatiónS-transferasa en mujeres con lesiones premalignas y malignas del cuello uterino. Por otra parte, no existen estudios analíticos en Villa Clara, ni en el país, sobre indicadores de EO en lesiones intraepiteliales en cuello uterino, ni de su asociación con la infección por VPH y factores de riesgo.

### Hipótesis de investigación

La interacción de factores genéticos y ambientales, así como la presencia del alelo nulo de los polimorfismos *GSTT1* y *GSTM1* en el gen *GST* en mujeres, junto al desbalance oxidativo, incrementan el riesgo de aparición de lesiones en cuello uterino e influyen en la carcinogénesis cervical.

**Objeto de investigación:** Las lesiones de cuello uterino en diferentes estadios.

**Sujeto de investigación:** Mujeres con lesiones de cuello uterino en diferentes estadios y mujeres con citología negativa consideradas controles.

**Campo de acción:** Factores de riesgo, indicadores de EO y polimorfismos de la enzima GST asociados a lesiones de cuello uterino.

**Objetivo General:** Determinar la interacción genética ambiental asociada a polimorfismos de la enzima glutatión S-transferasa y factores de riesgo, en mujeres con lesiones de cuello uterino en diferentes estadios.

### Objetivos Específicos

1. Identificar factores de riesgo asociados a mujeres con lesiones premalignas y malignas de cuello uterino y a la presencia de VPH-AR genotipados.
2. Determinar indicadores de estrés oxidativo en casos con distintos tipos de lesiones de cuello uterino y controles.
3. Analizar indicadores de estrés oxidativo en mujeres con genotipos de VPH-AR estudiados y en mujeres con presencia de determinados factores de riesgo.
4. Determinar la asociación genética entre los polimorfismos de las isoformas *GSTT1* y *GSTM1* en las lesiones premalignas y malignas de cuello uterino.
5. Establecer interacción gen - gen y gen - ambiente entre los polimorfismos de las isoformas *GSTT1* y *GSTM1* y variables ambientales asociadas a lesiones premalignas y malignas de cuello uterino.

### Fundamento metodológico de la tesis

La investigación se insertó en el contexto de la salud reproductiva y de la salud de la mujer. Se realizó en Villa Clara entre el año 2018 y 2021.

El fundamento metodológico se sustenta en un estudio analítico caso control, desde la perspectiva de la epidemiología genética, con evaluación bivariada y multivariada de riesgos para variables obstétricas, ginecológicas, de comportamiento sexual, ambientales, hábitos tóxicos y riesgos genéticos, así como diferentes análisis



relacionados a la cuantificación de cinco indicadores bioquímicos de EO, y estudios de asociación genética del alelo nulo de dos polimorfismos de la enzima GST.

En todos los estudios los análisis se realizaron por separado para tres grupos de mujeres con lesiones en cuello uterino, que fueron: un grupo con LIEBG que comprenden el VPH y la NIC I, cuyo diagnóstico fue confirmado en la totalidad por citología y colposcopia y en 77,27 % también por biopsia, según protocolo vigente en Cuba. Otro grupo con LIEAG que incluyen NIC II, III y CIS, todas confirmadas por biopsia y un grupo con diagnóstico de carcinoma epidermoide (CE) grupo IIb, también confirmadas por biopsia. Los controles incluyeron mujeres clínicamente sanas, con citologías negativas o citología y genotipado del VPH-AR ambos negativos.<sup>4,5,12</sup>

Las variables que podrían constituir riesgos se obtuvieron mediante la aplicación de un cuestionario elaborado por la autora a la totalidad de las mujeres, con validación por criterio de expertos en dos fases del desarrollo de la investigación. En el primer momento la validación de expertos ayudó en la definición de las variables del cuestionario que finalmente fueron analizadas. Aquellas que resultaron significativas en el estudio bivariado se incluyeron en el estudio multivariado con las restricciones establecidas para estos análisis. Además, en la selección recomendada del número de variables significativas a incluir como variables independientes en los modelos multivariados también hubo sustento en los criterios de expertos.

Los análisis de interacciones de factores de riesgo ambientales que incluyeron variables con asociación significativa y credibilidad biológica, estuvieron dirigidos a evaluar su efecto conjunto sobre la aparición y desarrollo de las lesiones uterinas.

Se realizaron determinaciones analíticas de cinco indicadores de EO en cada grupo de casos y se compararon respecto al control y entre grupos de casos, para fundamentar si los cambios bioquímicos que ocurren en la mujer debido al proceso inflamatorio durante la infección viral persistente podrían generar un incremento del

EO a medida que las lesiones progresan. Se efectuaron diferentes análisis estadísticos a fin de conocer si existe relación entre la presencia de VPH-AR y los resultados de indicadores de EO y del mismo modo explorar la relación entre la presencia de factores de riesgo significativos y desbalances oxidativos.

Se comprobó el equilibrio de Hardy-Weinberg en la distribución de los genotipos en la muestra control, lo que permitió realizar estudios de asociación genética. Se evaluaron los polimorfismos *GSTT1* y *GSTM1* en cada grupo de casos respecto a los controles. Se determinó la asociación de cada polimorfismo bajo modelo recesivo y aditivo. Además, se analizaron las interacciones gen - gen para los alelos nulos de ambos polimorfismos y la interacción gen - ambiente con factores de riesgo significativos en cada tipo de lesión respecto al control.

El sustento metodológico de los análisis efectuados, apoyados en el marco conceptual, permitió una fundamentación teórica del objeto de estudio y de los métodos para su abordaje presentados en el primer capítulo. Las evidencias alcanzadas con la investigación, presentadas en los tres capítulos de resultados, apoyan un abordaje metodológico que estuvo dirigido a estudiar asociaciones e interacciones entre factores de riesgo genéticos y ambientales en la génesis de las lesiones premalignas y malignas de cuello uterino. La exploración del posible incremento de la influencia de estos factores, según avanza la gravedad de la lesión, se apoyó en la valoración de dichas influencias para cada grupo de lesión.

### Organización del Informe

La tesis se presenta como un documento único. Se estructura en Introducción, Capítulo 1 (Marco teórico), Capítulo 2 (Identificación de factores de riesgo), Capítulo 3 (Estudios bioquímicos de indicadores de EO) y Capítulo 4 (Análisis de los polimorfismos de la enzima GST). Los capítulos 2, 3 y 4 presentan una breve introducción, objetivos parciales, diseño metodológico, resultados, discusión y

conclusiones parciales. La tesis consta además de Conclusiones, Recomendaciones, Bibliografía, Autobiografía, Documentos relacionados a la tesis y Anexos.

En el Capítulo 1 se actualiza sobre aspectos epidemiológicos, mecanismos de origen y desarrollo de cada tipo de lesión, susceptibilidad individual a las infecciones y los factores relacionados a la progresión de las lesiones en el cuello uterino.

El Capítulo 2 contiene el estudio de variables clínicas, epidemiológicas y de riesgo obtenidas por indagación retrospectiva, mediante la aplicación de un cuestionario. La identificación de factores de riesgo, se realizó para cada grupo de mujeres con diferentes tipos de lesión en cuello uterino.

El Capítulo 3 presenta los resultados del análisis de cinco indicadores de EO en cada grupo de casos respecto al control, entre los grupos de casos, y otros análisis.

El Capítulo 4 contiene los resultados del estudio de asociación genética de los polimorfismos *GSTT1* y *GSTM1*, según un modelo recesivo y un modelo aditivo.

El diagrama general de la investigación se presenta en la figura 1.

#### Consideraciones éticas

El protocolo de investigación fue evaluado y aprobado por el Comité Científico y Comité de Ética de la Unidad de Investigaciones Biomédicas de la Universidad de Ciencias Médicas de Villa Clara y del sectorial de Salud del municipio Santa Clara; bajo los preceptos éticos establecidos en la Declaración de Helsinki<sup>13</sup> para investigaciones biomédicas en humanos. El objetivo del estudio, la aplicación del instrumento (cuestionario), la obtención de muestras biológicas (sangre: plasma y ADN) y las acciones de carácter bioético, fueron abordados mediante el consentimiento informado por escrito al total de mujeres participantes (Anexos1 y 2).

### **Novedad científica**

Se realiza por primera vez en Cuba la genotipificación de dos polimorfismos (*GSTT1* y *GSTM1*) de la enzima GST, en mujeres con lesiones de cuello uterino y se llevan a cabo estudios de asociación genética.

No hay evidencias de que se hayan realizado en la provincia Villa Clara, ni en el resto del país, estudios de EO (sistema antioxidante endógeno e indicadores de daño oxidativo a lípidos y proteínas) en mujeres con lesiones de cuello uterino en diferentes estadios.

Es el primer estudio analítico en Villa Clara donde se realizan análisis bivariados, multivariados y de interacciones de factores de riesgos genéticos y ambientales para tres grupos de lesiones de cuello uterino, analizados de manera independiente.

Es el primer estudio en Villa Clara y en Cuba que realiza análisis de interacciones genético - ambientales entre polimorfismos *GSTT1* y *GSTM1* nullos con la presencia de factores de riesgo.

### **Aportes teóricos**

Constituyó una contribución teórica al esclarecimiento de los mecanismos patogénicos, que subyacen en la base del origen y progresión del CCU como enfermedad de causa compleja multifactorial; el conocimiento de las interacciones presentes entre distintos factores de riesgo en los tres grupos de lesiones de cuello uterino estudiadas, las que se expresaron en el análisis multivariado y en las interacciones entre factores ambientales entre sí, en los estudios de interacción gen - gen y gen - ambiente.

Quedaron incluidos en la ecuación de regresión binaria los factores de riesgo significativos que predicen el comportamiento en mujeres expuestas con lesiones, cuando las variables de riesgo se analizan en conjunto.

Los resultados del genotipado del VPH-AR en un grupo de las mujeres incluidas en el estudio, proporcionan información teórica sobre las relaciones de los genotipos VPH con las variables estudiadas.

Los resultados alcanzados mediante los exhaustivos análisis realizados permiten identificar un grupo numeroso de interacciones que potencian los riesgos para el desarrollo de las lesiones, en las que se incrementa el número y la fortaleza de las asociaciones en la medida en que la lesión avanza en estadio.

La correcta construcción del flujograma muestra gráficamente los pasos o procesos a seguir para alcanzar la solución del problema científico de la tesis en una enfermedad compleja multifactorial, lo que ayudó a alcanzar nuevos conocimientos sobre la temática.

#### **Aportes prácticos**

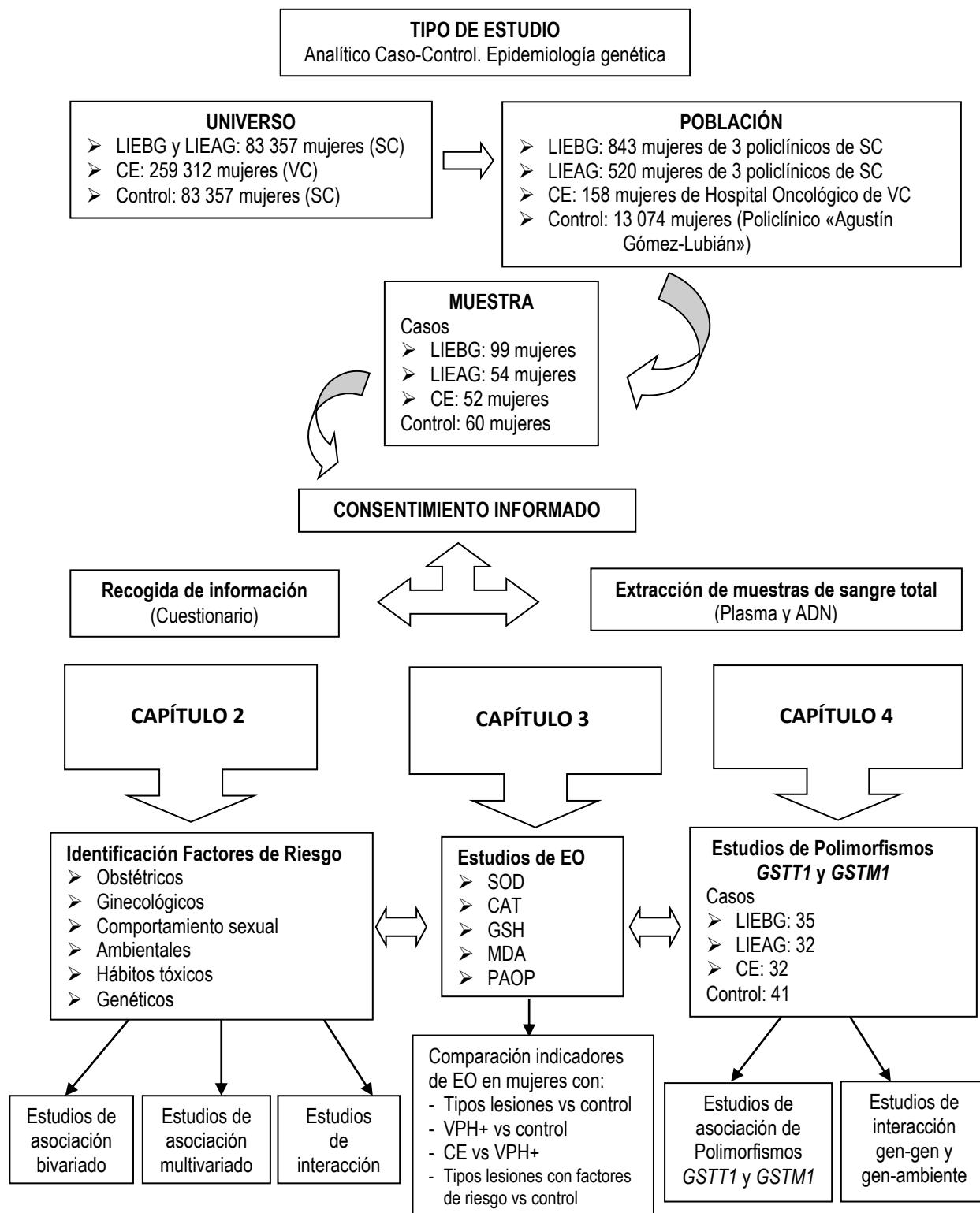
La identificación de los factores de riesgo ambientales que se asocian con la aparición de lesiones de cuello uterino, constituyen un valioso resultado para el diseño de estrategias de promoción y prevención primaria a nivel de la comunidad.

#### **Aportes Sociales**

Los resultados obtenidos proporcionan herramientas para la atención primaria y el servicio de Gineco-Obstetricia en la promoción de salud en mujeres y adolescentes de la comunidad, así como en la prevención del avance de las lesiones de bajo grado a estadios superiores mediante el control de los factores de riesgo.

#### **Aportes Metodológicos**

La metodología utilizada para la realización de los análisis de factores de riesgo, los estudios de indicadores de EO, las interacciones gen - gen y gen - ambiente se consideraron para cada lesión en cuello uterino por separado, lo que posibilita obtener información relacionada con los mecanismos de producción de cada una, sin que se produzcan interferencias en posibles elementos diferenciales en las patogenias y la etiología de cada lesión.



**Figura 1.** Flujograma de la investigación. Estudio caso control. Villa Clara. 2018 - 2021.

## **CAPÍTULO 1. ESTADO ACTUAL DE LA TEMÁTICA RELACIONADA CON LA SUSCEPTIBILIDAD GENÉTICA POLIMÓRFICA, EL VPH Y EL DESARROLLO DE LESIONES EN CUELLO UTERINO**

En el epitelio cervical se producen lesiones que transitan de leves a severas y aunque la transformación celular se relaciona estrechamente a la infección producida por el VPH, los factores de riesgo y la susceptibilidad individual a la infección podrían contribuir de manera importante en la progresión al cáncer.

El capítulo tiene como objetivo actualizar temas relacionados al desarrollo de lesiones premalignas y malignas en cuello uterino, con énfasis en los mecanismos de integración del VPH, el comportamiento de indicadores de EO y en la interacción genética ambiental sustentada en la presencia de polimorfismos de la enzima GST.

### **1.1 Conceptos. Definiciones. Clasificación de lesiones premalignas y cáncer de cuello uterino (CCU)**

El CCU viene precedido generalmente por una larga fase de lesiones pre-invasivas y se caracteriza microscópicamente por una serie de manifestaciones que van desde la atipia celular a diversos grados de displasia o NIC, antes de progresar a carcinoma.<sup>1</sup> El concepto de precursores del CCU se remonta a finales del siglo XIX, cuando se reconocieron zonas de cambios epiteliales atípicos no invasores en muestras de tejidos adyacentes a cánceres invasores. El término carcinoma *in situ* (CIS) se introdujo en 1932 para denotar las lesiones de células carcinomatosas indiferenciadas que abarcaban todo el espesor del epitelio, sin interrumpir la membrana basal.<sup>14</sup> El término displasia de cuello uterino se introdujo a finales de los años 50 para designar la atipia epitelial cervical intermedia entre el epitelio normal y el CIS, y se categorizó en tres grupos - leve, moderada y pronunciada - según el grado de afectación de la

capa epitelial por las células atípicas.<sup>15</sup> Con el paso de los años, se observó que algunos casos de displasia retrocedían, algunos persistían y otros progresaban a CIS, lo que condujo al concepto de un solo proceso mórbido continuo en el que el epitelio normal evoluciona a lesiones epiteliales precursoras y a cáncer invasor. Sobre la base de dichas observaciones, en 1968 se introdujo el término de NIC para denotar las múltiples posibilidades de atipia celular confinada al epitelio.<sup>16</sup>

En los años 80 fueron reconociéndose cada vez más alteraciones anatómo-patológicas como la atipia coilocítica o condilomatosa asociada con la infección por VPH. Los coilocitos son células atípicas con una cavitación o halo perinuclear en el citoplasma, que indica cambios citopáticos debidos a la infección por el VPH. Esto condujo al desarrollo de un sistema histológico simplificado en dos grados: NIC de bajo grado, que comprendía las anomalías compatibles con atipia coilocítica y las lesiones NIC I y NIC de alto grado que comprendía NIC II y NIC III.<sup>17</sup>

En 1988, el Instituto Nacional del Cáncer de los EE.UU. propuso un nuevo esquema de presentación de los resultados de la citología cervical, denominado Sistema de Bethesda,<sup>18</sup> cuya característica principal fue la creación de nuevos términos, como lesión intraepitelial escamosa (LIE), con dos grados: lesiones de bajo grado (LIEBG) y lesiones de alto grado (LIEAG). Las LIEBG incluyen la infección por VPH y NIC I, mientras que las LIEAG incluyen NIC II, NIC III o CIS.

La NIC es una lesión precursora del cáncer de cuello uterino que se caracteriza por alteraciones de la maduración y anomalías nucleares. La NIC I es el tipo de menor riesgo, representa solo una displasia leve o crecimiento celular anormal y es considerado una LIEBG confinada al tercio basal del epitelio cervical. La NIC II es considerada una LIEAG y representa una displasia moderada confinada a los dos tercios basales del epitelio cervical. La NIC III es otro tipo de lesión de alto grado, que se caracteriza por una displasia severa que cubre más de los dos tercios de todo el



epitelio cervical y si incluye todo el grosor del revestimiento cervical se considera como un CIS.<sup>4,5</sup>

El CCU aparece gradualmente por transformación pre-cancerosa de las células normales del cuello uterino hasta convertirse en cáncer. Esta transformación maligna puede desarrollarse a partir de cualquiera de los tejidos que componen el cuello uterino, fundamentalmente a partir de los epitelios de revestimiento: epitelio pavimentoso poliestratificado del exocérnix (carcinomas epidermoides) o epitelio glandular del endocérnix (adenocarcinomas).<sup>4,6,19</sup>

La mayoría de los CCU (90 %) son carcinomas de células escamosas, los cuales se originan con mayor frecuencia en la zona de transformación (lugar de unión del exocérnix con el endocérnix) donde las células cancerosas evidencian características similares a las células escamosas. Otros cánceres cervicales son los adenocarcinomas, los cuales se originan de células glandulares productoras de mucosidad del endocérnix uterino y se han presentado de forma común en los últimos 30 años. Con menor frecuencia el CCU toma características tanto de los carcinomas de células escamosas como de los adenocarcinomas, por lo que se denominan carcinomas adenoescamosos o carcinomas mixtos.<sup>19,20</sup>

## 1.2 Aspectos epidemiológicos del Cáncer Cérvico Uterino

Según la OMS, el CCU constituye un serio problema de salud pues ocupa el cuarto lugar en frecuencia en el sexo femenino, lo que provoca cada año la muerte de aproximadamente 300000 mujeres en el mundo. En el año 2020, se presentaron 604 000 nuevos casos y fallecieron 342 000 mujeres, lo que representa a nivel mundial alrededor del 8 % de todas las muertes por cáncer en las mujeres. A pesar que nueve de cada diez muertes por cáncer cervical se producen en las regiones menos desarrolladas, a diferencia de otros cánceres, éste puede prevenirse hasta en un 75 % mediante programas de tamizaje económicos y de fácil acceso.<sup>2,21</sup>

El CCU es el segundo cáncer más frecuente entre las mujeres de América Latina y el Caribe. Ocupa el cuarto lugar en la región de las Américas y provoca la muerte de unas 35 000 mujeres cada año, con un estimado de 83 000 mujeres diagnosticadas anualmente. Las tasas de mortalidad son tres veces más altas en América Latina y el Caribe que en América del Norte, y si las tendencias actuales continúan, se prevé que el número de muertes en las Américas aumente un 45 % para 2030.<sup>21,22</sup>

En Cuba, según datos del Anuario Estadístico de Salud del 2020, fueron examinadas mediante citologías 707 550 mujeres, para una tasa de 172,9 x 1 000 mujeres de 25 años y más con reexamen cada tres años, de las cuales 925 resultaron positivas al CCU. Este cáncer es la quinta causa de mortalidad femenina en el país con unas 549 defunciones y una tasa ajustada de 9,7 x 100 000 mujeres. La incidencia de CCU en el año 2017 (la última reportada hasta la fecha) fue de 1 537, para una tasa ajustada de 17,8 x 1 000 mujeres de la edad.<sup>3</sup>

Las tasas de supervivencia dependen de muchos factores, que incluyen entre otros el estadio en que se diagnostica el CCU. Cuando se detecta en un estadio temprano, la tasa de supervivencia de cinco años en mujeres con CCU invasivo es de 91 %; si el cáncer se ha diseminado hacia los tejidos, órganos circundantes o ganglios linfáticos regionales la tasa es de 57 %; pero si el cáncer se ha diseminado a otras partes del cuerpo, la tasa es de 17 %.El CCU tiende a ocurrir en la mediana edad. La mayoría de los casos se detecta en mujeres de 35 a 44 años, rara vez se desarrolla en mujeres menores de 20 años. Más del 15 % de los casos de CCU se detecta en mujeres que tienen más de 65 años. Sin embargo, estos cánceres son infrecuentes en mujeres que se realizan pruebas de tamizaje antes de los 65 años.<sup>23-25</sup>

### 1.2.1 Epidemiología del Virus de Papiloma Humano

El test de Papanicolau o citología exfoliativa de cuello uterino, es la prueba que se realiza en Cuba para el pesquisaje en la prevención del CCU, mediante la detección de lesiones microscópicas desde etapas pre-invasivas.<sup>26,27</sup> La evidencia científica

ha demostrado que el CCU es una secuela de una infección persistente producida por ciertos genotipos del VPH, transmitido fundamentalmente por contacto sexual.<sup>2,28</sup> Históricamente los papilomavirus fueron agrupados junto con los poliomavirus para formar la familia Papovaviridae. En la actualidad los VPH son considerados como una subfamilia dentro de la familia Papovaviridae.<sup>28,29</sup>

A la fecha, alrededor de 200 genotipos de VPH han sido identificados. Sin embargo, se ha reportado que aproximadamente 40 infectan el tracto ano-genital. Solo los tipos de VPH 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58 y 59 han sido clasificados como carcinogénicos tipo 1, debido a la prevalencia y a los tipos virales encontrados en epitelio del cuello uterino normal y con cáncer. Existen otros tipos virales como VPH 68, clasificado como probablemente carcinogénico (grupo 2A) y los tipos de VPH 26, 30, 34, 53, 66, 67, 69, 70, 73, 82, 85 y 97, clasificados como posiblemente carcinogénicos (grupo 2B).<sup>29-31</sup>

Según la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR, del inglés Polymerase Chain Reaction) la presencia de VPH tipos 6 y 11 se destaca en el 95 % de los condilomas acuminados. Es posible que las NIC I que remiten presenten mayor frecuencia de tipos de bajo riesgo (VPH-BR) y aquellas NICII-III que progresan sean por tipos de alto riesgo oncogénico (VPH-AR). En muestras de cáncer cervical se han detectado tipos de alto riesgo en un 93 - 99 %.<sup>31,32</sup>

El enlace entre el CCU y el VPH fue demostrado a principios de los años 80 por el doctor Harald zur Hausen. Se evidenció mediante experimentos de hibridación que la infección es un requisito necesario para el desarrollo de esta enfermedad, pero además puede ser causa de otros carcinomas ano-genitales que incluyen pene, vagina, vulva y ano.<sup>33</sup>

### 1.3 Virus oncogénico y Cáncer Cérvico Uterino

Estudios epidemiológicos indican que la infección con un virus oncogénico no significa que obligatoriamente se desarrolle cáncer, aunque los individuos infectados

pueden ser considerados una población de riesgo. También se ha demostrado que los factores de riesgo que conducen al cáncer incluyen la carga viral, la persistencia y duración de la infección.

A nivel mundial, algunos tipos virales son encontrados con mayor frecuencia que otros, en dependencia de la región geográfica; por ejemplo, los VPH-AR tipos 16, 18, 31, 33, 35, 45, 51, 52, 58, 59 se encuentran en África y América Latina. El VPH 16 es el más frecuente en el mundo, excepto en Indonesia y Argelia donde VPH 18 es el más común, el VPH 45 presenta alta frecuencia en África Occidental. Los tipos 33, 39 y 59 se concentran en Centroamérica y Sudamérica. A pesar de los limitados estudios en América del Sur, además del VPH 16 y 18, el VPH 58 es otro de los genotipos encontrados con mayor prevalencia en la región. Este último tipo se ha podido encontrar en el centro y norte de Brasil, Argentina, Colombia y Ecuador.<sup>34,35</sup>

### 1.3.1 Estructura viral y genética del Virus de Papiloma Humano

Los VPH están formados por partículas icosaédricas desnudas, con un diámetro de aproximadamente 55 nm, que se replican en el núcleo de las células epiteliales escamosas. Su genoma está constituido por ADN circular, de doble cadena, covalentemente cerrado, tiene una talla de 7 500 - 8 000 pb y un peso molecular (PM) de 4 950 - 5 280 kDa. Se han identificado dos proteínas estructurales que se expresan de forma tardía y componen la cápside viral: L1 y L2. La proteína mayoritaria es la L1 (PM 55 kDa) altamente conservada entre todos los VPH y parece ser suficiente para la formación de la partícula viral. La proteína que se encuentra en forma minoritaria en la cápside es la L2 (PM 75 kDa) y se considera la menos conservada entre todos los Papilomavirus.<sup>30,32</sup>

El genoma de los VPH puede ser dividido para su estudio en tres segmentos de tallas diferentes. La región de control larga (LCR, del inglés long control region) o región no codificadora (NCR, del inglés non-coding region) que representa aproximadamente un 10 % del genoma, así como los genes tempranos (E, del inglés early) y tardíos (L,

del inglés late) que son codificados aproximadamente por el 50 y el 40 % del genoma, respectivamente. Los genes *L* codifican para las proteínas que componen la cápside viral, mientras que los genes *E* codifican proteínas con una variedad de funciones regulatorias.<sup>34</sup>

Los genes *E6* y *E7* codifican proteínas con funciones estimulantes del crecimiento celular y juegan un rol importante en la carcinogenicidad del virus, por lo que se han denominado oncogenes. El *E6* es uno de los primeros genes tempranos expresados durante una infección por VPH, capaz de alterar el ambiente celular haciéndolo adecuado para la producción de nuevas partículas virales que bloquean la apoptosis mediante la degradación de la p53. También *E6* puede retener la p53 en el citoplasma para bloquear su translocación al núcleo y de esta forma inhibir su función reguladora, independientemente de la degradación. La proteína *E7* presenta la mayor actividad transformante entre las proteínas oncogénicas de los VPH. Se ha demostrado que se asocia con las proteínas supresoras de tumores de la familia del retinoblastoma (*Rb*), lo que propicia la pérdida de la capacidad reguladora de esta proteína supresora.<sup>29,31,32</sup>

### 1.3.2 Mecanismos asociados a la infección por Virus de Papiloma Humano

El ciclo de infección del VPH va en estrecha relación con la forma de diferenciación de su hospedador natural, el queratinocito. El VPH penetra las células supra basales del epitelio cervical por transcripción y represión viral de sus genes tardíos *L1* y *L2*, que son los inmunogenes más poderosos que el VPH sintetiza, esta represión es la que permite al virus escaparse del reconocimiento y la vigilancia inmune del huésped. Como el VPH infecta queratinocitos, no puede alcanzar los órganos linfoides regionales y las células de Langerhans a cargo de la inducción de la inmunidad de células T dependientes una vez infectadas no demuestran la expresión genética viral. La impresión de células T antivirales dependen de la presentación cruzada de antígenos virales por las células de Langerhans. Un número alto del aclaramiento de

infecciones por VPH y lesiones premalignas VPH positivos, indica en general, que la respuesta inmune producida por las células de Langerhans como presentación de células antigénicas en el epitelio es capaz de producir una respuesta inmune eficiente contra el VPH.<sup>32</sup>

La ignorancia del huésped por la infección de VPH permite que se replique su ciclo y de paso a VPH persistente. Las proteínas tempranas E6 y E7 que son elementos para el proceso de transformación, provocan que las células epiteliales no hagan la apoptosis. Estas proteínas son producidas en todas las fases del ciclo de vida del VPH, mientras que las proteínas tardías L1 y L2 no son producidas hasta que el virus se encuentre en la mayor parte de la superficie del epitelio. Estas células infectadas se liberan al descamarse la superficie epitelial.

En determinadas circunstancias fisiológicas de permisibilidad inmunológica y tras un período de persistencia de la infección, generalmente largo, las partículas de ADN viral que se encuentran en forma episomal sufren un proceso de integración dentro del genoma celular y con ello, una serie de acontecimientos que conducen a un proceso de bloqueo de proteínas con funciones importantes en el ciclo celular (p53 y Rb). Como consecuencia se inducen alteraciones en el crecimiento normal y diferenciación del epitelio cervical seguidas de un cúmulo de errores genéticos (clastogénesis) que son la base de la transformación tumoral.<sup>31,32</sup>

#### 1.4 Mecanismos de origen y desarrollo del Cáncer Cérvico Uterino

La mujer desde su vida intrauterina presenta constantes modificaciones del epitelio cérvico-vaginal, el cual está conformado por epitelio escamoso y epitelio cilíndrico o columnar; el sitio de unión de estos epitelios es conocido como unión escamo-columnar o escamo-cilíndrica. Es en esta unión y en la zona de transformación, donde presumiblemente actúan los agentes con potencial carcinogénico que origina la metaplasia atípica, LIE cervicales y carcinomas invasivos. La zona de transformación cambia gradualmente según la edad, avanza cada vez más hacia el

endocérnix y durante la edad reproductiva esta zona es distal al orificio cervical. La metaplasia, por otra parte, es tan común que se considera un proceso fisiológico.<sup>26,27,36</sup>

El CCU invasivo por lo general está precedido de una historia de diez a veinte años de cambios celulares pre-invasivos que varían desde la displasia leve hasta el CIS y corresponde al estadio final de un espectro continuo de alteraciones epiteliales, en las que un estadio da lugar al siguiente de manera imperceptible.<sup>25,36,37</sup>

El 99 % de estos cánceres se desarrolla debido a la infección genital por VPH que ocurre con la exposición de las células basales del huésped a la infección viral a través de una barrera epitelial dañada, como sucede durante el acto sexual o como producto de otras abrasiones dérmicas menores.<sup>37</sup> Es considerada como una de las infecciones de transmisión sexual (ITS) más frecuentes en la población mundial, presente sobre todo en mujeres jóvenes, aunque también están ampliamente difundida entre adultos que han sido sexualmente activos.<sup>38</sup>

La historia natural de la infección por VPH demuestra que la resolución espontánea se presenta en el 90 % de mujeres inmuno-competentes en aproximadamente el curso de dos años. La tasa de infección en población femenina se estima en 40 % para mujeres de 20 a 29 años de edad y en población general independiente de la edad se reportan cifras de 13 a 15 %, cifras que exceden por mucho el número de casos de cáncer invasor, estimado en menos del 0,01 %. Por otro lado, más del 98 % de los casos de cáncer invasor del cuello uterino están asociados a algún tipo de VPH. Esta es la razón principal por la que se ha establecido que la infección por VPH es una causa necesaria pero no suficiente para desarrollar un cáncer invasor.<sup>39,40</sup>

#### 1.4.1 Factores de riesgo relacionados al Cáncer Cérvico Uterino

Consistente con la etiología infecciosa existe una estrecha relación entre factores de riesgo ambientales, genéticos, gineco-obstétricos y estilos de vida, que influyen en la progresión al CCU. Los factores más relacionados incluyen mujeres con múltiples

parejas sexuales, inicio de la sexualidad y primer embarazo antes de los 18 años y la multiparidad, los cuales muestran un riesgo incrementado a padecer la enfermedad.<sup>7</sup>

Las co-infecciones del VPH con otros agentes infecciosos de transmisión sexual, posiblemente condicionan un efecto sinérgico que aumenta las posibilidades de alteraciones celulares y conducen al desarrollo de la neoplasia. El uso prolongado de anticonceptivos orales, el hábito de fumar, el nivel de escolaridad y socioeconómico bajo (malnutrición), niveles disminuidos de antioxidantes y el acceso a los sistemas de pesquijaje, también incrementan el riesgo de lesiones en cérvix.<sup>41-43</sup>

### 1.5 Bases genéticas de la susceptibilidad diferencial a las infecciones

Las enfermedades infecciosas han jugado un rol importante en el proceso de selección natural a lo largo de la historia humana. La interacción entre los genes que regulan la resistencia a las infecciones y los factores ambientales está relacionada con la constitución genética individual. Esto implica que variantes alélicas de determinados genes disminuyen o incrementan la probabilidad de supervivencia ante un ataque infeccioso y en consecuencia, solo una proporción de la población no expuesta logrará sobrevivir a una infección producida por un nuevo agente patógeno. De esta forma, la constitución genética de una población dada deberá diferir antes y después de la exposición a un agente infeccioso entre personas que no han alcanzado su capacidad reproductiva completa.<sup>44,45</sup>

Probablemente el área más difícil en los estudios genéticos relacionados con las enfermedades complejas, es el análisis de las bases genéticas relacionadas con la susceptibilidad individual a las enfermedades infecciosas. No solo porque son enfermedades altamente poligénicas, sino porque existe una alta heterogeneidad inter-poblacional. Se ha evidenciado mediante estudios de epidemiología genética la relación de genes específicos con la predisposición a padecer algunas infecciones, por lo que las variaciones genéticas entre las poblaciones humanas contribuyen a la susceptibilidad a dichas enfermedades.<sup>45-48</sup>



### 1.5.1 Susceptibilidad de base genética al Virus de Papiloma y al Cáncer Uterino

Se ha reportado que de las mujeres infectadas por VPH oncogénicos solo algunas desarrollarán cáncer cervical, por lo que probablemente los factores genéticos y ambientales están involucrados en la susceptibilidad al CCU. La variabilidad genética del huésped, variaciones intratipos de VPH, co-infecciones con múltiples tipos de VPH y con otros agentes, así como estilos de vida dependientes de la infección que interaccionan entre las células del huésped y el genoma del virus, podrían ser factores que incrementan la susceptibilidad individual al CCU.<sup>49-51</sup>

Estudios genéticos epidemiológicos acerca de la heredabilidad del cáncer cervical ha demostrado una agregación familiar de primer grado en NIC y CCU invasor.<sup>52</sup> Sin embargo, la evidencia de herencia genética y susceptibilidad a cáncer cervical están referidos principalmente en estudios en gemelos. A esto se suma, que la susceptibilidad a este tipo de cáncer es observada en otros fenotipos, tales como pacientes con anemia de Fanconi, en los cuales hay un incremento del riesgo de desarrollar tanto cáncer cervical como vulvar.<sup>53</sup> Estos estudios sugieren fuertemente que la genética del huésped juega un rol en la susceptibilidad al CCU. Sin embargo, los genes involucrados en este proceso aún continúan en estudio.<sup>49</sup>

En las últimas décadas, los polimorfismos de nucleótido simple (SNPs, del inglés: Single Nucleotide Polymorphisms) han comenzado a ser intensamente estudiados con el objetivo de dilucidar las bases genéticas de enfermedades multifactoriales. Tales polimorfismos representan la forma más frecuente de variabilidad en el genoma humano, muchos de ellos corresponderían a cambios no sinónimos a nivel proteico, razón por la que se utiliza como marcadores de elección en los estudios de asociación de enfermedades con componentes multigénicos, entre las que se incluyen las enfermedades neoplásicas.<sup>48,54,55</sup>

### 1.6 Estrés oxidativo en el cáncer. Especificidades en Cáncer Cérvico Uterino

Se ha estudiado en los últimos años el rol que desempeña el EO en la carcinogénesis, encontrándose que participa por diversos mecanismos en todas las etapas de este proceso (iniciación, promoción y progresión) donde las especies reactivas del oxígeno y el nitrógeno (ERONs) o radicales libres (RL) juegan un papel importante en cada fase, lo que induce mutaciones genéticas y activa vías de señalización que promueven la proliferación y supervivencia celular.<sup>56,57</sup>

Las EROs son metabolitos caracterizados por estar parcialmente reducidos, con gran avidéz para aceptar electrones de otras moléculas, lo que puede afectar la estructura o función de las células. Se producen a partir de fuentes endógenas y exógenas. La fuente endógena principal es la cadena respiratoria mitocondrial, aunque las oxidasas (NADPH, xantina, entre otras), el óxido nítrico sintasa, el ciclo catalítico del citocromo y la defensa antimicrobiana (macrófagos y neutrófilos) también originan EROs. Entre los radicales más reactivos se encuentran el anión superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ), el radical hidroxilo ( $OH^{\cdot}$ ) y el peroxilo ( $ROO^{\cdot}$ ). Otras especies reactivas consideradas no radicales también resultan de interés, entre ellas el peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ), el oxígeno singulete ( $^1O_2$ ) y el ácido hipocloroso. Bajo condiciones hipóxicas, la cadena respiratoria mitocondrial puede producir además de las EROs, óxido nítrico (NO), el cual genera ERNs que afectan varios procesos metabólicos y provocan daños importantes a la célula.<sup>56-58</sup>

Entre las fuentes exógenas de EROs se encuentran la radiación UV, compuestos químicos derivados de contaminantes ambientales, alcohol, tabaco, medicamentos, ejercicio intenso, entre otros. La asociación de fuentes endógenas y exógenas propicia un desequilibrio oxidativo que trae consecuencias críticas para la célula. La oxidación de estructuras de la membrana celular como carbohidratos, lípidos, proteínas y ácidos nucleicos impide su normal desarrollo y función.

Para protegerse del ambiente oxidante causado por las EROs la célula cuenta con mecanismos de defensas endógenos y exógenos, que previenen o retardan el daño a biomoléculas. El sistema endógeno incluye enzimas antioxidantes de alto peso molecular como la superóxido dismutasa (SOD), la catalasa (CAT) y el glutatión peroxidasa (GPx) que llevan a cabo la eliminación de RL o la transformación de estos en especies menos tóxicas. Los antioxidantes no enzimáticos incluyen compuestos de bajo peso molecular, entre los que destacan el glutatión (GSH) y las enzimas que participan en su ciclo redox GPx y GRd, el ácido úrico; las vitaminas A, C, D, E y coenzima Q.<sup>57-59</sup>

El EO se define como el desbalance entre sustancias pro-oxidantes y antioxidantes, a favor de los oxidantes, que puede deberse a tres causas fundamentales: 1) aumento en la producción de EROs o RL; 2) disminución de los antioxidantes debido a la neutralización o barrido de las especies radicálicas o 3) por la ocurrencia de ambos eventos a la vez. El desequilibrio oxidativo puede causar daño a componentes celulares como a lípidos de la membrana, lo que potencia la formación de productos de peroxidación lipídica, a proteínas que se oxidan y sufren cambios conformacionales que afectan su función y daño al ADN por rompimiento de cadenas y oxidación de bases nitrogenadas que si no son reparadas inducen mutación, apoptosis o transformación celular maligna.<sup>58,59</sup>

### 1.6.1 Estrés oxidativo en el Cáncer Cérvico Uterino

Los tejidos epiteliales, blanco electivo para la infección por VPH, están expuestos a múltiples fuentes de EO. La variabilidad de la respuesta individual podría deberse a un estatus antioxidante diferente en el tiempo, al periodo de exposición y a factores genéticos. Este hecho se refuerza por el vínculo entre las EROs y los productos de peroxidación.<sup>60,61</sup>

Las EROs pueden contribuir a la replicación viral y a la propagación de la infección, en dependencia de las células infectadas y el tipo de virus. El desbalance entre

oxidantes y antioxidantes puede influenciar la historia natural de la infección por VPH, lo que incrementa la habilidad de los oncogenes virales (*E6* y *E7*) para la supervivencia celular bajo condiciones de EO. Esto podría ocurrir a través de varios mecanismos que incluyen la modulación de la actividad de enzimas antioxidantes, la inhibición de la apoptosis normal y la regulación de la expresión de los genes involucrados en la defensa antioxidante.<sup>8,62,63</sup>

## 1.7 Polimorfismo de la enzima glutatión S- transferasa y Cáncer Cérvico Uterino

### 1.7.1 Estructura del gen *GST* y de la proteína

Existe diversidad de reportes de la literatura sobre estudios de asociación genética que relacionan el CCU con variantes alélicas en locus polimórficos, con resultados variables entre poblaciones humanas. Entre muchos otros se ha estudiado el polimorfismo del gen *GST*.<sup>64</sup>

La *GST* es una gran familia de enzimas presentes en todos los organismos aeróbicos. De acuerdo a su localización celular se clasifican en citosólicas, mitocondriales y microsomales; se presentan en ocho clases distintas ( $\alpha$ ,  $\mu$ ,  $\pi$ ,  $\omega$ ,  $\sigma$ ,  $\theta$ ,  $\zeta$ , y  $\kappa$ ) y se expresan en las células del hígado, pulmón, corazón, intestino, eritrocitos y linfocitos. La familia citosólica es la más compleja y la más estudiada, la cual ha sido asignada en cinco clases distintas: *GSTA* ( $\alpha$ ), *GSTM* ( $\mu$ ), *GSTP* ( $\pi$ ), *GSTT* ( $\theta$ ) y *GSTO* ( $\omega$ ) cuyos genes se encuentran localizados en los cromosomas 6p12, 1q13.3, 11q13, 22q11.2, y 10q24.3, respectivamente.<sup>64,65</sup>

Cada clase de *GST* presenta distintas isoformas codificadas por varios genes: la clase  $\theta$  consiste de dos genes *GSTT1* y *GSTT2*. Mientras, la clase  $\mu$  está codificada por cinco genes que constituyen las isoformas *GSTM1*, *GSTM2*, *GSTM3*, *GSTM4* y *GSTM5*.<sup>64,65</sup>

### 1.7.2 Polimorfismos *GSTT1* y *GSTM1*

La clase  $\theta$  del *GST* codifica para el gen *GSTT1*, el cual se localiza en el brazo largo del cromosoma 22 (22q11.23) del humano y muestra una delección debida a un

proceso de recombinación homóloga entre dos segmentos de aproximadamente 18 Kb los cuales flanquean a *GSTT*. La deleción produce un segmento conocido como H0 que difiere en algunos nucleótidos por las dos secuencias homólogas que se fusionan.<sup>65,66</sup>

La clase  $\mu$  del GST codifica para el gen *GSTM1* que está localizado en el brazo corto del cromosoma 1 (1p13.3) del humano y presenta diversos tipos de polimorfismos, los cuales incluyen cambios en una sola base nitrogenada que originan los alelos *GSTM1*\*A y *GSTM1*\*B, duplicaciones del gen *GSTM1*\*1x2 y una deleción que da origen al genotipo identificado como *GSTM1*\*0 o alelo nulo. La deleción del gen *GSTM1* ocurre por una recombinación desigual entre dos regiones altamente conservadas de 4,2 Kb que se ubican en los extremos 5' y 3' del gen respectivamente y conlleva a la pérdida de un segmento de aproximadamente 18 Kb. La recombinación se produce por la unión de los dos segmentos repetidos que flanquean el gen, de aproximadamente 23 Kb que no codifica para proteína.<sup>65,66</sup>

Los polimorfismos *GSTT1* y *GSTM1* en estado homocigoto (genotipo nulo o vacío) llevan a la pérdida total de la actividad enzimática y son detectados por la ausencia del fragmento que corresponde al gen una vez que se amplifica mediante PCR la región donde se encuentran. Son polimorfismos poco frecuentes, pero están relacionados con malignidades, por lo que son objeto de múltiples estudios.<sup>65-67</sup>

### 1.7.3 Estudios de asociación genética de GST en Cáncer Cérvico Uterino

Los estudios realizados en diferentes poblaciones para conocer el rol de los polimorfismos presentes en los genes *GST*, resultan en muchos casos contradictorios por la variabilidad de las frecuencias alélicas. Estas variaciones podrían deberse a la distribución de los genes de detoxificación en la población, influenciada por patrones geográficos específicos, a diferencias étnicas debido a la mezcla de poblaciones o al limitado número de muestras posibles de estudiar.<sup>65</sup>

Al analizar genotipos de GST en distintas poblaciones se han observado diferencias significativas en las frecuencias alélicas. Para el genotipo nulo de *GSTM1*, las frecuencias oscilan entre un 50 - 58 % en varias poblaciones caucásicas, 49 - 63 % en asiáticos y de 20 - 33 % en grupos africanos. Por su parte, el alelo nulo de *GSTT1*, se reporta en menor frecuencia en caucásicos y significativamente mayor en asiáticos.<sup>65</sup>

A pesar de las discrepancias entre los estudios de las frecuencias alélicas y de asociación de los polimorfismos de la enzima GST con el CCU, varios investigadores coinciden en la existencia de asociación entre los genotipos *GSTT1* y *GSTM1* nulos en el CCU respecto a la exposición a tóxicos ambientales.<sup>67-69</sup>

#### 1.7.4 Estudios de interacción genética ambiental en el Cáncer Cérvico Uterino

El CCU, como la mayoría de los cánceres, es una enfermedad multifactorial donde el componente genético y ambiental se relaciona de manera esencial. Entre los factores que favorecen el desarrollo de la enfermedad están la herencia, las mutaciones, los factores hormonales y el estado inmune del huésped. A ello se adicionan factores externos o ambientales y estilo de vida tales como la exposición a radiaciones, dieta poco saludable, infecciones a repetición, consumo de alcohol, tabaco y otras sustancias que podrían favorecer la progresión al cáncer.<sup>70,71</sup>

La predisposición genética es un factor importante, representa el 27 % del efecto de los factores subyacentes para el desarrollo del tumor. La herencia afecta la susceptibilidad a la infección por VPH, la capacidad para resolverla y el tiempo de desarrollo de la enfermedad. En esto influye de manera crucial la respuesta inmune generada contra el VPH, que determina si este se eliminará o persistirá y eventualmente dará lugar al CCU.<sup>70-72</sup>

### 1.8 Control de la expresión genética

#### 1.8.1 Control de la expresión genética de GST

La afectación de la actividad de la enzima GST produce un incremento de la inestabilidad genómica que predispone susceptibilidad a varios cánceres, entre los que se incluyen: piel, páncreas, hígado, ovario, vejiga, pulmón, mama, cabeza y cuello, cuello uterino, próstata, entre otros.<sup>65</sup>

Los genes que codifican la enzima GST intervienen en la protección celular contra los efectos citotóxicos, por tanto la presencia de polimorfismos que exhiben una delección homocigótica en genes *GSTT1* y *GSTM1* se asocian con una ausencia de actividad de la enzima. Los individuos con este polimorfismo podrían tener un riesgo incrementado de malignidades debido a la reducida eficiencia de la enzima en la protección frente a carcinógenos ambientales, agentes quimioterapéuticos y EROs.<sup>66</sup>

### 1.8.2 Control de la expresión genética del Virus de Papiloma Humano

La sobreexpresión de los genes transformantes puede ser consecuencia de la pérdida del gen viral *E2*. Su función es la producción de proteínas reguladoras de la transcripción de las regiones tempranas del virus, que a su vez reprimen la transcripción de los genes *E6 / E7*.<sup>73,74</sup>

En las lesiones de bajo grado y en la mayor parte de las de alto grado, el VPH se encuentra en su forma episomal y el gen *E2* está intacto. Sin embargo, en más del 90 % de los carcinomas el VPH está integrado al ADN de la célula huésped; la integración interrumpe los sitios de lectura de los genes *E2 / E1*, pero deja intactos *E6 / E7*, liberándolos de la regulación a la vez que permite su expresión.<sup>73,74</sup>

### 1.9 Control epigenético de la expresión fenotípica en el Cáncer Cérvico Uterino

La epigenética es un fenómeno bien establecido que desempeña un papel importante en diversidad de procesos biológicos, entre ellos el desarrollo embrionario, la biología del cáncer y la respuesta del sistema inmunológico. Para la mayoría de los tipos de tumores los defectos epigenéticos podrían ser sólo una de las muchas alteraciones moleculares de las células que llevan al fenotipo maligno.<sup>75,76</sup>

En el cáncer la metilación del ADN es un aspecto relevante, pues participa en la regulación de la expresión genética de dos maneras; directamente al impedir la unión de factores de transcripción e indirectamente al propiciar la estructura "cerrada" de la cromatina. La asociación entre el estado hipometilado del ADN y el cáncer, y posteriormente su relación con la hipermetilación, se ha convertido en un poderoso biomarcador epigenético para la detección temprana del cáncer; además permite clasificar los cánceres según los subtipos histológicos, el grado de malignidad, diferencias en la respuesta al tratamiento y los diversos pronósticos.<sup>75,76</sup>

#### 1.10 Vías de comunicación intercelular implicadas en el Cáncer Cérvico Uterino

La transición de una célula normal a una célula maligna implica diferentes alteraciones de sus vías de señalización intracelular. La transducción y transmisión de estas vías depende de circuitos moleculares. Un aspecto central del cáncer es el concepto de que las células pierden su capacidad para detectar y responder de forma adecuada a las señales extracelulares, por lo que desarrollan señales autocrinas para superar los controles normales. Múltiples son las vías involucradas en la carcinogénesis cervical: Wnt/ $\beta$ -catenina, Notch, TLRs, JAK/STAT, PI3K/Akt, NF- $\kappa$ B. Estas vías participan en la regulación de múltiples procesos celulares que incluyen la proliferación celular, supervivencia, crecimiento y motilidad.<sup>77-80</sup>

#### 1.11 Cuadro clínico y profilaxis de las lesiones en cuello uterino

Las lesiones premalignas del cérvix por lo general transcurren de forma asintomática. Las mujeres acuden a consultas ginecológicas generalmente por presencia de condilomas cervicales, vulvares o vaginales, flujo vaginal persistente, malestares cervicales y en su mayoría por alteración en la citología.<sup>12,25</sup>

El CCU en su fase precoz, generalmente se asocia con un flujo rosado acuoso vaginal descrito como "agua de lavar carne" y hemorragia que se presenta tras el coito, lavados vaginales y menos frecuentemente con la defecación, algunas veces se produce un sangrado intermitente. En estadios avanzados puede presentarse



dolor en hipogastrio por infiltración neoplásica y síndrome constitucional (astenia, anorexia y pérdida de peso), síntomas por invasión vesical (disuria, hematuria) y rectal (disquecia, hematoquecia), así como anemia.<sup>43,81</sup>

La OMS recomienda para el control del CCU, la existencia de programas de pesquisaje con estrategias claramente definidas y ampliamente difundidas, relacionadas a la promoción de la salud y prevención de la enfermedad. Para ello la mayoría de los protocolos incluyen la práctica de citologías periódicas con o sin colposcopia, así como el genotipaje del VPH implementado en algunos países. Actualmente existen vacunas profilácticas para prevenir el contagio de infecciones por VPH, cuyo objetivo es la creación de antígenos capaces de inducir anticuerpos neutralizantes que impidan la entrada del virus a la célula huésped.<sup>81,82</sup>

### 1.12 Conclusiones parciales

1. El tema objeto de estudio es un área de marcado interés, teórico, práctico y social, que abarca tanto aspectos relacionados con las ciencias básicas biomédicas, como tópicos de interés para especialidades clínicas, tales como la ginecología, la oncología y la atención primaria de salud, por el importante componente de profilaxis que es necesario incrementar.
2. La revisión de la literatura abarcó un número amplio de publicaciones de los últimos cinco años en las principales bases de datos de repositorios médicos de alcance internacional en varios idiomas, y en lo fundamental de fuentes primarias, que evidencian el interés y la actualidad de la temática.
3. La susceptibilidad o protección a las infecciones, no resulta de factores genéticos aislados sino del resultado de una intrincada interrelación de diversos factores genéticos en forma de múltiples polimorfismos. La presencia de variabilidad individual, tanto del virus como de los hospederos infectados, con sus variables exposiciones de riesgo, conducen en unos casos al confinamiento de la infección y en otros casos, a su progresión a estadios más avanzados.

## CAPÍTULO 2. FACTORES DE RIESGO EN MUJERES CON LESIONES EN CUELLO UTERINO EN DIFERENTES ESTADIOS

Las lesiones premalignas y malignas en cuello uterino, en su mayoría, se producen por la infección que provoca el VPH. No obstante, factores que constituyen riesgo podrían favorecer el progreso de las lesiones a estadios superiores.

### 2.1 Objetivos parciales

- 1- Identificar factores de riesgos genéticos y ambientales con probable asociación en mujeres con lesiones de cuello uterino en diferentes estadios y en mujeres con VPH-AR genotipado.
- 2- Determinar las interacciones entre distintos tipos de factores de riesgo en mujeres con lesiones de cuello uterino en diferentes estadios.

### 2.2 Diseño metodológico

#### 2.2.1 Definición del universo, población y muestra para cada grupo de lesión de cuello uterino estudiada

#### **LIEBG**

**Universo:** estuvo conformado por 83 357 mujeres entre 20 y 69 años del municipio Santa Clara, según el anuario estadístico 2020.

**Población:** fueron 33 000 mujeres en las edades entre 20 y 69 años que se atienden en las consultas de Patología de Cuello del policlínico «Agustín Gómez-Lubián Orioste», de donde se tomó la muestra de estudio, que corresponden a tres policlínicos docentes universitarios de la ciudad: «Capitán Roberto Fleites», «Santa Clara» y «Agustín Gómez-Lubián», en el periodo entre 2018 y 2021.

**Población fuente de casos:** fueron 843 mujeres residentes en Santa Clara, que acudieron a las consultas de Patología de Cuello del policlínico «Agustín Gómez-Lubián» en el periodo estudiado, con diagnóstico de LIEBG.

**Muestra de estudio:** fueron 99 mujeres con LIEBG (VPH y NIC I)

Se seleccionaron 60 mujeres por muestreo aleatorio estratificado, donde los estratos fueron los tres policlínicos de la ciudad de Santa Clara. Cada semana, se tomaron para estudios todas las mujeres que acudían a consulta de seguimiento, cuyo diagnóstico de LIEBG ya establecido, se tenía en cuenta para ir incorporándolas de forma consecutiva hasta completar las 20 definidas para cada policlínico. Además 39 mujeres con VPH-AR genotipado (30 sin lesión en citología o colposcopia y 9 con diagnóstico de NIC I), las que fueron obtenidas de la consulta de Patología de Cuello del Hospital Gineco-Obstétrico «Mariana Grajales» de Villa Clara, pertenecientes a algunos de los tres policlínicos antes referidos.

## **LIEAG**

**Universo y población:** el mismo empleado en las LIEBG.

**Población fuente de casos:** fueron 520 mujeres residentes en Santa Clara, que acudieron a las consultas de Patología de Cuello del policlínico «Agustín Gómez-Lubián», con diagnóstico de LIEAG.

**Muestra de estudio:** fueron 54 mujeres con LIEAG (NIC II/ III/ CIS).

Se seleccionaron 45 mujeres por muestreo aleatorio estratificado, con la misma metodología de muestreo explicada para las LIEBG, incorporándolas de forma consecutiva hasta completar las 15 definidas para cada policlínico. Además, 9 mujeres con VPH-AR genotipado (cuatro con diagnóstico de NIC II, tres con diagnóstico de NIC III y dos con CIS), las que fueron obtenidas de la consulta de Patología de Cuello del Hospital Gineco-Obstétrico «Mariana Grajales» de Villa Clara, pertenecientes a alguno de los tres policlínicos antes referidos.

## **CE**

**Universo:** fueron 259 312 mujeres de 20 a 69 años de Villa Clara, ya que el estudio se hizo con pacientes de la provincia.

**Población:** fueron 722 mujeres atendidas en el Hospital Docente Clínico Quirúrgico «Celestino Hernández Robau» de Villa Clara, que acudieron a consulta multidisciplinaria de Cáncer de Cuello en el periodo de estudio.

**Población de estudio:** fueron 158 mujeres entre 20 a 69 años procedentes de la provincia, que acudieron al hospital «Celestino Hernández Robau» de Villa Clara a consulta multidisciplinaria de Cáncer de Cuello por CE, en el periodo de estudio.

**Muestra:** fueron 52 mujeres con una biopsia positiva de CE grupo IIb, las que se seleccionaron por muestreo aleatorio estratificado, donde los estratos fueron los 13 municipios de la provincia, las que fueron tomadas según la incidencia por municipios (con un caso los municipios de Encrucijada, Cifuentes y Santo Domingo, dos casos los municipios de Manicaragua, Quemado, Ranchuelo, Remedios, con tres casos Caibarién, Corralillo y Sagua, seis casos Camajuaní, nueve casos Placetas y 17 casos Santa Clara).

## **Controles**

**Universo:** estuvo conformado por 83 357 mujeres entre 20 y 69 años del municipio Santa Clara.

**Población:** fueron 13 074 mujeres entre 20 y 69 años de población abierta correspondiente al policlínico «Agustín Gómez-Lubián», de donde se tomaron los controles.

**Muestra:** a partir de los criterios de inclusión y exclusión, se conformó con 60 mujeres pertenecientes al policlínico «Agustín Gómez-Lubián»; de ellas 30 con citología negativa realizada en los seis meses previos al inicio de la investigación y 30 mujeres que además de la citología negativa tenían VPH-AR oncogénico negativo, obtenido mediante estudios de genotipificación, a partir del pesquisaje realizado en 2020 a una

muestra de la población de Santa Clara. Ambos grupos de mujeres fueron seleccionadas por muestreo aleatorio simple, a partir de los registros de citologías orgánicas y libro de resultados del estudio molecular de VPH.

### 2.2.2 Criterios de inclusión y de salida

#### **Criterios de inclusión para los casos**

- Que otorgaron el consentimiento para participar en el estudio.
- Con capacidad para responder a la entrevista.
- Diagnosticadas por cito-histología, colposcopias y/o biopsias, confirmados clínicamente en consultas de patología de cuello de la APS o ASS, que permanecieron al menos seis meses en seguimiento. De ellas:
  - LIEBG que incluyó VPH y NIC I, el 77, 27 % se diagnosticó por citología y biopsia.
  - LIEAG que incluyó NIC II, NIC III o CIS, diagnosticadas en su totalidad por biopsia.
  - Cáncer invasor, específicamente el CE, diagnosticadas en su totalidad por biopsia.

#### **Criterios de inclusión para los controles**

- Que otorgaron consentimiento informado.
- Aptas para responder a la entrevista.
- Con citologías negativas o citología y genotipado del VPH de alto riesgo oncogénico, ambos negativos. Citología de menos de seis meses.
- Sin alteración en chequeo anteriores, ni enfermedad cérvico-uterina previa.

#### **Criterios de salida**

- Mujeres que decidieran abandonar el estudio
- Mujeres que omitieran información importante durante la recogida de datos.

### 2.2.3 Métodos para la recolección del dato primario

**Estadísticas vitales:** a partir del Sistema de Información Estadística Nacional de Demografía, Oficina Nacional de Estadística e Información, Anuario estadístico de Salud del 2020, Anuario estadístico de Santa Clara del 2020 y Registros del programa de detección precoz de CCU del departamento de Estadística del Sectorial

Provincial de Salud, se recopilaron datos demográficos, mortalidad, morbilidad, información del total de mujeres examinadas y positividad según etapa clínica.<sup>3</sup>

**Fuentes documentales para la certeza diagnóstica:** se realizó un estudio documental que consistió en la revisión de historias clínicas, tarjetas de citología orgánica e informes de biopsias del policlínico «Agustín Gómez-Lubián», así como registro de datos del genotipaje de VPH del Laboratorio de Virología ubicado en el Sectorial Provincial de Higiene y Epidemiología y Hospital Provincial Gineco-Obstétrico de Villa Clara.

A partir de las tarjetas de citología orgánica se corroboró el diagnóstico en la consulta de patología de cuello según resultados de cito-colposcopias y biopsias, resultados de los complementarios y tiempo de seguimiento en la misma, el cual está establecido según el protocolo clínico vigente de la siguiente forma: ante un informe de citología alterado la mujer es remitida a consulta de patología de cuello donde se repite citología, se realiza cepillado y colposcopia. De aparecer alguna alteración en la citología se realiza biopsia. De no aparecer alteraciones se establece seguimiento cada seis meses durante un periodo de dos años. Ante toda lesión que clasifique como NIC II, NIC III o CIS se le realiza biopsia, se decide tratamiento y consultas de seguimiento. Un informe con cito-histología y biopsia positiva a cáncer invasor es tributario de que se remita la paciente a consulta multidisciplinaria del Hospital Provincial Clínico Quirúrgico «Celestino Hernández Robau».

**Instrumento utilizado:** se confeccionó un cuestionario, por la autora del trabajo, para obtener información de variables clínicas, epidemiológicas y de riesgo, que se aplicó mediante entrevista individualizada (Anexo 3). Además, se recopilaron datos necesarios tales como identidad, información primaria proveniente de historias clínicas, tarjeta de citología orgánica, resultados de biopsia, resultados de laboratorio y estudio de VPH.

El cuestionario fue validado por criterio de experto en dos etapas donde participaron 12 profesionales de ramas afines a la temática. La primera etapa se efectuó antes de su aplicación, a fines de obtener criterios sobre pertinencia de las variables incluidas. La segunda etapa se realizó previa a la realización de los análisis multivariados, con el objetivo de explorar consistencia en la literatura y credibilidad biológica de las asociaciones que resultaron significativas en los estudios bivariados. Por criterios de expertos se excluyeron diez variables (etapa 1) de 36 consideradas inicialmente en el cuestionario y tres en la segunda etapa de validación (Anexo 3).

**Limitaciones:** en los estudios casos controles no pudieron ser evitadas las limitaciones inherentes a la información de variables de riesgo durante la entrevista, correspondientes al efecto producido por sesgos de memoria y de tiempo.

El control de los sesgos de información se basó en la aplicación del cuestionario previamente validado, siempre por la misma persona, la investigadora principal. Se llevó a cabo mediante entrevista individualizada a cada mujer participante en el estudio (casos y controles) lo que evitó interpretaciones erróneas. La revisión de historias clínicas, tarjetas de citología orgánica, biopsias y registros de casos fue realizada también por la autora del trabajo.

#### 2.2.4 Variables de estudio y su operacionalización

Las variables de estudio se clasificaron en: epidemiológicas, clínicas y de riesgo. Todas fueron definidas y operacionalizadas según se muestra en el anexo 4.

Variables epidemiológicas: edad del debut, color de la piel y zona de residencia.<sup>1,7</sup>

Variables clínicas: LIEBG (VPH y NIC I), LIEAG (NIC II, III, CIS), CE grupo IIb.<sup>1,4,5,34</sup>

Variables de riesgo: obstétricas (multigestación, multiparidad y parto temprano); ginecológicas (edad de la menarquia, enfermedades benignas del cuello y legrados); comportamiento sexual (uso de anticonceptivos, sexualidad precoz, múltiples parejas sexuales e ITS previas); ambientales (consumo de vitaminas/minerales, obesidad, exposición a tóxicos ambientales en ámbito laboral y exposición a tóxicos ambientales

en lugar de residencia); hábitos tóxicos (tabaco y alcohol) y genéticas (antecedentes familiares de CCU, antecedentes familiares de otro cáncer ginecológico u otro cáncer de cualquier localización; se consideró el grado de parentesco).<sup>7,84-87</sup>

### 2.2.5 Metodología para el análisis de factores de riesgo en estudio caso control

#### 2.2.5.1 Metodología para el estudio de asociación bivariado

El estudio de asociación bivariado se realizó entre variables cualitativas nominales. De un total de 25 variables, 19 se consideraron de riesgo. Aquellas que resultaron significativas se exponen en tablas según el tipo de lesión.

Se efectuaron análisis de asociación bivariados tipo caso control clásicos, en los casos con cada tipo de lesión respecto a los controles, entre mujeres con VPH-AR genotipado respecto a controles y entre mujeres que alcanzaron el estadio de CE respecto a mujeres con VPH-AR genotipado.

Para el análisis estadístico se utilizaron los programas SPSS Inc. (del inglés, Statistic Package for the Social Science) versión 20 para Windows y EPI-INFO versión 7. Se elaboraron tablas tetracóricas de 2 x 2 para la presencia o ausencia de los factores de riesgo analizados, donde el daño a la salud consideró por separado los distintos estadios de lesión cervical. Se empleó la dócima de independencia y homogeneidad Ji Cuadrado Mantel-Haenzel ( $X^2$ ) o el Test de Probabilidades Exactas de Fisher, así como la V de Cramer como medida de magnitud de asociación para comprobar si existían diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) o altamente significativas ( $p < 0,01$ ). A los factores que resultaron significativos se les calculó la razón de productos cruzados (OR) y un intervalo de confianza (IC) al 95 %.

#### 2.2.5.2 Metodología para el estudio de asociación multivariado

El estudio de asociación multivariado se llevó a cabo mediante una regresión logística binaria por el método Introdur. Se efectuaron tres análisis y se consideraron como variables dependientes las variables clínicas: LIEBG, LIEAG y CE respectivamente. Las variables independientes evaluadas en cada tipo de lesión fueron las variables de



riesgo que resultaron significativas en el análisis bivariado. Se tuvo en cuenta, que no fueran colineales, que tuvieran consistencia en la literatura, credibilidad biológica, que estuvieran presentes en ambos grupos al menos con tres mujeres expuestas, que cumplieran el número establecido de variables a incluir según el tamaño de cada grupo de casos y fueran validadas por expertos.

El análisis de colinealidad para las variables independientes a introducir se realizó previamente, con el fin de excluirlas del análisis de regresión. Resultaron colineales en las LIEBG las ITS previas con la Chlamydia, por lo que fue excluida la infección por Chlamydia.

#### 2.2.5.3 Metodología para estudio de interacción de factores de riesgo

Se efectuaron estudios de asociación bivariado, donde se consideró la presencia conjunta de dos factores de riesgo, sobre la probabilidad de aparición de lesiones en cuello uterino. Los estudios se realizaron en los tres tipos de lesiones.

Los factores de riesgo que se tuvieron en cuenta para efectuar los análisis de interacción fueron aquellos que resultaron significativos en el análisis bivariado de factores de riesgo individuales. Se tuvieron en cuenta además otros factores de riesgo, que a pesar de no resultar significativos como variables aisladas cuando se probaron en conjunto arrojaron interacciones significativas.

El análisis estadístico empleado fue similar al referido para el análisis bivariado de factores de riesgo individuales. Además, se hizo un análisis donde se consideró si el OR de la interacción de cada factor de riesgo observado era mayor que el esperado en el modelo aditivo o multiplicativo. El OR esperado en el modelo multiplicativo resultó de la multiplicación de ambos OR por separado y en el modelo aditivo de la adición de ambos OR.<sup>84</sup>

## 2.3 Resultados

### 2.3.1 Caracterización de variables epidemiológicas y clínicas

#### Caracterización de la muestra según variables epidemiológicas

La tabla 1 muestra los rangos de edades en que aparece cada tipo de lesión. Las mujeres con LIEBG mostraron un promedio de edad al diagnóstico de  $40,84 \pm 10,55$  años, mientras que en las LIEAG fue de  $40,76 \pm 10,38$  años. En ambos grupos, el debut ocurrió en la tercera y cuarta década de vida. Los casos con CE presentaron una media de edad de  $55,83 \pm 12,27$  años y la enfermedad apareció con mayor frecuencia en la quinta y sexta década de vida. En el grupo control la edad promedio fue de  $43,98 \pm 11,52$  años.

**Tabla 1.** Rango de edad en mujeres con lesiones en cuello uterino en diferentes estadios. Estudio caso control. Villa Clara. 2018 - 2021.

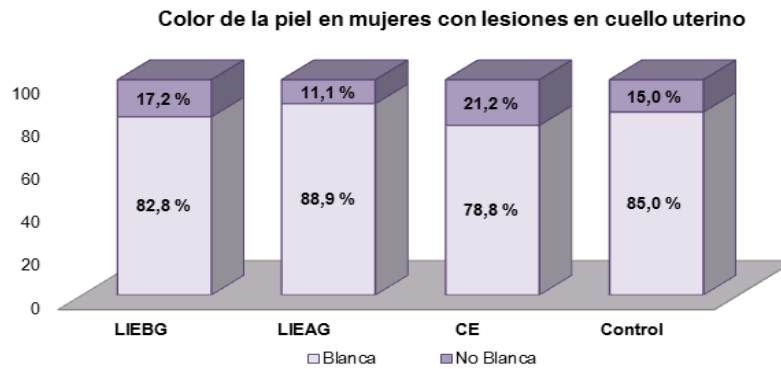
Rango de edad (años)	LIEBG No (%)	LIEAG No (%)	CE No (%)	Control No (%)	Total
15 - 30	18 (18,18)	10 (18,51)	1(1,92)	8 (13,33)	37
31 - 40	30 (30,30)	18 (33,33)	8 (15,38)	15 (25,00)	71
41 - 50	30 (30,30)	14 (25,92)	5 (9,61)	17 (28,33)	66
51 - 60	20 (20,20)	11 (20,37)	19 (36,53)	15 (25,00)	65
61 y más	1 (1,01)	1 (1,85)	19 (36,53)	5 (8,33)	26
Total	99	54	52	60	265

LIEBG: Lesión Intraepitelial Escamosa de Bajo Grado, LIEAG: Lesión Intraepitelial Escamosa de Alto Grado, CE: Carcinoma epidermoide

Fuente: Base de datos de la investigación

La distribución de los valores de la edad al debut de la enfermedad resultó no homogénea ( $p= 0,0001$ ); las comparaciones entre grupos resultaron significativas entre las LIEBG - CE ( $p= 0,0001$ ) y LIEAG - CE ( $p= 0,0001$ ) (Anexo 5).

En cuanto al color de la piel, en el grupo de LIEBG el 82,8 % de las mujeres se consideró caucásico, en las LIEAG lo eran el 88,9 % y en el grupo de CE el 78,8 %. En el grupo control se observó un 85,0 % de mujeres blancas. Los resultados de cada grupo de lesión se muestran en la figura 2.



**Figura 2.** Resultados porcentuales del color de la piel en mujeres con LIEBG, LIEAG y CE. Estudio caso control. Villa Clara. 2018 - 2021.

LIEBG: Lesión Intraepitelial Escamosa de Bajo Grado, LIEAG: Lesión Intraepitelial Escamosa de Alto Grado, CE: Carcinoma epidermoide.

Fuente: Base de datos de la investigación

En cuanto al lugar de residencia, predominó la zona urbana. El 85 % de las mujeres con LIEBG residía en la ciudad, en el grupo de LIEAG el 82 %, mientras que en el grupo con CE el 71 %. Las mujeres que conformaron el grupo control, el 84 % residían en zona urbana.

### **Caracterización de la muestra según variables clínicas**

Dentro del grupo de mujeres con LIEBG, 64 tenían diagnóstico de VPH positivo; 39 (60,93 %) se habían realizado estudio molecular previo con resultados positivos a VPH-AR, de ellos VPH16: 3 (7,69 %), VPH18: 4 (10,25 %) y otros tipos VPH-AR: 32 (82,05 %); en 25 mujeres (39,06 %) la presencia de VPH fue inferida por citohistología. El 77,73 % de las mujeres con NIC I, resultaron con citología y biopsias positivas, mientras que el 22,27 % fue diagnosticado por citología y colposcopia. En las biopsias predominó la cervicitis crónica, la endocervicitis y la atipia coloclítica o condilomatosa.

Las LIEAG fueron confirmadas por biopsias, que refirieron displasia de moderada a severa y CIS de acuerdo al grado de atipia celular. De los casos, en nueve mujeres

(16,66 %) se identificó previamente VPH-AR por genotipaje molecular, de ellos VPH16: 2 (5,55 %), VPH18: 3 (7,40 %) y otros tipos VPH-AR: 4 (7,40 %).

El CE fue confirmado por biopsia, descrito como carcinoma de células escamosas, donde el 30 % mostró signos no queratinizantes, el 13,3 % queratinización y el 56,7 % de las biopsias no presentó la información. El estadio estudiado fue el IIb, donde el carcinoma se extiende más allá del cérvix, pero no a la pared pélvica.

Las mujeres seleccionadas como controles, resultaron negativas a la citología y no presentaron signos clínicos. El 46,6 %, además de la citología, resultaron negativas a un estudio previo para genotipaje molecular de VPH-AR.

### 2.3.2 Estudios de asociación bivariado y multivariado de factores de riesgo

#### 2.3.2.1 Estudios de asociación bivariado en casos y controles

El análisis bivariado de factores de riesgo en cada tipo de lesión respecto al control, se expone en las tablas de la 2 a la 4.

La tabla 2 muestra las variables que resultaron significativas en el grupo de mujeres con LIEBG. Se observó que diez variables resultaron factores de riesgo, los de mayor presencia en este grupo fueron el no uso de preservativos (72,7 %), la sexualidad precoz (71,7 %), las múltiples parejas sexuales (60,6 %), las ITS previas (56,6 %) y la exposición pasiva al humo de tabaco (45,4 %). El factor de riesgo genético que se asoció fue la presencia de CCU en familiares de primer grado de parentesco ( $p=0,038$ ).

**Tabla 2.** Factores de riesgo que resultaron significativos en mujeres con LIEBG. Estudio caso control. Villa Clara. 2018 -2021.

Factores de riesgo	LIEBG (n= 99)		Controles (n= 60)		X <sup>2</sup> de Pearson o (*TE Fisher)		OR		V de Cramer
	N	%	N	%	Valor	Sign.	Valor	CI al 95 %	Valor
Fumador pasivo	45	45,45	12	20,00	10,52	0,001	3,33	1,58 - 7,02	0,257
Hábitos alcohólicos	18	18,18	2	3,30		0,006*	6,44	1,43 - 28,86	0,217
ITS previas	56	56,56	8	13,33	29,03	0,0001	8,46	3,64 - 16, 68	0,427
Chlamydias	25	25,25	7	11,66	4,28	0,038	17,85	2,34 - 136,06	0,292
Enfermedad benigna del cérvix previas	37	37,37	8	13,33	10,64	0,001	3,88	1,66 - 9,06	0,259
Sexualidad precoz	71	71,71	20	33,33	22,48	0,0001	5,07	2,53 - 10,13	0,376
Múltiples parejas sexuales	60	60,60	14	23,33	20,86	0,0001	5,05	2,45 - 10,40	0,362
Parto temprano (<20 años)	23	23,23	6	10,00	4,38	0,036	2,72	1,03 - 7,14	0,166
No uso de preservativo	72	72,72	34	56,66	4,33	0,037	2,04	1,03 - 4,00	0,165
Cáncer de útero en familiares de I Grado	25	25,25	7	11,66	4,28	0,038	2,55	1,03 - 6,35	0,164

LIEBG: Lesión Intraepitelial Escamosa de Bajo Grado. \*TE: Test exacto de Fisher, Significación: p<0,05 y p<0,01

Fuente: Resultados del cuestionario

Los factores de riesgo que resultaron significativos en las mujeres con LIEAG se exponen en la tabla 3. Las variables altamente significativas (p<0,01) fueron las ITS previas, la sexualidad precoz, múltiples parejas sexuales y el no uso de preservativos. Entre los factores de riesgo genéticos, el cáncer de útero en familiares de primer grado de parentesco fue el que resultó significativo (p= 0,030).

**Tabla 3.** Factores de riesgo que resultaron significativos en mujeres con LIEAG. Estudio caso control. Villa Clara. 2018 -2021

Factores de riesgo	LIEAG (n= 54)		Controles (n= 60)		X <sup>2</sup> de Pearson o (*TE Fisher)		OR		V de Cramer
	N	%	N	%	Valor	Sign.	Valor	CI al 95 %	Valor
Hábito de fumar	15	27,77	7	12,96	4,73	0,030	2,91	1,08 - 7,82	
Fumador pasivo	20	37,03	12	20,00	4,09	0,043	2,35	1,02 - 5,45	0,189
ITS previas	22	40,74	8	13,33	11,01	0,001	4,46	1,77 - 11,22	0,311
Enfermedad benigna del cérvix previa	16	29,62	8	13,30	4,54	0,033	2,73	1,06 - 7,05	0,200
Obesidad	9	16,66	2	3,33		0,024*	5,80	1,19 - 28,18	0,225
Sexualidad precoz	40	74,07	20	33,30	18,92	0,0001	5,71	2,54 - 12,86	0,407
Múltiples parejas sexuales	35	64,81	14	23,33	19,95	0,0001	6,05	2,67 - 13,72	0,418
Parto temprano < 20 años	14	25,92	6	10,00	4,98	0,026	3,15	1,11 - 8,91	0,209
No uso de preservativo	43	79,62	34	56,66	6,84	0,009	2,98	1,29 - 6,89	0,245
Píldora anticonceptiva	33	61,11	25	41,66	4,30	0,038	2,20	1,03 - 4,65	0,194
Cáncer de útero en familiares de I Grado	15	27,77	7	11,66	4,77	0,030	2,91	1,08 - 7,82	0,204

LIEAG: Lesión Intraepitelial Escamosa de Alto Grado. \*TE: Test exacto de Fisher, Significación: p<0,05 y p<0,01

Fuente: Resultados del cuestionario

Las variables con asociación significativa al CE, se exponen en la tabla 4. Se observó que 15 variables resultaron factores de riesgo en este tipo de lesión; varios de estos factores fueron similares a los descritos en las LIE de bajo y alto grado. Se constatan, además, otros factores significativos como el no consumo de vitaminas / minerales presentes en el 86,5 % de las mujeres, exposición a tóxicos en zona de residencia (50,0 %) y la obesidad (23,0 %). Entre los riesgos obstétricos y los relacionados a la vida sexual se encontraron diferencias en las mujeres enfermas con multigestación, multiparidad y que usaron DIU. Los antecedentes de CCU en familiares de primer grado resultó ser el factor genético más asociado (p= 0,022).

**Tabla 4.** Factores de riesgo que resultaron significativos en mujeres con CE. Estudio caso control. Villa Clara. 2018 -2021

Factores de riesgo	CE (n= 52)		Controles (n= 60)		X <sup>2</sup> de Pearson o (*TE Fisher)		OR		V de Cramer
	No	%	No	%	Valor	Sign.	Valor	CI al 95 %	Valor
Hábito de fumar	14	26,92	7	11,66	4,25	0,039	2,78	1,02 - 7,57	0,195
Fumador pasivo	26	50,00	12	20,00	11,18	0,001	4,00	1,74 - 9,21	0,316
Hábitos alcohólicos	8	15,38	2	3,30		0,043*	5,27	1,07 - 26,07	0,211
ITS previas	16	30,76	8	13,33	5,03	0,025	2,88	1,11 - 7,46	0,212
No consumo de vitaminas / minerales	45	86,53	40	66,66	6,01	0,014	3,21	1,23 - 8,40	0,232
Exposición a tóxicos en zona de residencia	26	50,00	12	20,00	11,18	0,001	4,00	1,73 - 9,21	0,316
Obesidad	12	23,07	2	3,30		0,003*	8,70	1,85 - 40,99	0,298
Sexualidad precoz	34	65,38	20	33,33	11,46	0,001	3,78	1,72 - 8,27	0,320
Múltiples parejas sexuales	23	44,23	14	23,33	5,50	0,019	2,61	1,16 - 5,86	0,222
Multigestación	40	76,92	25	41,66	14,22	0,0001	4,67	2,05 - 10,64	0,356
Parto temprano (<20 años)	28	53,84	6	10,00	25,33	0,0001	10,50	3,84 - 28,66	0,476
Multiparidad (>3 hijos)	14	29,92	2	3,30		0,001*	10,68	2,29 - 49,69	0,336
Uso de DIU	39	75,00	27	45,00	10,36	0,001	3,67	1,63 - 8,22	0,304
No uso de preservativo	48	92,30	34	56,66	18,04	0,0001	9,18	2,93 - 28,71	0,401
Cáncer de útero en familiares de I Grado	15	28,84	7	11,66	5,20	0,022	3,06	1,14 - 8,26	0,216

CE: Carcinoma epidermoide. \*TE: Test exacto de Fisher, Significación: p<0,05 y p<0,01

Fuente: Resultados del cuestionario

### 2.3.2.2 Estudio de asociación bivariado de factores de riesgo en mujeres con Virus de papiloma Humano de Alto riesgo (VPH-AR) genotipado.

El análisis de las variables de riesgo en mujeres con VPH-AR positivo según genotipado (sin diagnóstico de lesión por citología o colposcopia) respecto al grupo control, se muestra en la tabla 5. Se observó que cinco de ellas se comportaron como factores de riesgo. La condición de fumador pasivo (V de Cramer= 0,460), las múltiples parejas sexuales (V de Cramer= 0,421) y los hábitos alcohólicos (V de Cramer= 0,416), resultaron las asociaciones más fuertes.

**Tabla 5.** Factores de riesgo significativos en mujeres con VPH-AR genotipado y controles. Estudio caso control. Villa Clara. 2018 -2021.

Factores de riesgo	VPH-AR Genotipados (n= 30)		Controles (n= 60)		X <sup>2</sup> de Pearson o (*TE Fisher)		OR		V de Cramer
	N	%	N	%	Valor	Sign.	Valor	CI al 95 %	Valor
Fumador pasivo	20	66,66	12	20,00	19,009	0,0001	8,00	2,97 - 21,48	0,460
Hábitos alcohólicos	10	33,33	2	3,33		0,0001*	14,50	2,92 - 71,89	0,416
Sexualidad precoz	20	66,66	20	33,33	9,00	0,003	4,00	1,57 - 10,13	0,316
Múltiples parejas sexuales	20	66,66	14	23,33	15,957	0,0001	6,57	2,50 - 17,27	0,421
Enfermedades benignas del cérvix previas	11	36,66	8	13,33	6,538	0,011	3,76	1,31 - 10,76	0,270

VPH-AR: Virus de Papiloma Humano de Alto Riesgo, \*TE: Test exacto de Fisher, Significación: p<0,05 y p<0,01  
Fuente: Resultados del cuestionario

La evaluación del comportamiento de las variables de riesgo entre mujeres que alcanzaron el estadio de CE y aquellas que tienen VPH-AR positivo genotipado sin lesión, evidenció cuatro asociaciones significativas. El parto temprano (V de Cramer= 0,365) y el no uso de preservativo (V de Cramer= 0,328), mostraron las asociaciones más fuertes. El resto pueden observarse en la tabla 6.

**Tabla 6.** Factores de riesgo significativos en mujeres con CE y VPH-AR genotipado. Estudio caso control. Villa Clara. 2018 -2021.

Factores de riesgo	CE (n= 52)		VPH+ Genotipados (n= 30)		X <sup>2</sup> de Pearson o (*TE Fisher)		OR		V de Cramer
	N	%	N	%	Valor	Sign.	Valor	CI al 95 %	Valor
Parto temprano < 20 años	28	53,84	5	16,66	10,935	0,001	5,83	1,93 - 17,59	0,365
No preservativo	48	92,30	20	66,66	8,834	0,003	6,00	1,68 - 21,39	0,328
Uso de DIU	39	75,00	16	53,33	4,044	0,044	2,62	1,01 - 6,80	0,222
No consumo Vitaminas/Minerales	45	86,53	19	63,33	5,979	0,014	3,72	1,25 - 11,05	0,270

VPH-AR: Virus de Papiloma Humano de Alto Riesgo, \*TE: Test exacto de Fisher, Significación: p<0,05 y p<0,01  
Fuente: Resultados del cuestionario

### 2.3.2.3 Estudio de asociación multivariado de factores de riesgos

Las variables que se incluyeron en la ecuación de regresión logística binaria mostraron un porcentaje de clasificación correcto para el grupo de LIEBG de 85,5 %, para las LIEAG de 80,7 % y para el CE de 84,8 %. Los resultados se muestran en la tabla 7 y los anexos del 6 al 8.



**Tabla 7.** Modelo de regresión logística binaria del estudio caso control en mujeres con lesiones en cuello uterino en diferentes estadios. Villa Clara. 2018 - 2021.

	Diagnóstico Caso	Grupo Control	% Clasificación Correcto
LIEBG N=99	91	8	91,9
Control N=60	15	45	75,0
Porcentaje global			<b>85,5</b>
LIEAG N=54	47	7	87,0
Control N=60	15	45	75,0
Porcentaje global			<b>80,7</b>
CE N=52	45	7	86,5
Control N=60	10	50	83,3
Porcentaje global			<b>84,8</b>

LIEBG: Lesión Intraepitelial Escamosa de Bajo Grado, LIEAG: Lesión Intraepitelial de Alto Grado,  
 CE: Carcinoma epidermopide  
 Fuente: Base de datos de la investigación

En el grupo de LIEBG se analizaron ocho variables, todas quedaron incluidas en la ecuación de regresión y cinco resultaron significativas: sexualidad precoz, múltiples parejas sexuales, parto temprano, ITS previas y enfermedad benigna del cérvix (Anexo 6).

En las LIEAG, las cinco variables analizadas quedaron introducidas y resultaron todas significativas: sexualidad precoz, múltiples parejas sexuales, consumo de píldoras anticonceptivas, ITS previas y no uso de preservativo (Anexo 7).

En el CE quedaron introducidas en la ecuación las cinco variables probadas, las cuales resultaron también significativas: no uso de preservativos, parto temprano, exposición pasiva al humo de tabaco, no consumo de suplementos vitamínicos / minerales y exposición a tóxicos ambientales en el lugar de residencia (Anexo 8).

### 2.3.3 Interacciones de factores de riesgo en lesiones de cuello uterino en diferentes estadios

La evaluación del riesgo para la presencia conjunta de dos o más factores de riesgo en una misma mujer, realizada por separado para cada grupo de casos respecto a los controles mostró diversas interacciones significativas entre las variables, como reflejan los resultados de la prueba de ji cuadrado y los OR (IC) obtenidos, los que se

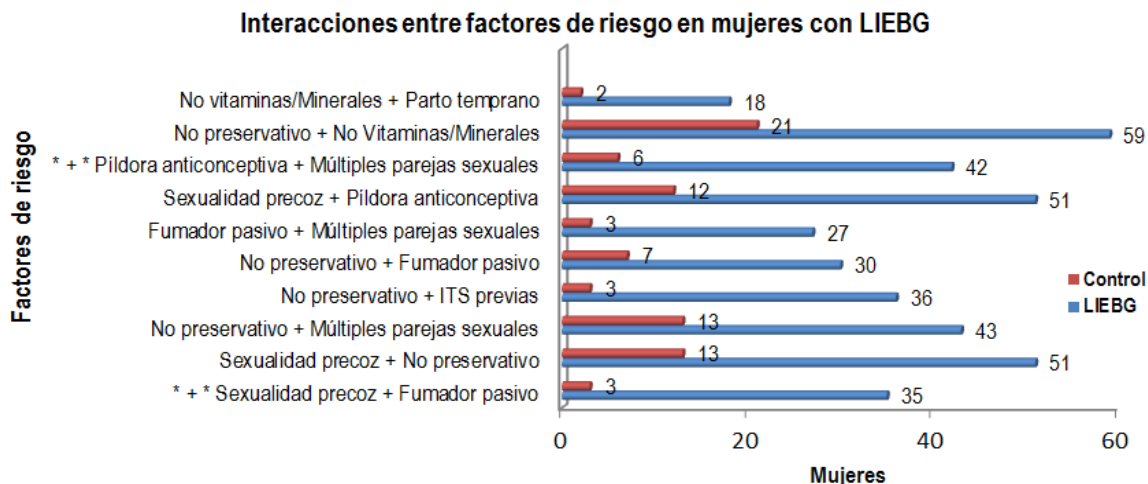
exponen en los anexos del 9 al 11. En los mismos también se muestra la comparación del OR observado en los factores de riesgo analizados de conjunto respecto al OR esperado por el modelo aditivo y multiplicativo.

El anexo 9 presenta las interacciones entre factores de riesgo en mujeres con LIEBG. Puede observarse que de todas las interacciones exploradas, 19 de ellas resultaron significativas respecto a la presentación de las mismas en las mujeres controles.

Se destacan los riesgos encontrados debido a las interacciones entre sexualidad precoz y la exposición pasiva al humo de tabaco con OR= 10,39 (IC 95 % 2,84 - 44,90), el OR resultante de la interacción de ambos factores superó el OR esperado por la adición de cada factor de riesgo individual (modelo aditivo). La sexualidad precoz junto al no uso de preservativo se presentó en el 21 % de los controles mientras que estuvo presente en el 51 % de las mujeres con LIEBG. También presentaron interacciones significativas el no uso de preservativo con múltiples parejas sexuales y con las ITS previas.

Las mujeres que consumieron píldoras anticonceptivas y tuvieron múltiples parejas sexuales se presentaron en un 10 % en los controles mientras que en los casos fue en el 42 %, el OR observado superó el esperado para un modelo aditivo. La sinergia resultante de la condición de fumador pasivo y las múltiples parejas sexuales mostró un OR= 7,13 (IC 95 % 1,92 - 31,13). El resto de las interacciones, todas significativas, pueden observarse en el anexo 9.

La figura 3 expone algunos de los factores de riesgo que resultaron significativos en el grupo de LIEBG y que presentaron los OR más elevados. Se señalan las interacciones que superaron los OR esperados para un modelo aditivo.



**Figura3.** Interacciones entre factores de riesgo en mujeres con LIEBG. Estudio caso control. Villa Clara. 2018 - 2021.

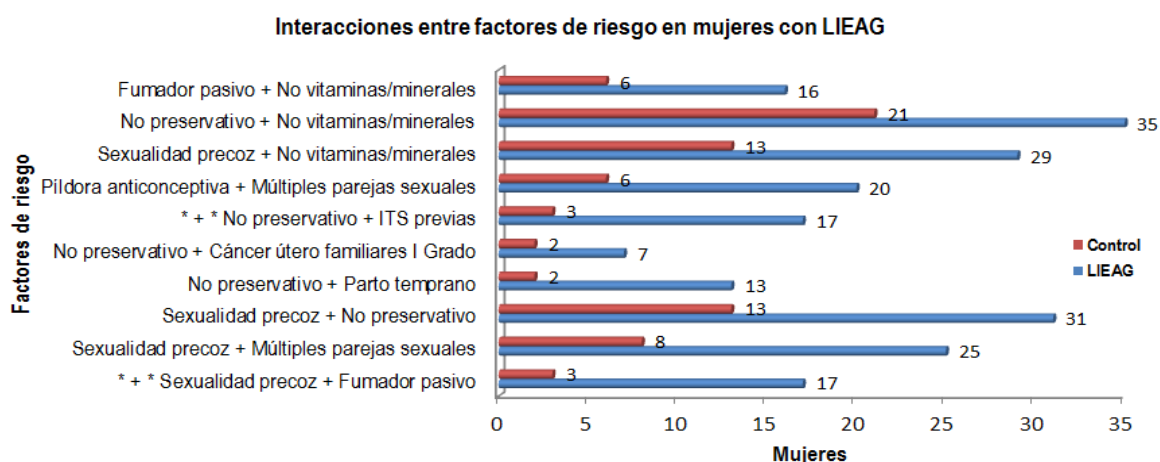
LIEBG: Lesión Intraepitelial Escamosa de Bajo Grado, ITS: Infecciones de Transmisión Sexual. \* + \*: Interacciones que superan el OR esperado en el Modelo Aditivo. LIEBGN= 99, Controles N=60.

Fuente: Base de datos de la investigación

Los resultados de las interacciones entre factores de riesgo en las LIEAG se muestran en el anexo 10. De todas las interacciones probadas, 18 resultaron significativas en este tipo de lesión respecto al grupo control.

Entre las interacciones con OR elevados se encuentran la sexualidad precoz cuando se exploró con la condición de fumador pasivo (OR= 8,73), que superó los riesgos en el modelo aditivo. De igual forma, el OR observado de la interacción entre el no uso de preservativos y las ITS previas (OR= 27,11) fue superior al OR esperado bajo el modelo aditivo (OR= 22,92). La sexualidad precoz con múltiples parejas sexuales (OR= 5,60) o con el no uso de preservativo (OR= 4,87) mostraron interacciones significativas. El no uso de preservativo con el parto temprano OR= 9,20 (IC 95 % 1,82 - 62,55) y el no consumo de píldoras anticonceptivas con múltiples parejas sexuales OR= 5,29 (IC 95 % 1,77 - 16,53) también resultaron interacciones significativas en este grupo de lesión. El resto de las interacciones significativas se exponen en el anexo 10.

La figura 4 representa algunas de las interacciones entre factores de riesgo que resultaron significativos y muestran los OR más elevados en mujeres con LIEAG.



**Figura 4.** Interacciones entre factores de riesgo en mujeres con LIEAG. Estudio caso control. Villa Clara. 2018 - 2021.

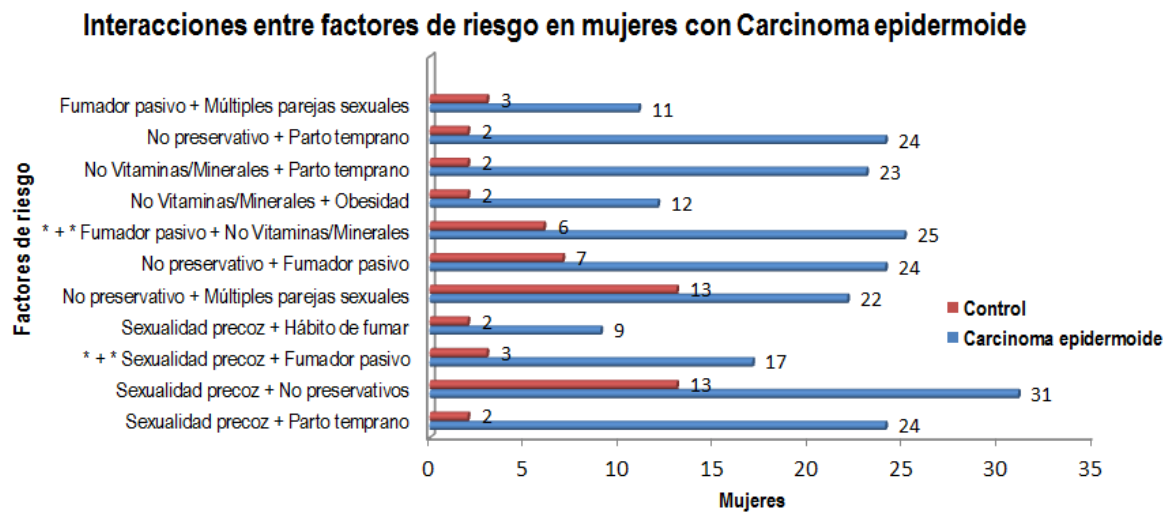
LIEAG: Lesión Intraepitelial Escamosa de Alto Grado. \* + \*: Interacciones que superan el OR esperado en el Modelo Aditivo. LIEAG N=54, Control N=60.

Fuente: Base de datos de la investigación

El anexo 11 expone los resultados de las interacciones entre factores de riesgo en el grupo de mujeres con CE. Del total de interacciones exploradas, 16 resultaron significativas.

Las interacciones encontradas entre la sexualidad precoz y la condición de fumador pasivo, así como la exposición pasiva al humo de tabaco y el no consumo de vitaminas / minerales, mostraron OR superiores a los OR esperados en el modelo aditivo. Las interacciones exploradas entre la sexualidad precoz con el parto temprano (OR= 24,86) o con el hábito de fumar (OR= 12,35) presentaron también OR elevados. Se evidenciaron riesgos debido a interacciones entre el no uso de preservativo y el parto temprano OR= 24,86 (IC 95 % 5,12 - 164,16) y entre la exposición pasiva al humo de tabaco y las múltiples parejas sexuales OR= 5,10 (IC 95 % 1,21 - 24,74). Las demás interacciones que resultaron significativas se exponen en el anexo 11.

La figura 5 muestra las interacciones entre factores de riesgo significativos que presentaron los OR más elevados en el grupo de mujeres con CE.



**Figura 5.** Interacciones entre factores de riesgo en mujeres con CE. Estudio caso control. Villa Clara. 2018 - 2021.

\* + \*: Interacciones que superan el OR esperado en el Modelo Aditivo. Carcinoma epidermoide N=52, Control N=60

Fuente: Base de datos de la investigación.

## 2.4 Discusión

### 2.4.1 Variables epidemiológicas y clínicas en las lesiones de cuello uterino

La relación entre la edad de la mujer y la aparición de lesiones en cuello uterino podría deberse a la exposición temprana y persistente al VPH-AR oncogénico. La infección por lo general ocurre durante las primeras relaciones sexuales y en aquellas mujeres con sistema inmune debilitado, las lesiones podrían progresar lentamente a estadios superiores de forma asintomática en un periodo de 10 a 15 años.<sup>88,89</sup>

El presente estudio constató que el 60 % de los casos desarrolló lesiones de bajo y alto grado entre los 31 y 49 años, lo cual concuerda con Ramos<sup>90</sup> al plantear un rango de edad entre 33 y 41 años y con lo reportado por Velázquez<sup>91</sup> en un estudio realizado en Paraguay al referir que el 70 % de las mujeres afectadas de su estudio tenían un rango de edad entre 29 y 44 años.

El grupo de mujeres con CE de este estudio mostró un promedio de edad de 55,83 años. El 70 % debutó con la enfermedad después de los 50 años, lo que podría deberse al lento progreso de la enfermedad hasta alcanzar estadios malignos. Villafuerte<sup>92</sup> refiere que a partir de los 55 años de edad se produce un segundo pico en la prevalencia del VPH debido principalmente a los cambios fisiológicos del cuello uterino, a las variaciones hormonales que ocurren después de la menopausia y al debilitamiento del sistema inmune. Estas alteraciones podrían incrementar la susceptibilidad al virus o activar infecciones latentes.

El tema cáncer y raza se aborda en la literatura científica desde diferentes perspectivas, que van desde indagaciones relacionadas a inequidades sociales hasta análisis de las diferencias debido a variabilidad genética en la frecuencia de polimorfismos de susceptibilidad o protección.<sup>49,65,93</sup> En Cuba, el color de la piel no ha sido objeto de análisis en muchas investigaciones respecto al desarrollo de lesiones en cuello uterino, debido probablemente al alto grado de mestizaje en la población cubana,<sup>94</sup> lo que hace que los análisis de la variable raza tengan naturaleza compleja. La evaluación descriptiva del comportamiento demográfico de esta variable, con la pretensión de caracterizar la muestra de estudio, realizada en esta investigación, permite plantear que la presentación de los grupos raciales fue similar al comportamiento de dichos grupos en la población de Villa Clara. Según datos del último censo de población y viviendas en Cuba (2012), el 82,5 % de la población de Villa Clara es blanca y en el municipio Santa Clara lo es el 79,5 %.<sup>95</sup>

El lugar de residencia es un aspecto importante en la incidencia de CCU. En la presente investigación predominó la zona urbana, debido a que el mayor por ciento (79 %) de mujeres estudiadas proviene de policlínicos enclavados en la ciudad. En Cuba la atención individualizada a la mujer está concebida dentro del programa de detección precoz de CCU implementado desde 1968. La cobertura del programa, tanto en la zona urbana como la rural, se sustenta en el pesquisaje de un número

creciente de mujeres con el objetivo de disminuir la mortalidad y diagnosticar la enfermedad desde etapas tempranas. Los esfuerzos del sistema de salud se han enfocado en la organización de los servicios, la infraestructura y preparación del personal. No obstante, en opinión de la autora y gracias a esta investigación se han obtenido evidencias del pobre conocimiento de la población estudiada acerca de los factores de riesgo para el desarrollo de CCU. Se constata una alta frecuencia de factores de riesgo modificables aislados en las mujeres con lesiones de cuello uterino en todos los estadios, por ejemplo: no uso de preservativos (72,7 %), la sexualidad precoz (71,7 %), las múltiples parejas sexuales (60,6 %), las ITS previas (56,6 %) y la exposición pasiva al humo de tabaco (45,4 %). Además, se presentó una alta frecuencia de asociación de dos factores de riesgo modificables en las mujeres con lesiones de cuello uterino en todos los estadios.

Las características geográficas, el bajo nivel cultural, los prejuicios sociales, el desconocimiento de la enfermedad, sobre todo en zonas rurales, no han logrado concientizar a toda la población sobre la importancia del pesquisaje, lo que conlleva a diagnósticos tardíos. Las tareas de promoción y prevención del CCU desde la atención primaria en la comunidad basados en la identificación de recursos, accesibilidad a los programas, disponibilidad del personal de salud e intervención educativa sobre los factores de riesgo y cambios de estilo de vida, continúan siendo un reto en el país.<sup>96</sup> No todas las regiones del mundo cuentan con amplia cobertura de atención, lo que provoca incidencias elevadas de cáncer, como las que se producen en países de Latinoamérica como Colombia, Bolivia, Chile y México. Las barreras de accesibilidad a la atención médica, debido a condiciones de índole social, cultural y económica, impiden la detección temprana del CCU.<sup>97,98</sup>

En el análisis de las variables clínicas juega un rol esencial el VPH, se considera la principal ITS pues infecta alrededor del 75 % de las mujeres durante su etapa sexual activa. A pesar que pocas mujeres enferman, se ha demostrado que el VPH es el

principal agente etiológico de las lesiones en cuello uterino. Las LIEBG se presentan con mayor frecuencia en mujeres jóvenes durante sus primeras relaciones sexuales, que en su mayoría remiten solas, debido probablemente a que la infección es producida por tipos de VPH-BR.<sup>99,100</sup>

En organismos inmuno-competentes el 60 % de las lesiones que produce el VPH y las NIC I se resuelven en 24 - 36 meses, solo el 15 % desarrolla lesiones de mayor grado, en tres o cuatro años, y de este grupo entre el 30 y 70 % progresan en unos diez años hacia el cáncer invasor. La infección persistente empeora gradualmente la lesión, permite la integración del virus y el progreso de la enfermedad a través de un proceso continuo. El periodo promedio de tránsito de una displasia leve (NIC I) hasta el CIS es de alrededor de cinco años, de una NIC II de unos tres años, mientras que de una NIC III es solo de un año.<sup>100-102</sup>

Cárdenas<sup>103</sup> en su estudio mostró evidencias del VPH en el 33,6 % de las biopsias de cérvix, mientras que el 66,4 % no presentó y refirió que en el desarrollo de lesiones pudo haber influido una amplia gama de factores de riesgo de otra naturaleza, aislados o en combinación. En el estudio que se presenta, gracias a la experiencia de especialistas patólogos, el 45,45 % de las biopsias de mujeres con LIEBG sugieren presencia de VPH por hallazgos de coilocitos, que a pesar de no ser confirmados podrían resultar virus de bajo riesgo oncogénico y remitir de manera espontánea. No se dispuso del genotipado del VPH en el 100 % de los casos y los controles, debido a que las pruebas diagnósticas del virus aún no están contempladas dentro del programa de detección precoz del CCU en Cuba, solo se realizan estudios en pequeñas poblaciones con fines investigativos.

El carcinoma cervical se origina en la unión escamo-columnar ya sea en el canal endocervical o en la porción cérvico-uterina. La lesión precursora es la NIC o CIS, que por un proceso lento puede convertirse en cáncer invasor. En cuanto a las variantes histológicas el carcinoma escamocelular (epidermoide) comprende



aproximadamente el 90 % de los cánceres cervicales. La mayoría de los carcinomas escamocelulares aparecen como redes infiltrantes de bandas de células neoplásicas separadas por estroma, las células malignas pueden subdividirse en dos tipos, queratinizantes y no queratinizantes. Los tumores pueden ser carcinomas bien diferenciados, moderadamente diferenciados o mal diferenciados.<sup>81,82,104</sup>

#### 2.4.2 Factores de riesgo con probable asociación a las lesiones de cuello uterino

El VPH es el agente causal de más del 90 % de las lesiones en cuello uterino. Sin embargo, no todas las mujeres que adquieren el virus desarrollan la lesión, lo que hace pensar que factores ambientales, genéticos, de estilos de vida y comportamiento sexual, podrían contribuir al desarrollo de lesiones premalignas y malignas del cérvix.

Uno de los factores de riesgo encontrados en los tres grupos de mujeres de este estudio, fue la exposición activa o pasiva al humo de tabaco. En el grupo de LIEBG el 45 % de las mujeres resultaron fumadoras pasivas, mientras que en las LIEAG y CE al menos el 37 % de las mujeres eran fumadoras pasivas y el 26 % consumían de forma activa. La exposición al humo de tabaco y a sus productos de degradación (nicotina, cotidina, hidrocarburos aromáticos, nitrosaminas y otros mutágenos) induce cambios mitóticos en las células cervicales e interfieren en las glándulas productoras de moco cervical, lo que conlleva a consecuencias nocivas sobre el epitelio, afecta la vigilancia inmunológica local y propicia la integración del VPH. Lo anterior puede explicar el comportamiento de esta variable como factor de riesgo cuando se analizaron las mujeres con VPH-AR genotipado respecto a los controles.<sup>105,106</sup>

Medina Cruz<sup>7</sup> en su artículo refirió que el moco cervical de fumadoras contiene tres veces los niveles de 4-(metilnitrosamino)-1-(3-piridil)-1-butanona respecto a las no fumadoras, compuesto tóxico derivado del tabaco que llega a las células epiteliales cervicales a través de la sangre. El propio autor refirió que en líneas celulares cervicales con genomas episomales de VPH expuestos al humo de tabaco se

observó mayor expresión del oncogén *E6* y *E7*, lo que sugiere un papel importante en la modulación del VPH para el desarrollo de CCU.

El consumo de alcohol fue un factor que mostró asociación en este estudio. Aunque el número de consumidoras no fue alto (18 % de las mujeres con LIEBG y 15 % en el grupo con CE) se observó un incremento de cinco veces el riesgo en las LIEBG y seis veces en el grupo de CE. A pesar que el consumo de bebidas alcohólicas podría considerarse un factor importante para el desarrollo del cáncer cervical, se requieren otros estudios con una mayor casuística para corroborar los resultados.

La información sobre las consecuencias del alcohol en el desarrollo de lesiones en cuello uterino es limitada, pero se ha referido que el alcohol puede afectar la descomposición de la hormona estrógeno, lo que produce un incremento de sus niveles en sangre.<sup>107</sup> Este aumento constituye un riesgo para los cánceres de mama, ovarios y útero. Ramachandral<sup>108</sup> en una extensa revisión acotó que los estrógenos podrían activar los oncogenes virales, lo que conlleva a un incremento de la persistencia del virus y expresión de los genes. De esta forma, el uso de estrógenos en mujeres con infección por VPH persistente podría actuar sinérgicamente, provocar proliferación celular descontrolada y promover la transformación maligna.

La presencia de ITS previas en los tres grupos de lesión estudiados constituye un factor de riesgo importante. Se observó que el 56 % de las mujeres con LIEBG, el 40 % con LIEAG y el 30 % con CE, tuvo una infección vaginal en los últimos dos años. Las mayores frecuencias fueron de *Chlamydia*, *Gardenella* y Herpes vaginal, patógenos que podrían concomitar con la infección por VPH y provocar displasias. Las ITS pueden ser la causa primaria de inflamación en las células epiteliales (cervicitis), lo que propicia la entrada del VPH. La prolongada persistencia del virus provoca ulceración del epitelio e incremento de RL, que reduce la inmunidad mediada por las células del huésped para resolver la infección.<sup>84,89,90</sup> Se ha descrito que las células epiteliales columnares son objetivos para la infección por *Chlamydia*

*trachomatis* y *Neisseria gonorrhoeae*, mientras que la zona de transformación es ideal para la infección por VPH, ya que requiere de la replicación de la célula huésped y la diferenciación para su replicación.<sup>90,109</sup>

La deficiencia en el consumo de vitaminas / minerales encontrado en el 86 % de las mujeres con CE, es un factor que pudiera estar relacionado con el sistema inmunológico y con el desbalance oxidativo que provoca el aporte incompleto. Autores refieren que la suplementación con vitaminas antioxidantes no impide el progreso del cáncer, no obstante en opinión de la autora, incorporar vitaminas y minerales como los flavonoides, folatos y vitaminas A, C, D y E, podría reforzar el sistema inmunológico y reducir el riesgo de infección por VPH.

Estudios previos han demostrado que el consumo de frutas y verduras que contienen vitamina A y retinol, contribuyen a disminuir la carga viral del VPH y el progreso a NIC.<sup>110</sup> La vitamina C participa en reacciones de hidroxilación donde se involucra el oxígeno molecular, nitratos, inhibe la carcinogénesis y reduce el daño en los cromosomas de las células.<sup>111</sup> En contraste, la vitamina E y el licopeno, pueden tener mayor efecto en la prevención de la displasia tardía (NIC II y NIC III). Se ha descrito que las vitaminas A, C, D y E contribuyen en la inhibición de células tumorales, estabilizan la proteína p53, previenen el daño al ADN celular y reducen la inmunosupresión.<sup>112</sup>

Se ha demostrado que el sobrepeso u obesidad aumenta el riesgo de contraer ciertos tipos de cáncer, así como que reaparezcan después del tratamiento. El presente estudio constató que el 16 % de las mujeres con LIEAG y el 23 % de las diagnosticadas con CE eran obesas, cuya condición se asoció al desarrollo de estas lesiones y aumentó entre cinco y ocho veces el riesgo, respectivamente. El CCU está muy relacionado con un alto índice de masa corporal (IMC) y se calcula que alrededor de un tercio de los casos se debe a esta condición. Autores han referido que el exceso de peso aumenta los niveles de las hormonas insulina, factor de crecimiento

insulínico 1 (Insulin Growth Factor-1, IGF-1) y estrógenos, lo que puede contribuir al desarrollo del cáncer debido a la inflamación crónica frecuente en personas obesas que tienen más grasa abdominal. Esto podría deberse a que los adipocitos desregulan el crecimiento celular normal y promueven el crecimiento de células cancerosas.<sup>113,114</sup>

A pesar de no estar ampliamente descrito en la literatura la asociación entre los contaminantes ambientales y el CCU, la exposición a agentes químicos tóxicos de forma directa e indirecta podrían conllevar a un riesgo incrementado de carcinogénesis.<sup>115</sup> El 50 % de las mujeres con CE estudiadas estuvo expuesta a contaminantes ambientales en zona de residencia, lo que incrementó cuatro veces el riesgo en este tipo de lesión. La manipulación de pesticidas, alimentos tratados químicamente o la polución ambiental, podrían disminuir la función de enzimas detoxificadoras, provocar EO y afectar la mucosa cervical. La exposición por varios años puede tener un efecto biológico en la progresión de las lesiones pre-neoplásicas del epitelio cervical e inducir la acumulación de daño genético a manera de aberraciones cromosómicas y mutaciones, que podrían favorecer la aparición de NIC.<sup>115-117</sup>

La sexualidad precoz y las múltiples parejas sexuales son factores de riesgo estrechamente vinculados al desarrollo de lesiones en cérvix.<sup>118</sup> Ambos factores de riesgo se observaron en los tres tipos de lesiones estudiadas, al menos el 65 % de las mujeres de cada grupo inició las relaciones sexuales antes de los 18 años. Por otra parte, el 60 % de las mujeres con LIE de bajo y alto grado y el 44 % del grupo de CE tuvieron cuatro o más parejas sexuales, lo que propició un incremento entre tres y cinco veces el riesgo a enfermar. Estos factores también se presentaron en el 66 % de las mujeres con VPH-AR respecto a mujeres sanas, lo que revela que el comportamiento sexual de riesgo es la puerta de entrada del virus y en dependencia de su genotipo, carga y persistencia, se desarrollará la lesión.

El inicio de las relaciones sexuales en la adolescencia temprana por lo general conlleva al frecuente cambio de parejas, lo que incrementa las probabilidades de adquirir una enfermedad ginecológica inflamatoria o ITS.<sup>88</sup> Durante la pubertad, los tejidos cérvico-vaginales son susceptibles a agentes cancerígenos ya que la zona de transformación está en su fase proliferativa y se encuentra evertida hacia el exocérvix, lo que permite la exposición e integración del VPH en las células epiteliales. Si la mujer está expuesta por tiempo prolongado al semen de múltiples parejas infectadas con el virus, el riesgo se incrementa.<sup>106,118,119</sup>

Aunque no se cuenta con registros sobre el comportamiento sexual masculino, se ha demostrado que la actitud promiscua del hombre incrementa el riesgo para que sus parejas desarrollen CCU.<sup>81</sup> El hombre con múltiples parejas sexuales puede infectarse con VPH, transmitir el virus y en ocasiones desarrollar cáncer de pene lo que constituye también riesgo.<sup>119</sup> El comportamiento sexual no solo atañe a la mujer, es responsabilidad de ambos miembros de la pareja.

El parto temprano es un factor de riesgo observado en los tres grupos estudiados. En las mujeres con lesiones de bajo y alto grado, se presentó al menos en el 23 %, lo que triplicó el riesgo en estos casos; mientras se observó que el 53 % de las mujeres con CE tuvieron su primer hijo antes de los 20 años, lo que incrementó diez veces el riesgo. Este hecho, por lo general, es precedido por el comienzo precoz de las relaciones sexuales, lo que podría ser otro factor de riesgo para el desarrollo de lesiones en cuello uterino. Los cambios hormonales, la inmunosupresión que experimenta la mujer durante el embarazo y los daños que sufre el endotelio cervical, pueden facilitar la infección por VPH debido a que el epitelio está en fase de transición y es más vulnerable a los agentes carcinógenos.<sup>120,121</sup>

La multiparidad se presentó en el 30 % de las mujeres con CE lo que evidenció una asociación importante e incremento del riesgo. Los traumas obstétricos (desgarros, heridas e infecciones del cuello uterino) que pueden ocurrir durante el parto

transpelviano, influyen en el proceso de reepitelización y en ocasiones producen atipias celulares. Además, la prolongada inmunosupresión que cada gestación genera en el organismo femenino puede influir en la aparición de infecciones. La mayor eversión del cuello y en consecuencia la mayor exposición de la zona de transformación permite la integración del VPH.<sup>120,121</sup>

Las enfermedades benignas del cérvix se presentaron en alrededor del 30 % de las LIE de bajo y alto grado, lo que incrementó dos y tres veces el riesgo en cada lesión, respectivamente. Este factor también fue observado en el 36 % de las mujeres con VPH-AR lo que triplicó el riesgo en este grupo. Los desgarros producidos en los partos, la cervicitis provocada por ITS y la ectopia observada en la colposcopia, fueron las alteraciones que predominaron. En opinión de la autora las lesiones que se producen en el cérvix, por erosiones, desgarros o infecciones vulneran el epitelio cervical y facilitan la infección por VPH. Los resultados concuerdan con autores que plantean que las mujeres que han sufrido laceraciones en el cuello uterino, partos por vía vaginal o antecedentes de episiotomía en el primer año después del inicio de la vida sexual, son más propensas a desarrollar CCU.<sup>122,123</sup>

No usar preservativos durante las relaciones sexuales es otro factor que contribuye al desarrollo de lesiones. En este estudio, alrededor del 70 % de las mujeres con LIE de bajo y alto grado no usó condón, lo que duplicó el riesgo de enfermar. El 92 % de las mujeres con CE tampoco usó preservativo, lo que incrementó nueve veces el riesgo en este tipo de lesión. Las asociaciones encontradas confirman que no usar preservativos es un factor esencial para la adquisición de VPH u otras ITS lo que influye directamente en las alteraciones epiteliales.<sup>122,123</sup> Skorstengaard<sup>124</sup> ha planteado tres ventajas fundamentales del uso del condón: 1) confiere protección en la reducción de la infección y reinfección por VPH, que permite al sistema inmunitario reparar la lesión cervical; 2) evita el efecto inmunosupresor del semen lo que ayuda a la respuesta inmune celular y, 3) el látex de los condones es un material ajeno al

cuerpo que puede desencadenar la respuesta inmune celular y contribuir a la regresión de una lesión.

El consumo de píldoras anticonceptivas por largos periodos ha significado aumento del riesgo de CCU respecto a mujeres que no lo usan. El presente estudio constató asociación de este factor en las mujeres con LIEAG. Esto podría ocurrir por los niveles de estrógenos y progestinas debido al consumo, que se asocian a la expresión de algunos genes de VPH, lo que estimula la proliferación de células en el cérvix mediante elementos de respuesta hormonal en el genoma viral, y a mecanismos mediados por receptores. Se ha descrito que consumir píldoras diez años o más incrementa hasta cinco veces el riesgo, no obstante se ha planteado que discontinuar el consumo disminuye el riesgo de enfermar.<sup>125-127</sup>

Desde el punto de vista genético se ha referido que aquellas personas con antecedentes familiares de cáncer de cualquier localización tienen riesgo de desarrollar cáncer, pero si éste se presenta en familiares de primer o segundo grado de parentesco, el riesgo se incrementa. El hallazgo de antecedentes de CCU en familiares de primer grado de parentesco en este estudio se presentó en los tres tipos de lesiones, en el 25,2 % de las mujeres con LIEBG, en el 27,7 % de las LIEAG y en el 28,8 % en las mujeres con carcinoma, lo que evidenció asociación en todos los grupos e incremento de casi tres veces el riesgo. La asociación puede deberse a la mayor cantidad de genes que comparten los familiares de primer grado, que podría traer consigo la herencia de combinaciones de genes que conllevan a un compromiso de la respuesta inmune del organismo ante la infección por VPH.<sup>128</sup>

Chuco Arauzo<sup>129</sup> refirió que los antecedentes familiares de CCU por VPH pueden presentarse con mayor frecuencia en algunas familias. Si su madre o hermana tuvieron CCU, sus probabilidades de padecer esta enfermedad aumentan de dos a tres veces en comparación con las que no tienen esos antecedentes. Esta tendencia familiar es causada por una condición hereditaria que hace que algunas mujeres sean

menos capaces de luchar contra la infección por VPH que otras. Por otra parte, Blanco<sup>130</sup> ha descrito también como factor genético, el déficit de alfa 1 antitripsina, el cual tiene efecto protector sobre el epitelio del cuello uterino; hecho que fue constatado por Buenfil<sup>131</sup> al encontrar polimorfismos de alfa 1 antitripsina en pacientes en estadios II y III del CCU respecto a controles.

En el análisis multivariado los factores de riesgo que quedaron incluidos en la ecuación de regresión logística binaria, predicen el posible comportamiento de las mujeres cuando las variables de riesgo presentes se analizan en conjunto. Esto evidencia el papel de varios factores de riesgo que actúan de manera simultánea, lo que constituye un aporte al conocimiento de la relación entre factores de riesgo involucrados en el desarrollo de las lesiones premalignas y malignas de cérvix.

El porcentaje de clasificación correcto esperado para considerar una buena predicción debe superar al menos el 75 % de los casos.<sup>132</sup> En este estudio se observó un buen porcentaje global de clasificación correcto, que superó el 80 % en cada grupo de lesión, todas las variables probadas se incluyeron en la ecuación y varias resultaron significativas. La sexualidad precoz, las múltiples parejas sexuales y las ITS previas, se introdujeron en la ecuación y se identificaron como riesgo, lo que coincide con los resultados significativos obtenidos en el análisis bivariado en las lesiones de bajo y alto grado. La implicación de estos factores en el desarrollo del CCU ha sido referida por varios autores y se ha descrito la correlación de los mismos en la adquisición y persistencia del VPH.<sup>121,123</sup> Todos los factores de riesgo que resultaron significativos en el análisis multivariado, presentan credibilidad biológica y consistencia en la literatura, lo que fue descrito en el acápite anterior.

#### 2.4.3 Interacciones entre factores de riesgo en lesiones de cuello uterino

Las interacciones entre factores de riesgos en los distintos tipos de lesiones del presente estudio, refuerzan el hecho de que al confluir dos o más factores se incrementa el riesgo de desarrollar lesiones en cérvix.



En el presente estudio se comprobó interacciones entre el consumo de píldoras anticonceptivas y la sexualidad precoz, el no uso de preservativos y el parto temprano, lo que incrementó el riesgo de desarrollar neoplasias de leves a severas hasta llegar al cáncer invasor. De igual modo se observó que en las pacientes que no usaron preservativo y tuvieron relación sexual precoz o ITS previas, aumentó el riesgo de NIC de bajo y alto grado. Mientras, en las mujeres con CE que no usaron preservativos y que tuvieron parto temprano o multiparidad, tenían mayor riesgo de enfermar. Autores como Palma Osorio y Zhang entre otros han encontrado múltiples interacciones.<sup>133-135</sup>

Los desórdenes multifactoriales, tienen como base la interacción compleja entre factores genéticos y ambientales, que se explican por el papel de muchos genes y polimorfismos que pueden proporcionar susceptibilidad y predisposición al cáncer, bien de forma directa o por la acción de factores ambientales desencadenantes.<sup>134,136</sup>

En tal sentido se ha planteado que la interacción entre factores de riesgos genéticos y ambientales o de los riesgos ambientales entre sí, podrían tener diferentes mecanismos de acción. Al respecto existen hipótesis que plantean la acción de los factores de riesgo donde cada componente del riesgo actúa de manera aditiva sobre la presencia del fenotipo final; otras refieren que los riesgos multiplican sus efectos sobre la aparición del fenotipo final. Así algunos de los OR conjuntos encontrados en este estudio sobrepasan los OR individuales por la adición o multiplicación de sus OR.<sup>84,134-137</sup>

## 2.5 Conclusiones parciales del capítulo

1. Los factores de riesgo identificados en las mujeres estudiadas con lesiones de cuello uterino resultan coincidentes en una proporción elevada para los tres tipos de lesiones.
2. Las mujeres con VPH-AR genotipado sin lesiones diagnosticadas evidencian factores de riesgo desde estadios tempranos de la enfermedad.

3. La ecuación de regresión lineal muestra un buen porcentaje global de clasificación correcta en los tres tipos de lesiones, indicativo de la fortaleza de la asociación de las variables introducidas con cada tipo de lesión y elevada coincidencia con las variables significativas del análisis bivariado.
4. El importante número de interacciones entre los factores de riesgo ambientales entre si y de factores ambientales con genéticos en las mujeres con lesiones en cuello uterino en diferentes estadios, es un elemento a favor del papel de la potenciación de los riesgos en el inicio y desarrollo de las lesiones de cuello uterino.

## **CAPÍTULO 3. INDICADORES BIOQUÍMICOS DE ESTRÉS OXIDATIVO EN MUJERES CON LESIONES EN CUELLO UTERINO EN DIFERENTES ESTADIOS**

El desbalance oxidativo que producen las EROs debido a infecciones, condiciones ambientales y estilos de vida desfavorables, podrían ser un cofactor importante en la carcinogénesis cervical.<sup>138</sup>

### **3.1 Objetivos parciales:**

- 1- Determinar indicadores de estrés oxidativo en mujeres con lesiones premalignas y malignas en cuello uterino respecto a los controles.
- 2- Comparar indicadores de estrés oxidativo en mujeres con presencia de VPH-AR respecto a los controles y a mujeres con CE.
- 3- Analizar el comportamiento de indicadores de estrés oxidativo en mujeres con distintos factores de riesgo.

### **3.2 Diseño metodológico para los estudios de indicadores bioquímicos de estrés oxidativo**

#### **3.2.1 Muestra**

Se estudiaron 99 mujeres con LIEBG, 54 con LIEAG y 52 con CE, respecto a 60 mujeres controles.

En el estudio de indicadores de EO en mujeres con VPH las muestras a contrastar fueron: 30 mujeres con VPH-AR genotipados respecto a 60 mujeres controles y 52 mujeres con CE respecto a 30 mujeres con VPH-AR genotipados.

#### **3.2.2 Variables de estudio y su operacionalización**

Las variables de EO analizadas se exponen en el anexo 12 y comprendieron: las enzimas SOD y CAT, el GSH, el MDA, los PAOP y las Proteínas Totales.<sup>139-144</sup>

### Obtención de muestras biológicas

Se realizó una extracción de 5 mL de sangre con jeringuilla desechable estéril, mediante venopunción, que se dispuso en tubo colector con anticoagulante Etilen-diamino-tetra-acético (EDTA) al 5,6 % y se procedió a la centrifugación a 3 000 rpm durante diez minutos. El plasma obtenido se utilizó para los estudios bioquímicos de EO. Se comprobó que las muestras quedaran libres de interferentes analíticos (hemólisis, lipemia o íctero). La obtención de la muestra fue realizada por la autora del estudio lo cual evitó recogida incompleta, deficiencias en la extracción, conservación y transporte de las mismas.

#### 3.2.4 Métodos para los estudios analíticos de estrés oxidativo

##### 3.2.4.1 Procedimientos analíticos

Las determinaciones analíticas se realizaron en el laboratorio de Química Sanguínea, mediante espectrofotómetro Genesys 10 UV<sup>®</sup> de la Thermo Electron Corporation USA, con reactivos provenientes de las firmas Merck KGaA 64271 Damstadt Germany y HELFA Diagnósticos<sup>®</sup> Cuba.

Se tuvo en cuenta el control de calidad requerido para las determinaciones bioquímicas. Las mediciones se realizaron siempre por duplicado y por el mismo analista; los resultados obtenidos fueron evaluados por el equipo de investigación.

#### Niveles de actividad enzimática Superóxido dismutasa (SOD)

La actividad SOD se realizó mediante el método cinético descrito por Marklund en 1990,<sup>139</sup> el cual se basa en la auto-oxidación del compuesto aromático Pirogalol o ácido Pirogálico (C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>O<sub>3</sub>) en soluciones aerobias catalizada por el O<sub>2</sub><sup>-</sup>. Esta reacción da lugar a la purpurogalina, compuesto amarillo marrón que absorbe la luz a una longitud de onda de 420 nm. Este proceso resulta inhibido por la actividad SOD, y el grado de inhibición es utilizado para evaluar la actividad de la enzima presente en la muestra. La actividad de la enzima se calculó mediante el empleo de ecuaciones

matemáticas en el programa Excel. Se tuvieron en cuenta las condiciones de la reacción y se informó en Unidades de Actividad Enzimática Específica (U/mg).

#### Niveles de actividad enzimática Catalasa (CAT)

La actividad CAT se realizó por el método descrito por Aebi en 1974,<sup>140</sup> el cual consiste en la capacidad de esta oxidorreductasa de descomponer el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a agua y oxígeno. Esta reacción es de primer orden y la cantidad de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> como sustrato descompuesto es directamente proporcional a la concentración de la enzima. Se siguió la variación de absorbancia que tuvo lugar durante la descomposición del sustrato a una longitud de onda de 240 nm. La actividad de la enzima se calculó mediante el programa Excel, que consideró en las ecuaciones matemáticas las condiciones específicas de la técnica. Se informó en U/mg.

#### Concentración de Glutación (GSH)

El GSH se determinó por el método descrito por Sedlak en 1968,<sup>141</sup> que se basa en la reacción de la muestra de plasma desproteinizada con el reactivo de Ellman [5,5'-Dithiobis (2-ácido nitrobenzoico) (DTNB)] el cual rindió un compuesto coloreado [ácido 5-tio-2-nitrobenzoico (TNB)] que absorbió la luz a 412 nm. La concentración de GSH se cuantificó mediante una curva patrón y se calculó en Excel. Los valores se expresaron en  $\mu\text{M}$ .

#### Concentración de Malonildialdehído (MDA)

La determinación de MDA se realizó a partir del método descrito por Esterbauer en 1990,<sup>142</sup> basado en la reacción de dos moléculas del reactivo cromogénico N-metil-2-fenil indol con una molécula de MDA a 45 °C, que conduce a la formación de un cromóforo estable con un máximo de absorbancia a 586 nm. La concentración de MDA se cuantificó mediante una curva patrón de 1, 1, 3, 3-tetramethoxypropan [Malonaldehyde bis (dimethyl acetal)]. Los valores se expresaron en  $\mu\text{M}$ .

### Concentración de Productos Avanzados de la Oxidación de Proteínas (PAOP)

La determinación de PAOP se realizó mediante el método de Witko-Sarsat descrito en 1998,<sup>143</sup> basado en la susceptibilidad de las proteínas al daño por RL, lo que da lugar mediante reacciones de agregación, entrecruzamiento y fragmentación a los PAOP. La concentración de estos fue expresada como equivalentes de Cloramina T (patrón) en condiciones ácidas a 340 nm en presencia de yoduro de potasio, siguiéndose la transformación de los iones yodo a yodo diatómico que provocan estos PAOP. Los cálculos tuvieron en cuenta la curva patrón y los valores se expresaron en  $\mu\text{M}/\text{mg}$  de proteínas.

### Concentración de Proteínas totales

La concentración de proteínas totales se utilizó para el cálculo de las actividades enzimáticas específicas de SOD y CAT y para los niveles de PAOP. La técnica se realizó por el método de Lowry descrito en 1951,<sup>144</sup> basado en la reacción del reactivo Folin-Ciocalteu con fenoles, tales como la tirosina en las proteínas. La concentración se calculó mediante curva patrón de albúmina bovina y el intervalo de referencia fue de 60 - 80 g/L.

#### 3.2.5 Metodología para el análisis de indicadores de estrés oxidativo

##### 3.2.5.1 Metodología para el análisis de indicadores de estrés oxidativo en lesiones premalignas y malignas de cuello uterino

Se realizaron comparaciones para evaluar los niveles de actividad enzimática SOD y CAT, así como las concentraciones de GSH, MDA y PAOP entre LIEBG - controles, LIEAG - controles, CE - controles y entre grupos de casos.

##### 3.2.5.2 Metodología para el análisis de los indicadores de estrés oxidativo en mujeres con VPH

Los indicadores de EO fueron comparados entre el grupo de mujeres con VPH-AR según genotipado con el grupo control y con mujeres con CE.

### 3.2.5.3 Metodología para el análisis de los indicadores de estrés oxidativo en mujeres con lesiones en cuello uterino y factores de riesgo presente

Se compararon los indicadores de EO en mujeres con distintos grados de lesión en cuello uterino que presentaban factores de riesgo. Se tuvieron en cuenta factores de riesgo que resultaron significativos, que tuvieran credibilidad biológica, consistencia en la literatura y que estuvieran presentes al menos en diez mujeres en cada grupo a comparar. De acuerdo a los requisitos pre-establecidos se analizaron cuatro factores de riesgo: consumo de píldoras anticonceptivas, exposición a tóxicos ambientales, exposición pasiva al humo de tabaco y no consumo de vitaminas / minerales.

#### Análisis estadístico

El procesamiento estadístico de los datos obtenidos sobre indicadores bioquímicos de EO, se realizó mediante el programa SPSS versión 20. Se aplicó el test Kolmogorov Smirnov para comprobar la normalidad de los datos, como no mostraron distribución gaussiana, las comparaciones se realizaron por medio de pruebas no paramétricas, específicamente el Test U de Mann-Whitney, con un nivel de confianza del 95 y 99 % ( $p < 0,05$  y  $p < 0,01$ ). El análisis entre grupos de casos se realizó con el test de homogeneidad Kruskal Wallis para muestras independientes, con un nivel de confianza del 95 % ( $p < 0,05$ ). Al comprobar que existía homogeneidad de los datos, no se realizó el análisis de contrastes por parejas (Dunn Bonferroni).

## 3.3 Resultados

### 3.3.1 Indicadores de estrés oxidativo en casos y controles

Al establecer las comparaciones de los indicadores de EO entre mujeres con LIEBG y grupo control se constató disminución significativa de ambas enzimas antioxidantes (SOD  $p = 0,003$ ; CAT  $p = 0,024$ ) (Tabla 8).

**Tabla 8.** Indicadores de estrés oxidativo en mujeres con LIEBG en cuello uterino. Estudio caso control. Villa Clara. 2018 - 2021.

Variables de EO	Grupos	N	Mínimo	Máximo	Percentiles			Signif (p)
					25	50 (Mediana)	75	
<b>SOD</b> (U/mg)	LIEBG	99	0,011	0,131	0,022	0,038	0,060	0,003
	Control	60	0,023	0,087	0,041	0,052	0,063	
<b>CAT</b> (U/mg)	LIEBG	99	0,022	1,442	0,312	0,452	0,583	0,024
	Control	60	0,264	0,899	0,427	0,508	0,562	
<b>GSH</b> ( $\mu$ M)	LIEBG	99	3,660	61,820	24,062	30,495	37,405	0,056
	Control	60	12,410	85,620	22,650	33,559	47,687	
<b>MDA</b> ( $\mu$ M)	LIEBG	99	0,121	6,857	0,574	0,882	1,560	0,111
	Control	60	0,207	1,278	0,673	0,804	0,983	
<b>PAOP</b> ( $\mu$ M/mg prot)	LIEBG	99	0,284	4,023	0,451	0,871	1,367	0,058
	Control	60	0,123	2,176	0,649	0,885	1,034	

LIEBG: Lesión Intraepitelial de Bajo Grado, SOD: Superóxido dismutasa, CAT: Catalasa, GSH: Glutación reducido, MDA: Malonildialdehído, PAOP: Productos Avanzados de la Oxidación de Proteínas. Test U de Mann-Whitney, Significación:  $p < 0,05$  y  $p < 0,01$ .

Fuente: Resultados de investigación

La tabla 9 expone los resultados de los indicadores de EO en mujeres con LIEAG y controles. Se constataron diferencias en los cinco indicadores. El sistema antioxidante (SOD, CAT y GSH) disminuyó ( $p < 0,05$ ) en las mujeres enfermas, MDA ( $p = 0,002$ ) y PAOP ( $p = 0,046$ ) aumentaron sus concentraciones respecto al control.

**Tabla 9.** Indicadores de estrés oxidativo en mujeres con LIEAG en cuello uterino. Estudio caso control. Villa Clara. 2018 - 2021.

Variables de EO	Grupos	N	Mínimo	Máximo	Percentiles			Signif (p)
					25	50 (Mediana)	75	
<b>SOD</b> (U/mg)	LIEAG	54	0,012	0,110	0,018	0,034	0,052	0,0001
	Control	60	0,023	0,087	0,041	0,052	0,063	
<b>CAT</b> (U/mg)	LIEAG	54	0,044	1,067	0,269	0,366	0,500	0,0001
	Control	60	0,264	0,899	0,427	0,508	0,562	
<b>GSH</b> ( $\mu$ M)	LIEAG	54	11,120	75,620	22,200	29,110	35,757	0,024
	Control	60	12,410	85,620	22,650	33,559	47,687	
<b>MDA</b> ( $\mu$ M)	LIEAG	54	0,054	6,041	0,630	1,072	2,364	0,002
	Control	60	0,207	1,278	0,673	0,804	0,983	
<b>PAOP</b> ( $\mu$ M/mg prot)	LIEAG	54	0,101	11,959	0,680	1,028	1,616	0,046
	Control	60	0,123	2,176	0,649	0,885	1,034	

LIEAG: Lesión Intraepitelial de Alto Grado, SOD: Superóxido dismutasa, CAT: Catalasa, GSH: Glutación reducido, MDA: Malonildialdehído, PAOP: Productos Avanzados de la Oxidación de Proteínas. Test U de Mann-Whitney, Significación:  $p < 0,05$  y  $p < 0,01$ .

Fuente: Resultados de investigación



Al comparar los indicadores de EO en el grupo de mujeres con CE respecto al control (Tabla 10), se evidenció una disminución de los niveles de GSH ( $p= 0,015$ ) y un aumento también significativo de los niveles de MDA ( $p= 0,003$ ) y PAOP ( $p= 0,015$ ).

**Tabla 10.** Indicadores de estrés oxidativo en mujeres con CE en cuello uterino. Estudio caso control. Villa Clara. 2018 - 2021.

Variables de EO	Grupos	N	Mínimo	Máximo	Percentiles			Signif (p)
					25	50 (Mediana)	75	
<b>SOD</b> (U/mg)	CE	52	0,004	0,212	0,023	0,042	0,057	0,053
	Control	60	0,023	0,087	0,041	0,052	0,063	
<b>CAT</b> (U/mg)	CE	52	0,023	1,984	0,303	0,433	0,675	0,119
	Control	60	0,264	0,899	0,427	0,508	0,562	
<b>GSH</b> ( $\mu$ M)	CE	52	9,920	51,870	21,160	29,015	37,810	0,015
	Control	60	12,410	85,620	22,650	33,559	47,687	
<b>MDA</b> ( $\mu$ M)	CE	52	0,261	3,060	0,726	0,972	1,429	0,003
	Control	60	0,207	1,278	0,673	0,804	0,983	
<b>PAOP</b> ( $\mu$ M/mg prot)	CE	52	0,538	4,278	0,856	1,236	1,601	0,015
	Control	60	0,123	2,176	0,649	0,885	1,034	

CE: Carcinoma epidermoide, SOD: Superóxido dismutasa, CAT: Catalasa, GSH: Glutación reducido, MDA: Malonildialdehído, PAOP: Productos Avanzados de la Oxidación de Proteínas. Test U de Mann-Whitney, Significación:  $p<0,05$  y  $p<0,01$ .

Fuente: Resultados de investigación

Las comparaciones efectuadas de la distribución de valores en los indicadores de EO entre grupos de mujeres con lesiones, se muestran en la tabla 11. Se observó que existía distribución homogénea de los datos en las variables analizadas ( $p>0,05$ ).

**Tabla 11.** Comportamiento de la distribución de los indicadores de estrés oxidativo entre grupos de mujeres con lesiones en cuello uterino. Estudio caso control. Villa Clara. 2018 - 2021.

Variables de EO	Mediana (Rango Inter cuartilico)			p*	Contrastes post hoc significativos
	LIEBG N= 99	LIEAG N= 54	CE N= 52		
<b>SOD</b> (U/mg)	0,038 (0,022-0,060)	0,034 (0,018-0,052)	0,042 (0,023-0,057)	0,153	
<b>CAT</b> (U/mg)	0,452 (0,312-0,583)	0,366 (0,269-0,500)	0,433 (0,303-0,675)	0,113	
<b>GSH</b> (µM)	30,495 (24,062-37,405)	29,110 (22,200-34,757)	27,155 (20,755-37,200)	0,437	
<b>MDA</b> (µM)	0,882 (0,574-1,560)	1,072 (0,630-2,364)	0,972 (0,726-1,429)	0,192	
<b>PAOP</b> (µM/mg prot)	1,029 (0,751-1,367)	1,028 (0,680-1,616)	1,236 (0,856-1,601)	0,065	

LIEBG: Lesión Intraepitelial de Bajo Grado, LIEAG: Lesión Intraepitelial de Alto Grado, CE: Carcinoma epidermoide, SOD: Superóxido dismutasa, CAT: Catalasa, GSH: Glutatión reducido, MDA: Malonildialdehído, PAOP: Productos Avanzados de la Oxidación de Proteínas.\*significación de la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis para muestras independientes (p<0,05).

Fuente: Resultados de investigación

### 3.3.2 Indicadores de estrés oxidativo en mujeres con VPH-AR

El comportamiento de los indicadores de EO en el grupo de mujeres con presencia de VPH-AR confirmado por genotipado y el grupo de mujeres utilizado como control para esta investigación, no mostró diferencias significativas (Tabla 12).

**Tabla 12.** Indicadores de estrés oxidativo entre casos de mujeres con VPH-AR y control. Estudio caso control. Villa Clara. 2018 - 2021.

Variables de EO	Grupos	N	Mínimo	Máximo	Percentiles			Signif. (p)
					25	50 (Mediana)	75	
<b>SOD</b> (U/mg)	VPH-AR	30	0,012	0,116	0,024	0,040	0,062	0,088
	Control	60	0,023	0,087	0,041	0,052	0,063	
<b>CAT</b> (U/mg)	VPH-AR	30	0,201	1,442	0,441	0,512	0,602	0,590
	Control	60	0,264	0,899	0,427	0,508	0,562	
<b>GSH</b> (µM)	VPH-AR	30	14,930	45,860	28,180	32,600	40,465	0,469
	Control	60	12,410	85,620	22,650	33,559	47,687	
<b>MDA</b> (µM)	VPH-AR	30	0,121	2,144	0,485	0,685	0,927	0,098
	Control	60	0,207	1,278	0,673	0,804	0,983	
<b>PAOP</b> (µM/mg prot)	VPH-AR	30	0,284	1,714	0,756	1,012	1,282	0,109
	Control	60	0,123	2,176	0,649	0,885	1,034	

VPH-AR: Virus de Papiloma Humano de Alto Riesgo, SOD: Superóxido dismutasa, CAT: Catalasa, GSH: Glutatión reducido, MDA: Malonildialdehído, PAOP: Productos Avanzados de la Oxidación de Proteínas. Test U de Mann-Whitney, Significación: p<0,05 y p<0,01

Fuente: Resultados de investigación

La tabla 13 muestra la comparación de los indicadores de EO entre el grupo de mujeres con CE y las mujeres con presencia de VPH-AR confirmado por genotipado (N= 30). Se observó un aumento significativo de las concentraciones de MDA ( $p= 0,002$ ) y PAOP ( $p= 0,015$ ) en las mujeres con CE, respecto a las mujeres VPH-AR sin lesión diagnosticada.

**Tabla 13.** Indicadores de estrés oxidativo entre casos con CE y VPH-AR positivo por genotipado. Estudio caso control. Villa Clara. 2018 - 2021.

Variables de EO	Grupos	No	Mínimo	Máximo	Percentiles			Signif. (p)
					25	50 (Mediana)	75	
<b>SOD</b> (U/mg)	CE	52	0,004	0,212	0,023	0,042	0,057	0,654
	VPH-AR	30	0,012	0,116	0,024	0,040	0,062	
<b>CAT</b> (U/mg)	CE	52	0,023	1,984	0,303	0,433	0,675	0,122
	VPH-AR	30	0,201	1,442	0,441	0,512	0,602	
<b>GSH</b> ( $\mu$ M)	CE	52	9,920	51,870	21,160	29,015	37,810	0,068
	VPH-AR	30	14,930	45,860	28,180	32,600	40,465	
<b>MDA</b> ( $\mu$ M)	CE	52	0,261	3,060	0,726	0,972	1,429	0,002
	VPH-AR	30	0,121	2,144	0,485	0,685	0,927	
<b>PAOP</b> ( $\mu$ M/mg prot)	CE	52	0,538	4,278	0,856	1,236	1,601	0,015
	VPH-AR	30	0,284	1,714	0,756	1,012	1,282	

CE: Carcinoma epidermoide, VPH-AR: Virus de Papiloma Humano de Alto Riesgo, SOD: Superóxido dismutasa, CAT: Catalasa, GSH: Glutatión reducido, MDA: Malonildialdehído, PAOP: Productos Avanzados de la Oxidación de Proteínas, VPH-AR: Virus de Papiloma Humano de Alto Riesgo. Test U de Mann-Whitney, Significación:  $p<0,05$  y  $p<0,01$   
Fuente: Resultados de investigación

### 3.3.3 Indicadores de estrés oxidativo en mujeres con factores de riesgo

Los resultados de las comparaciones de indicadores de EO en mujeres con diferentes tipos de lesión en cérvix y presencia de factores de riesgo respecto a mujeres controles sin exposición, se exponen en los anexos del 13 al 15.

El anexo 13 muestra los indicadores de EO en mujeres con LIEBG y factores de riesgo, respecto a mujeres controles sin exposición. En cuanto al consumo de píldoras anticonceptivas se observó disminución de los niveles de la enzima SOD ( $p= 0,042$ ) en los casos. Las mujeres con lesión expuestas a tóxicos ambientales en zona de residencia mostraron disminución de la enzima SOD ( $p= 0,018$ ) y aumento en las concentraciones de MDA ( $p= 0,007$ ) y PAOP ( $p= 0,029$ ). El no consumo de

suplementos vitamínicos/minerales arrojó en las mujeres con LIEBG disminución de la actividad de SOD ( $p= 0,004$ ). Los indicadores de EO en las mujeres afectadas con exposición pasiva al humo de tabaco, no mostraron diferencias.

El análisis de los indicadores de EO en mujeres con LIEAG con factores de riesgo ambientales respecto al grupo control sin la exposición se expone en el anexo 14. Las mujeres que consumieron píldoras anticonceptivas y se consideraron fumadoras pasivas, mostraron disminución del sistema antioxidante enzimático (SOD, CAT y GSH). La exposición a tóxicos ambientales en zona de residencia en las mujeres enfermas reveló disminución en los niveles de CAT y aumento de las concentraciones de PAOP. Los casos que no consumieron vitaminas / minerales mostraron disminución ( $p<0,01$ ) de las enzimas SOD y CAT e incremento en los niveles de MDA ( $p= 0,005$ ).

La comparación de los indicadores de EO según factores de riesgo presentes en las mujeres con CE respecto a controles no expuestos, se expone en anexo 15. Se observó en las mujeres enfermas que usaron píldoras anticonceptivas una disminución de GSH ( $p= 0,006$ ) y un incremento en las concentraciones de PAOP ( $p= 0,007$ ) respecto al control. Los casos que estuvieron expuestos a tóxicos ambientales mostraron un aumento de MDA ( $p= 0,012$ ) y PAOP ( $p<0,01$ ). En las mujeres enfermas con exposición pasiva al humo de tabaco el GSH disminuyó ( $p= 0,025$ ) y se observó un aumento con alta significación ( $p<0,01$ ) de los niveles de MDA y PAOP. En las mujeres con CE que no consumieron vitaminas / minerales se constató incremento de las concentraciones de PAOP.

### 3.4 Discusión

#### 3.4.1 Indicadores de estrés oxidativo en casos y controles

El presente estudio constató que desde estadios pre-invasivos se producen afectaciones del sistema de defensa antioxidante, lo que infiere la ocurrencia de cambios celulares y generación de ER que dañan el tejido cervical. La infección que

producen los genotipos de VPH-AR oncogénico, la persistencia e integración del virus al genoma del huésped, la incompetencia del sistema inmunológico para enfrentar la infección y la presencia de factores ambientales, podrían influir en el desequilibrio oxidativo y dañar estructuras importantes como lípidos, proteínas y ADN.<sup>145,146</sup>

En las mujeres con LIE de bajo y alto grado estudiadas se observó disminución de la actividad antioxidante de las enzimas SOD y CAT, que podría deberse al agotamiento de las enzimas durante la acción defensiva contra el potencial daño que producen las EROs. La función primordial de la SOD es la dismutación del radical  $O_2^-$ ; anión altamente tóxico y activo que aunque tiene capacidad de difusión limitada a canales específicos se considera la principal ERO que reacciona con un mayor número de moléculas para formar otras especies secundarias.<sup>57,60</sup>

Los niveles decrecientes de la enzima CAT en estadios pre-invasivos de la enfermedad podrían deberse entre otros factores a la disminución de formación de  $H_2O_2$  (sustrato de la enzima CAT) producto a una menor actividad enzimática SOD. De esta forma se afecta su función catalítica basada en la transformación del  $H_2O_2$  a  $H_2O$  y oxígeno molecular. El  $H_2O_2$  es una especie química intermediaria relacionada con los RL que resulta de la reducción o metabolismo de estos. Entre sus actividades directas se encuentran la liberación de hierro, inactivación de enzimas, así como la oxidación del ADN, lípidos y grupos sulfhidrilos (-SH). Es capaz de difundir rápidamente y resulta un candidato ideal para la señalización intracelular. La disminución de la actividad de CAT, también propicia que el  $H_2O_2$  pueda reaccionar con metales como el  $Fe^{2+}$  y  $Cu^{2+}$ , lo que favorece la reacción de Fenton donde se genera el  $OH^-$ . Este radical es considerado el más reactivo de todos y provoca daños considerables a diferentes biomoléculas.<sup>57,60</sup>

En el grupo de CE podría suponerse disminución de las enzimas antioxidantes SOD y CAT debido a su consumo durante la carcinogénesis. Sin embargo, a pesar que la actividad de estas enzimas fue menor que en los controles, las diferencias no

resultaron significativas. La carcinogénesis es un proceso complejo donde ocurren múltiples eventos bioquímicos en todas sus etapas, por lo que el estadio de la enfermedad puede ser un aspecto importante. El estudio en el grupo de mujeres que integran este tipo de lesión se realizó recién diagnosticada la enfermedad, lo que pudiera explicar que aún las enzimas antioxidantes no presentan disminución por la incipiente aparición del tumor.

Varios autores refieren adaptación de las células al ambiente tumoral,<sup>146-148</sup> lo que podría suceder en las mujeres con CE de este estudio. Cuando existe un incremento en la producción de EROs se produce una regulación positiva de enzimas antioxidantes, lo que constituye un comportamiento paradójico en el CCU y en otros tipos de tumores malignos. Mientras que la inducción de un medio oxidante puede promover la progresión del tumor, el propio sistema antioxidante permite que las células se adapten a las condiciones del microambiente tumoral. Respecto a esto, se reporta que la enzima CAT juega un rol importante en la respuesta adaptativa celular en la adquisición de tolerancia al EO, lo que ha sido descrito en las terapias anti neoplásicas.<sup>145,146</sup>

La disminución del GSH en las LIEAG y el CE podría deberse a su función como cofactor de las enzimas GPx y GST durante las reacciones de destoxificación del H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y otros compuestos electrofílicos. El GSH desempeña un papel esencial en la defensa contra los RL, peróxidos y una amplia variedad de xenobióticos y carcinógenos. Entre sus múltiples funciones está la restitución de otros antioxidantes como las vitaminas E y C a su estado reducido luego de ser oxidadas durante la eliminación de EROs. Posee una actividad antioxidante intracelular en la protección a lípidos de la membrana, por lo que se ha descrito que las células carentes de este tiol generalmente sufren daño oxidativo asociado a peroxidación lipídica y degeneración mitocondrial.<sup>149,150</sup> Los niveles elevados de MDA observados en los mismos grupos de lesiones donde el GSH disminuyó, podrían constatar la alteración redox.

La afectación del sistema antioxidante enzimático se ha observado en estudios realizados en atipias, neoplasias y cáncer cervical. Se plantea que esta afectación podría deberse a la escasez de elementos trazas tales como el Zn, el Cu, el Fe y el Mn, considerados importantes cofactores enzimáticos; a la generación de especies reactivas (ER) derivadas del NO $\cdot$  relacionadas con las células inflamatorias que actúan sobre la división de las células epiteliales vecinas, que producen mutaciones somáticas cruciales en los genes que causan cáncer y a ER implicadas en la permeabilidad vascular.<sup>147,149,150</sup>

La interacción entre EROs y lípidos produce peroxidación; proceso que disminuye la fluidez y afecta la permeabilidad de las membranas celulares, lo que podría causar degeneración de los tejidos y contribuir a la carcinogénesis cervical. Los peróxidos lipídicos formados en sitios primarios pueden ser transferidos a través de la circulación, lo que provoca daños a otros tejidos y la propagación del proceso de peroxidación lipídica. El MDA plasmático es un marcador de daño oxidativo a lípidos que se forma principalmente por la descomposición de los peróxidos provenientes de los ácidos grasos poliinsaturados. Se considera un producto altamente tóxico que promueve el tumor e induce carcinogénesis. El incremento de sus niveles en las LIEAG y CE indica que las altas concentraciones de peróxidos y el aumento del EO durante la carcinogénesis cervical podrían ocurrir desde estadios pre-invasivos.<sup>149-151</sup>

El EO en LIEAG y CE basado en la oxidación de proteínas desregula la homeostasis celular y deriva en carcinogénesis. El ataque a los grupos funcionales de las proteínas provoca oxidación de aminoácidos y modificación de su estructura por fragmentación o plegamiento anormal. El daño generado trae como consecuencia afectación de la función de proteínas, daño a los tejidos, disfunción celular, respuesta inflamatoria y apoptosis.<sup>147,149</sup> La oxidación de proteínas se debe principalmente al ataque directo de OH $\cdot$  y en menor medida al H $_2$ O $_2$ . Las proteínas oxidadas no son reparadas y deben ser eliminadas a través de mecanismos proteolíticos. Su

acumulación en las células conduce a disfunciones que pueden potenciar el trastorno homeostático, lo que se considera un sello distintivo del cáncer.<sup>147,152</sup>

En el sistema de defensa antioxidante también juegan un rol importante los genes supresores de tumores que codifican proteínas que limitan el crecimiento tumoral. La proteína p53 participa en el control del ciclo celular y a pesar de que activa la expresión de genes antioxidantes como *GPx* y la *SOD2* en respuesta al EO, se ha revelado su papel pro-oxidante en el incremento de EROs celulares debido a la elevada transcripción de genes pro-apoptóticos.

#### 3.4.2 Indicadores de estrés oxidativo en mujeres con VPH-AR

Los indicadores de EO analizados en mujeres con presencia de VPH-AR no mostraron diferencias respecto al control. El análisis se realizó en mujeres en estadios pre-invasivos de la enfermedad, sin lesión diagnosticada, lo que pudiera sugerir que el VPH no ha producido aún atipia celular, por lo que el proceso inflamatorio que desencadena la infección no ha propiciado EO sistémico. No todas las mujeres con infección por VPH-AR desarrollan malignidad, lo que está dado por el genotipo y la carga viral. Se conoce que los VPH tipos 16 y 18 son los que provocan un por ciento elevado de cáncer de cérvix. Las mujeres con VPH-AR genotipado estudiadas no presentaron los tipos 16 o 18, lo cual pudiera explicar la ausencia de signos clínicos en la citología o colposcopia y de igual forma ausencia de desbalance oxidativo como se confirmó en este estudio.

En el análisis de los indicadores de EO en el grupo de mujeres con CE se observó niveles incrementados de MDA y PAOP respecto a las mujeres con VPH-AR lo que corrobora el daño oxidativo que se produce en lípidos y proteínas en estadios avanzados de la enfermedad. El fenómeno de peroxidación lipídica y la oxidación de proteínas producen una pérdida de la función de ambas biomoléculas, que propicia un estado mantenido de transformación celular y estimula la carcinogénesis.<sup>150-152</sup>



### 3.4.3 Indicadores de estrés oxidativo en mujeres con lesiones en cuello uterino y factores de riesgo asociados

Existen factores de riesgo ambientales que contribuyen en la producción de RL y dañan de forma progresiva estructuras de la membrana celular. Las mujeres que consumieron píldoras anticonceptivas mostraron afectación del sistema de defensa antioxidante. La disminución de la actividad de las enzimas SOD en las LIE de bajo y alto grado, de CAT en las LIEAG y las concentraciones de GSH en LIEAG y CE, podría afectar la neutralización de EROs producidas por las sustancias químicas derivadas del fármaco. De igual forma, los niveles elevados de PAOP en el grupo de CE suponen desequilibrio oxidativo debido a sustancias oxidantes que en este caso pueden afectar la función de proteínas. Los anticonceptivos orales se consideran entre los medicamentos más prescritos durante la etapa sexual activa de la mujer pero no protegen de las ITS, hecho que propicia la adquisición del VPH y la formación de EROs debido al proceso inflamatorio producido en la mucosa cervical.<sup>153,154</sup>

La alteración redox observada en las mujeres que consumen píldoras anticonceptivas podría deberse a que al aumentar los niveles de estrógenos la actividad de la enzima NADPH oxidasa se puede afectar y en consecuencia disminuir la producción de  $O_2^-$  que es el sustrato de la enzima SOD. La afectación de la actividad de SOD conlleva a una disminución del  $H_2O_2$  que podría disminuir la actividad de CAT debido a la baja disponibilidad de su sustrato ( $H_2O_2$ ). La disminución del GSH podría deberse a su consumo por la enzima GPx que también utiliza como sustrato el  $H_2O_2$ .

La exposición a tóxicos ambientales en lugar de residencia se presentó en el 27 % de las mujeres con LIEBG, en el 35 % de las LIEAG y en el 44 % de las mujeres con CE respecto al 20 % en el grupo control y constató disminución de la enzima CAT en las LIEAG y aumento de MDA en las LIEBG y el CE. Se ha planteado que la inhalación o manejo de sustancias tóxicas incrementa la producción de EROs con el consecuente daño a tejidos de órganos dianas, al ADN y a moléculas lipídicas lo que desencadena

una respuesta pro-inflamatoria. La habilidad del organismo para responder se basa en sus defensas antioxidantes, antiinflamatorias y de estrés celular que va emparejado a la susceptibilidad individual.<sup>155-158</sup> La participación activa de la célula frente a una exposición xenobiótica se inicia por lo general a partir de la reducción de cationes metálicos como el hierro férrico ( $\text{Fe}^{3+}$ ) a hierro ferroso. Para ello la célula utiliza reductores como el ascorbato o NADPH oxidorreductasa, los cuales generan  $\text{O}_2^-$  que se dismuta rápido a  $\text{H}_2\text{O}_2$  ya sea espontáneamente o por la SOD. La interacción de  $\text{Fe}^{2+}$  (reacción de fenton) u  $\text{O}_2^-$  (reacción de Haber-Weiss) y el  $\text{H}_2\text{O}_2$  produce  $\text{OH}\cdot$ , uno de los oxidantes más reactivos que se conocen.

La exposición a componentes del humo de tabaco se observó en las mujeres con LIEAG las cuales presentaron disminución de las enzimas SOD y CAT, mientras que los niveles de GSH decrecieron en el grupo de CE respecto al control. El efecto cancerígeno del humo de tabaco estimula los mecanismos radicálicos llamados periféricos, es decir, la oxidación de lípidos de membranas como son los ácidos grasos insaturados y el colesterol. Esto desencadena un proceso inflamatorio, libera NO, produce grandes cantidades de superóxidos y de enzimas como la mieloperoxidasa y enzimas proteolíticas como la elastasa. En los carcinomas de células escamosas se ha descrito que los componentes del humo de tabaco inducen tumorigénesis, que primariamente forman aductos de ADN y transversiones de G - T principalmente en los genes supresores de tumor como p53. El NO y el complejo quinona - hidroquinona en fumadores, no solo provoca daño oxidativo al ADN con incremento de los niveles de 8-hydroxy-20-deoxyguanosine (8-OHdG) y peroxidación lipídica, si no que propicia una presión selectiva de la célula capaz de desregular el sistema antioxidante.<sup>133,149,155,159</sup>

La deficiencia en la suplementación con vitaminas / minerales observada en las mujeres estudiadas, aunque no fue comprobada por análisis cuantitativos, se asoció al desarrollo de lesiones en cuello uterino y al desequilibrio redox. La disminución de

la actividad de SOD en las mujeres con LIE de bajo y alto grado, de la enzima CAT en mujeres con LIEAG y el aumento de las concentraciones de MDA y PAOP en los casos con LEAG y CE respectivamente constatan este hecho. El sistema de defensa exógeno está conformado en su mayoría por las vitaminas que se adquieren por la dieta (vitaminas A, C, E y los carotenoides) de manera que deficiencias en su ingesta podría incrementar los daños que producen los RL al ADN y debilitar el sistema inmune en la respuesta a la infección por VPH. La influencia de los nutrientes sobre el CCU aún no está clara, pero se ha demostrado que su disminución contribuye al desequilibrio oxidativo y a la carcinogénesis.<sup>110,149,160</sup>

### 3.5 Conclusiones parciales

1. La distribución homogénea de los indicadores de estrés oxidativo entre los distintos grupos de lesiones en cuello uterino indica que en todas ellas existe desbalance oxidativo.
2. Los indicadores de EO en mujeres con VPH-AR sin lesión no muestran diferencias respecto al control. Mientras que en el grupo de mujeres con CE se evidencia daño oxidativo a lípidos y proteínas respecto a las mujeres con VPH-AR.
3. Los indicadores de EO en mujeres con lesiones de cuello uterino y factores de riesgo presentes evidencian diferencias significativas respecto a las mujeres controles sin la exposición.

## **CAPÍTULO 4. POLIMORFISMOS GENÉTICOS *GSTT1* Y *GSTM1* EN MUJERES CON LESIONES EN CUELLO UTERINO DE DIFERENTES ESTADIOS**

La presencia de polimorfismos genéticos en enfermedades de determinación compleja como es el cáncer originado por virus, podría explicar la susceptibilidad individual para desarrollar la enfermedad.

### **4.1 Objetivos parciales:**

- 1- Determinar la asociación genética entre los polimorfismos *GSTT1* y *GSTM1* y los distintos tipos de lesiones en cuello uterino.
- 2- Establecer interacciones gen - gen y gen - ambiente entre los polimorfismos de las isoformas *GSTT1* y *GSTM1* en las lesiones premalignas y malignas de cuello uterino.

### **4.2 Diseño metodológico**

#### **4.2.1 Muestra para el análisis de polimorfismos de la enzima glutatión S-transferasa (GST)**

El estudio de los polimorfismos en los genes *GSTT1* y *GSTM1* se realizó en el 52,83 % de la muestra. No fue posible realizarlo en el 100 % de los casos y los controles por baja disponibilidad de reactivos, lo que constituyó una limitación de la investigación. Se contó con el ADN del total de muestras (N= 265) pero al tener una cuota definida posible de realizar para el estudio de polimorfismos, las muestras se seleccionaron a ciegas y al azar por parte del analista, lo que evitó sesgos de selección.

Para la comprobación del equilibrio de Hardy Weinberg en los polimorfismos de GST se empleó la muestra de 41 controles, a los que se les determinaron los dos polimorfismos de la enzima GST.

Para el estudio de asociación genética de los polimorfismos *GSTT1* y *GSTM1* la muestra total fue 140: 35 / 99 mujeres con LIEBG (35,35 %), 32 / 54 con LIEAG (59,25 %), 32 / 52 con CE (61,53 %) y 41 / 60 mujeres controles (68,33 %).

La muestra del estudio de interacción gen - gen entre ambos loci de las isoformas de GST, así como interacción gen - ambiente estuvo conformada por los casos y controles con estudio molecular realizado.

#### 4.2.2 Variables de estudio y su operacionalización

Las variables para los estudios moleculares se exponen en el anexo 16 e incluyeron: *GSTT1* y *GSTM1*.<sup>10,68</sup>

#### 4.2.3 Métodos para el estudio de polimorfismos GSTs

##### 4.2.3.1 Obtención de la muestra para el estudio de polimorfismos GSTs

A partir del paquete globular obtenido luego de la centrifugación de la muestra de sangre extraída al total de mujeres participantes se realizó el aislamiento de ADN.

##### 4.2.3.2 Procedimiento para aislamiento de ADN

La extracción de ADN en la muestra de sangre se llevó a cabo por el método de precipitación por sales (salting out), descrito por Welsh y Bunce en 1999.<sup>162</sup> La reacción se basa en la precipitación de las proteínas contaminantes con cloroformo y etanol las cuales sufren desnaturalización y son mantenidas en una fase orgánica o en la interfase entre las fases orgánica y acuosa, en tanto los ácidos nucleicos permanecen en la fase acuosa. Al añadir una mezcla de cloroformo / alcohol isoamílico los solutos o residuos de extracción que aún persisten precipitan en forma de anillo en la interfase, mientras que a los ácidos nucleicos obtenidos de la fase acuosa se le añade etanol absoluto para precipitar el ADN (medusa). Este proceso de extracción asegura una cantidad y calidad adecuada de ADN para estudios de biología molecular.

Para comprobar la concentración y pureza del ADN obtenido se procedió a medir por espectrofotometría la absorbancia de la muestra a 260 nm y 280 nm. La

concentración se midió a 280 nm, mientras que la pureza se determinó al aplicar la proporción 260 nm / 280 nm. Se consideró un buen nivel de pureza si los niveles estuvieron en un rango de 1,5 y 2,0.<sup>163</sup>

#### 4.2.3.3 Procedimiento para el genotipaje de los polimorfismos *GSTT1* y *GSTM1*

La determinación de los polimorfismos *GSTT1* y *GSTM1* se realizó a partir de muestras de ADN aisladas, para lo cual se usó el método de PCR múltiple, específicamente una técnica Oligonucleótido Alelo Específica (ASO, del inglés Alelo Specific Oligonucleotide). Los iniciadores o cebadores (primers, en inglés) utilizados, fueron sintetizados en el Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología y enviados al centro de investigación liofilizados, los que fueron reconstituidos con agua libre de DNAasa previo al montaje de la técnica.

- Para el polimorfismo *GSTM1* se utilizaron los primers: Forward: 5'- ATC TTC TCC TCT TCT GTC TC -3', Reverse: 5'- TCA CCG GAT CAT GGC CAG CA -3'.

-Para el polimorfismo *GSTT1* se utilizaron los primers: Forward: 5'-TTC CTT ACT GGT CCT CAC ATC TC-3', Reverse: 5'-TCA CCG GAT CAT GGC CAG CA-3'.

- Como control interno positivo se utilizó  $\beta$  *globin*, con los primers: Forward: 5'-CAA CTT CAT CCA CGT TCA CC-3', Reverse: 5'-GAA GAG CCA AGG ACA GGT AC-3'

Los cebadores usados para la amplificación fueron descritos por Beray Kiran.<sup>164</sup>

Se utilizaron reactivos de la firma Fisher BioReagents<sup>®</sup> para la mezcla de amplificación, la cual tuvo un volumen final de 25  $\mu$ L, que incluyó buffer PCR 1x (50 mM KCl, 10 mM Tris HCl, pH 8,8), 2,5 mM MgCl<sub>2</sub>, 200  $\mu$ M dNTPs, 1  $\mu$ M de cada primer, 2,5 U de Taq polymerase (Cat#FB-6000-60) y 25 ng/ $\mu$ L de ADN.

Se utilizó para la PCR el Termociclador Multigene Mini Labnet, que requirió condiciones de desnaturalización de cinco minutos a 94 °C y 35 ciclos como sigue: un minuto a 94 °C (desnaturalización), un minuto a 58 °C (uniéndose), un minuto a 72 °C (elongación) y finalmente diez minutos a 72 °C (elongación final).

Los genotipos se determinaron por migración de los productos en gel de agarosa al 2 %, con adición de bromuro de etidio. La corrida se realizó en cámara de electroforesis horizontal (GIBCOBRL Life Technologies compact L/XL biometra) con buffer 0,5X TBE, a 170 voltios y corriente constante durante una hora.

Los productos amplificados: *GSTM1* (219 pb), *GSTT1* (459 pb) y  $\beta$  *globin* (286 pb), se visualizaron en Transluminador UV Digi-Doc y se compararon con marcadores de diferente peso molecular de 100 pb (ladder, en inglés). La evidencia documental fue tomada con cámara digital acoplada al transluminador (Anexo 17).

Los resultados electroforéticos de los polimorfismos fueron corroborados por tres investigadores, lo que minimizó sesgos de interpretación.

#### 4.2.4 Metodología para el estudio de polimorfismos GSTs en estudio caso control

En el contexto de esta investigación, los genotipos están identificados como *GSTT1* nulo (-/-), *GSTT1* presente (+/+ o +/-); *GSTM1* nulo (-/-), *GSTM1* presente (+/+ o +/-) y ambos genotipos nulos (*GSTT1* -/- & *GSTM1* -/-).

El análisis estadístico para el estudio de asociación genética se realizó mediante los programas SPSS versión 20 y EPI-INFO versión 7. Se tuvieron en cuenta niveles de significación del 95 y 99 %.

##### 4.2.4.1 Comprobación del equilibrio de Hardy Weinberg

Se utilizó el método para sistemas genéticos con relaciones de dominancia completa, para lo cual se determinó la frecuencia del alelo recesivo (alelo nulo) como la raíz cuadrada de su frecuencia fenotípica.

Dada la existencia de dominancia los genotipos no pudieron ser identificados directamente de los fenotipos, por lo que para calcularlos se partió del supuesto de equilibrio génico poblacional, lo que permitió encontrar las frecuencias alélicas.

- Frecuencia del alelo *GST* presente (p): proporción en que aparece el alelo *GST* respecto al total de alelos de ese locus. Se calculó mediante la expresión matemática  $p + q = 1$ ; donde  $p = 1 - q$ .

- Frecuencia del alelo *GST* nulo ( $q$ ): proporción en que aparece el alelo nulo respecto al total de alelos de ese locus en la muestra estudiada. Se calculó mediante la expresión  $q = \sqrt{\text{frecuencia fenotipo nulo}}$  ( $\sqrt{\phantom{x}}$ : raíz cuadrada).

Una vez obtenidas las frecuencias alélicas se encontraron las frecuencias genotípicas mediante un sistema de ecuaciones derivada del binomio  $(p + q)^2 = 1$ , donde  $p$  = frecuencia de alelo *GST* presente y  $q$  = frecuencia de alelo nulo, se calculó la frecuencia para genotipo  $+/+$  =  $p^2$ , para genotipo heterocigoto  $+/-$  =  $2pq$  y para genotipo  $-/-$  =  $q^2$ . El total de alelos en la muestra es  $N \times 2$ .

Para comparar las frecuencias alélicas calculadas entre la muestra control y la de estudio se utilizó la prueba de hipótesis de proporciones muestrales, mediante el programa estadístico InfoStat.

#### 4.2.4.2 Metodología para el estudio de la frecuencia fenotípica y genotípica de los polimorfismos *GSTT1* y *GSTM1* en las lesiones de cuello uterino

Las frecuencias fenotípicas observadas en los controles y casos con distintos tipos de lesiones en cérvix se obtuvieron directamente a partir de su presentación en la muestra, al igual que la frecuencia del genotipo homocigoto recesivo ( $-/-$ ).

Para el cálculo de las frecuencias de los genotipos homocigotos dominante ( $+/+$ ) y heterocigoto ( $+/-$ ), se partió del supuesto de existencia de equilibrio poblacional verificado a través de la muestra control, y se obtuvieron a partir del cálculo de la frecuencia del alelo nulo.

Las frecuencias del alelo *T* nulo ( $q$ ) empleadas para el cálculo de la frecuencias genotípicas fueron: para la muestra control  $q = 0,60$ , para LIEBG  $q = 0,63$ , para LIEAG  $q = 0,53$  y para el CE  $q = 0,73$ .

Las frecuencias del alelo *M* nulo ( $q$ ) empleadas para el cálculo de la frecuencias genotípicas fueron: para la muestra control  $q = 0,44$ , para LIEBG  $q = 0,50$ , para LIEAG  $q = 0,50$  y para el CE  $q = 0,66$ .



Se calcularon también las frecuencias fenotípicas de las posibles combinaciones de los polimorfismos *GSTT1* y *GSTM1* y se aplicó el test de proporciones muestrales.

#### 4.2.4.3 Metodología para el estudio de asociación de los polimorfismos *GSTT1* y *GSTM1* del sistema GST

Se realizaron tres estudios de asociación caso - control por separado en mujeres con LIEBG, LIEAG y CE respecto al control. Se construyeron tablas de contingencia 2 x 2 y se procedió a calcular las diferencias mediante prueba de ji cuadrado. Además, se calculó el OR e IC al 95 %. Se probaron dos modelos de asociación diferentes (recesivo y aditivo).<sup>165,166</sup>

En el modelo recesivo se evaluó si la presencia del genotipo dado por el alelo *T* nulo en doble dosis (homocigoto *T- / T-*) era más frecuente entre los casos con una lesión particular que entre los controles respecto a todos los demás genotipos (*T+ / T-* y *T+ / T+*). El mismo procedimiento se siguió para el análisis del alelo *M* (homocigoto *M- / M-* vs *M+ / M-* y *M+ / M+*).

El modelo aditivo o test de alelo evaluó en cada polimorfismo si la presencia del alelo *T-* o *M-* entre los casos era mayor que la presencia del alelo *T-* o *M-* entre los controles, respecto a la presencia del alelo *T+* o *M+*. Para dichos análisis una vez comprobado equilibrio poblacional se utilizó el método tradicional para el cálculo de frecuencias alélicas en genes recesivos.

#### 4.2.4.4 Metodología para los estudios de interacción gen-gen entre ambos loci de las isoformas de GST

Se analizó la interacción entre ambas isoformas de GST como resultado de la presencia conjunta de los genotipos *GSTT1* y *GSTM1* nulos, para evaluar repercusión del efecto conjunto de los dos genes en la aparición de las lesiones premalignas y malignas de cuello uterino. Se realizó mediante un estudio bivariado.

#### 4.2.4.5 Metodología para estudios de interacción gen - ambiente en ambos polimorfismos

Se realizó un estudio de interacción gen - ambiente que consideró los genotipos derivados del estudio molecular de los dos polimorfismos y aquellos factores ambientales que mostraron diferencias significativas en el estudio multivariado.

En el componente genoma se consideraron ocho genotipos, según visualización electroforética o no (dos para *GSTT1*, dos de *GSTM1* y cuatro para ambos polimorfismos). Los análisis se hicieron para las interacciones ambientales con los genotipos nulos (*GSTT1* nulo, *GSTM1* nulo y ambos nulos). En el componente ambiental se analizaron 12 variables y se tuvo en cuenta el valor observado de cada factor de riesgo en cada grupo de casos y controles, la credibilidad biológica, su consistencia en la literatura y que estuviera presente en ambos grupos.

Se consideró de interés, si el OR de la interacción genoma (g) - ambiente (a) (OR<sub>ga</sub>) observada fue mayor que la esperada en el modelo aditivo o multiplicativo. El OR<sub>ga</sub> esperado bajo el modelo aditivo resultó de la adición de ambos OR por separado, y bajo el modelo multiplicativo resultó de la multiplicación de ambos OR.

### 4.3 Resultados

#### Estudio del equilibrio génico de Hardy-Weinberg para los polimorfismos *GSTT1* y *GSTM1*

Las frecuencias alélicas encontradas en el grupo control al suponer equilibrio de Hardy-Weinberg, fueron para el alelo *T* nulo= 0,60 y para el alelo *M* nulo= 0,44. Las frecuencias genotípicas esperadas y observadas no difirieron para el polimorfismo *GSTT1* (p= 0,983) ni para el polimorfismo *GSTM1* (p= 0,975), lo que corroboró la existencia de equilibrio génico en la población de estudio y permitió realizar los análisis de asociación (Tabla 14).

**Tabla 14.** Análisis de equilibrio génico de Hardy-Weinberg para los polimorfismos *GSTT1* y *GSTM1* en los controles.

Genotipos	Frecuencias Genotípicas Observadas	Frecuencias Genotípicas Esperadas		$\frac{(Obs - Esp)^2}{Esp}$
		No	(%)	
<b><i>GSTT1</i></b>				
<i>GSTT1</i> +/+	26 = (6)/20	6,40	(15,61)	0,0250
<i>GSTT1</i> +/-		19,59	(47,78)	0,0086
<i>GSTT1</i> -/-		15	14,99	(36,56)
Total	41	0,9998		$X^2=0,0336$ $p=0,983$
<b><i>GSTM1</i></b>				
<i>GSTM1</i> +/+	33 = (13)/20	12,77	(31,16)	0,0041
<i>GSTM1</i> +/-		20,22	(49,32)	0,0023
<i>GSTM1</i> -/-		8	7,995	(19,50)
Total	41	0,9998		$X^2=0,0064$ $p=0,975$

Significación:  $p < 0,05$ .

Fuente: Resultados de investigación.

#### 4.3.1 Frecuencias genotípicas de los polimorfismos *GSTT1* y *GSTM1*

Las frecuencias genotípicas de los polimorfismos *GSTT1* y *GSTM1* en cada tipo de lesión y los controles se exponen en la tabla 15.

En el grupo control la frecuencia del genotipo *GSTT1* nulo fue de 0,365 (36,58 %) y del genotipo *GSTM1* nulo de 0,195 (19,51 %). En las mujeres con lesiones en cuello uterino se observó que las mayores frecuencias de los polimorfismos nulos (delección homocigótica) se presentaron en el CE, para el *GSTT1* (-/-) fue de 0,531 (53,12 %) y para *GSTM1* (-/-) fue de 0,437 (43,75 %).

El análisis de proporciones constató diferencias del genotipo *GSTM1* nulo en mujeres con CE respecto al control, el genotipo *GSTT1* nulo no mostró diferencias. Las frecuencias genotípicas en las LIE de bajo y alto grado no mostraron diferencias en ninguno de los polimorfismos.

En el anexo 18 se presentan las combinaciones genotípicas de ambos polimorfismos y se comprobó que la mayor frecuencia (43,75 %) de ambos genotipos nulos

(*GSTT1*-/- & *GSTM1*-/-) se presentó en el grupo de CE. El análisis de proporciones evidenció diferencias significativas ( $p=0,039$ ) de esta combinación en el grupo de CE.

**Tabla 15.** Frecuencias genotípicas de los polimorfismos *GSTT1* y *GSTM1*. Estudio caso control. Villa Clara. 2018 - 2021.

Genes	Frecuencia Fenotípica	Genotipos	Frecuencia genotípica	p Lesión vs Control
<b>Control (N= 41)</b>				
<i>GSTT1</i>	15 (36,58)	Nulo -/-	0,365	
	26 (63,41)	Presente +/+	0,146	
		Presente +/-	0,487	
<i>GSTM1</i>	8 (19,51)	Nulo -/-	0,195	
	33 (80,48)	Presente +/+	0,317	
		Presente +/-	0,487	
<b>LIEBG (N= 35)</b>				
<i>GSTT1</i>	14 (40,00)	Nulo -/-	0,400	0,815
	21 (60,00)	Presente +/+	0,142	1,000
		Presente +/-	0,457	0,821
<i>GSTM1</i>	9 (25,71)	Nulo -/-	0,257	0,587
	26 (74,28)	Presente +/+	0,257	0,619
		Presente +/-	0,485	1,000
<b>LIEAG (N= 32)</b>				
<i>GSTT1</i>	9 (28,12)	Nulo -/-	0,281	0,540
	23 (71,87)	Presente +/+	0,218	0,465
		Presente +/-	0,500	1,000
<i>GSTM1</i>	8 (25,00)	Nulo -/-	0,250	0,776
	24 (75,00)	Presente +/+	0,250	0,607
		Presente +/-	0,500	1,000
<b>CE (N= 32)</b>				
<i>GSTT1</i>	17 (53,12)	Nulo -/-	0,531	0,234
	15 (46,87)	Presente +/+	0,062	0,292
		Presente +/-	0,406	0,635
<i>GSTM1</i>	14 (43,75)	Nulo -/-	0,437	0,039
	18 (56,25)	Presente +/+	0,125	0,092
		Presente +/-	0,437	0,813

LIEBG: Lesión Intraepitelial de Bajo Grado, LIEAG: Lesión Intraepitelial de Alto Grado, CE: Carcinoma epidermoide, p= Prueba de hipótesis (InfoStat)  $p<0,05$   
 Fuente: Resultados de investigación

### 4.3.2 Asociación genética de los polimorfismos *GSTT1* y *GSTM1* a las lesiones de cuello uterino

Los estudios de asociación genética se muestran en las tablas 16 a la 18. Se presentan los resultados en cada tipo de lesión para los modelos recesivo y aditivo. En las mujeres con LIEBG no se encontraron asociaciones de interés en ninguno de los dos polimorfismos, para los modelos probados (tabla 16).

**Tabla 16.** Asociación de los polimorfismos *GSTT1* nulo y *GSTM1* nulo en mujeres con LIEBG y control. Estudio caso control. Villa Clara. 2018- 2021.

Modelo de asociación	LIEBG (%) N= 35	Control (%) N= 41	X <sup>2</sup>		OR (IC al 95 %)
			Valor	p	
<b>Modelo Recesivo</b>					
Genotipos					
<i>GSTT1</i> -/-	14 (40,0)	15 (36,6)	0,093	0,760	1,156 (0,457 – 2,923)
<i>GSTT1</i> +/+ o +/-	21 (60,0)	26 (63,4)			
<i>GSTM1</i> -/-	9 (25,7)	8 (19,5)	0,418	0,518	1,428 (0,484 – 4,214)
<i>GSTM1</i> +/+ o +/-	26 (74,3)	33 (80,5)			
<b>Modelo Aditivo</b>					
Alelos					
T nulo	44 (62,85)	50 (60,97)	0,056	0,812	1,083 (0,561 – 2,089)
T presente	26 (37,15)	32 (39,03)			
M nulo	35 (50,00)	36 (43,91)	0,564	0,452	1,277 (0,673 – 2,423)
M presente	35 (50,00)	46 (56,09)			

LIEBG: Lesión Intraepitelial Escamosa de Bajo Grado. Significación: p<0,05

Fuente: Resultados de investigación

La tabla 17 muestra el análisis de asociación en las mujeres con LIEAG. Para el alelo M, los OR superan la unidad, sin alcanzar significación estadística en ambos modelos probados.

**Tabla 17.** Asociación de los polimorfismos *GSTT1* nulo y *GSTM1* nulo en mujeres con LIEAG y control. Estudio caso control. Villa Clara. 2018 - 2021.

Modelo de asociación	LIEAG (%) N= 32	Control (%) N= 41	X <sup>2</sup>		OR (IC al 95 %)
			Valor	p	
<b>Modelo Recesivo</b>					
Genotipos					
<i>GSTT1</i> -/-	9 (28,1)	15 (36,6)	0,583	0,445	0,678 (0,250 – 1,842)
<i>GSTT1</i> +/+ o +/-	23 (71,9)	26 (63,4)			
<i>GSTM1</i> -/-	8 (25,0)	8 (19,5)	0,316	0,574	1,375 (0,452 – 4,181)
<i>GSTM1</i> +/+ o +/-	24 (75,0)	33 (80,5)			
<b>Modelo Aditivo</b>					
Alelos					
<i>T</i> nulo	34 (53,13)	50 (60,97)	1,298	0,254	0,681 (0,351 – 1,319)
<i>T</i> presente	30 (46,87)	32 (39,03)			
<i>M</i> nulo	32 (50,00)	36 (43,91)	0,537	0,463	1,277 (0,663 – 2,462)
<i>M</i> presente	32 (50,00)	46 (56,09)			

LIEBG: Lesión Intraepitelial Escamosa de Alto Grado. Significación: p<0,05  
Fuente: Resultados de investigación

Los resultados de los análisis de asociación genética en el CE aparecen en la tabla 18. Se observa en el modelo recesivo que el alelo *M* aparece significativamente asociado a los casos, con OR= 3,208 (IC 95 % 1,132 - 9,089) y p= 0,025. Del mismo modo para el modelo aditivo, resultaron significativamente asociados a los casos con CE, tanto el alelo *T* nulo como el *M* nulo (p= 0,045 y p= 0,002, respectivamente).

**Tabla 18.** Asociación de los polimorfismos *GSTT1* nulo y *GSTM1* nulo en mujeres con CE y control. Villa Clara. 2018 - 2021.

Modelo de asociación	CE (%) N= 32	Control (%) N= 41	X <sup>2</sup>		OR (IC al 95 %)
			Valor	p	
<b>Modelo Recesivo</b>					
Genotipos					
<i>GSTT1</i> -/-	17 (53,1)	15 (36,5)	1,997	0,158	1,964 (0,766 – 5,035)
<i>GSTT1</i> +/+ o +/-	15 (46,8)	26 (63,4)			
<i>GSTM1</i> -/-	14 (43,8)	8 (19,5)	5,015	0,025	3,208 (1,132 – 9,089)
<i>GSTM1</i> +/- o +/-	18 (56,2)	33 (80,5)			
<b>Modelo Aditivo</b>					
Alelos					
<i>T</i> nulo	47 (73,44)	50 (60,97)	4,007	0,045	2,090 (1,086 – 4,333)
<i>T</i> presente	17 (26,56)	32 (39,03)			
<i>M</i> nulo	42 (65,63)	36 (43,91)	8,959	0,002	2,811 (1,416 – 5,578)
<i>M</i> presente	22 (34,37)	46 (56,09)			

CE: Carcinoma epidermoide. Significación: p<0,05. Fuente: Resultados de investigación

### 4.3.3 Interacción gen - gen para la presencia de doble nulo (*GSTT1*-/- & *GSTM1*-/-)

En la tabla 19 se observó en los tres grupos de lesiones analizadas, que la presencia de alelos nulos para ambos polimorfismos superó la frecuencia observada en las mujeres controles, con OR superiores a la unidad. Para la situación específica del CE estas diferencias alcanzaron significación OR= 3,208 (IC 95 %: 1,132 - 9,089) (p= 0,025).

**Tabla 19.** Interacción de ambos genotipos nulos en mujeres con lesiones en cuello uterino. Estudio caso control. Villa Clara. 2018 - 2021.

Genotipo <i>GSTT1</i> y <i>GSTM1</i> en conjunto	Grupos	X <sup>2</sup>		OR (IC al 95 %)
		Valor	p	
<b>Interacción gen – gen <i>GSTT1</i>-/- &amp; <i>GSTM1</i>-/-</b>	LIEBG (%)	Control (%)		
	Si	8 (19,5)	0,418	0,518
	No	33 (80,5)		
	Subtotal	41		
	LIEAG (%)	Control (%)		
	Si	8 (19,5)	0,316	0,574
	No	33 (80,5)		
	Subtotal	41		
	CE (%)	Control (%)		
Si	8 (19,5)	5,015	0,025	
No	33 (80,5)			
Subtotal	41			

LIEBG: Lesión Intraepitelial de Bajo Grado, LIEAG: Lesión Intraepitelial de Alto Grado, CE: Carcinoma epidermoide  
Fuente: Resultados de investigación

### 4.3.4 Interacción gen - ambiente entre los polimorfismos *GSTT1*-/-, *GSTM1*-/- y factores de riesgo significativos

Los anexos del 19 al 21 muestran los riesgos observados al presentarse de forma conjunta en los grupos de casos con lesiones, diferentes factores de riesgo y presencia de polimorfismos *GSTT1* nulo, *GSTM1* nulo, y ambos polimorfismos nulos. Pudo evaluarse además si el riesgo observado de los factores conjuntos superó al riesgo que supone cada factor individual por el modelo aditivo o multiplicativo.

Los resultados de las interacciones en las mujeres con LIEBG se exponen en el anexo 19. En este tipo de lesión no se encontraron posibles asociaciones en relación

a la presencia de polimorfismos *GSTs* y factores de riesgo, pero se observó que en las mujeres con exposición pasiva al humo de tabaco y presencia del genotipo *GSTT1* nulo se potenciaron los riesgos debido a la interacción conjunta de ambos factores de riesgo (modelo aditivo). De igual forma, el riesgo observado en las mujeres expuestas de forma pasiva al humo de tabaco con presencia de *GSTM1* nulo y ambos alelos nulos fue superior a los riesgos esperados, tanto para el modelo aditivo como multiplicativo.

El anexo 20 muestra las interacciones gen - ambiente en mujeres con LIEAG. No se observaron interacciones significativas entre los polimorfismos *GSTs* estudiados y factores de riesgo. Sin embargo, se observó potenciación de los riesgos bajo el modelo multiplicativo en mujeres con presencia de *GSTT1* nulo y enfermedad benigna previa del cérvix.

Las interacciones gen - ambiente en las mujeres con CE se presentan en el anexo 21. Cuando se asocian en una misma mujer con este tipo de lesión, presencia del alelo *GSTT1* nulo, *GSTM1* nulo y ambos polimorfismos nulos, y las variables ambientales: exposición pasiva al humo de tabaco, no consumo de vitaminas / minerales y no uso de preservativos, se producen interacciones significativas ( $p < 0,05$ ). De igual modo, las mujeres con genotipo *GSTT1* nulo que tuvieron parto temprano mostraron interacciones significativas.

En las mujeres con CE, consideradas fumadoras pasivas y en aquellas que no consumieron vitaminas / minerales, el riesgo observado de los factores conjuntos superó el riesgo esperado si los OR de cada factor se adicionaran.

#### 4.4 Discusión

La comprobación del equilibrio de Hardy-Weinberg asume que las frecuencias genotípicas de un locus genético pueden expresarse en términos de frecuencias alélicas siempre y cuando la población cumpla ciertas condiciones.<sup>167</sup> El presente estudio comprobó que no existen diferencias significativas entre las frecuencias



genotípicas esperadas con las observadas, en ninguno de los dos polimorfismos objeto de análisis, lo que constató equilibrio poblacional y permitió estudios de asociación.

#### 4.4.1 Frecuencias alélicas y genotípicas de los polimorfismos *GSTT1* y *GSTM1*

En Cuba no existen evidencias científicas sobre estudios de polimorfismos de la enzima GST. La presente investigación aporta los primeros resultados del análisis de las isoformas *GSTT1* y *GSTM1* en lesiones premalignas y malignas en cuello uterino. En las últimas décadas se han realizado múltiples estudios caso - control y meta-análisis en distintas poblaciones para conocer la asociación de los polimorfismos nulos con el riesgo de lesiones en cuello uterino. Aunque han sido relacionados indistintamente uno u otro polimorfismo (*GSTT1* nulo y *GSTM1* nulo), varios meta-análisis han evidenciado el riesgo que representa el genotipo *GSTM1* nulo para el desarrollo de CCU y en menor medida el genotipo *GSTT1* nulo.<sup>168-170</sup>

En el presente estudio la frecuencia alélica de *GSTT1* nulo en el grupo control fue de 0,60, lo cual superó las frecuencias reportadas en población asiática (Korea: 0,50, Japón: 0,49), africana (Namibia: 0,46, Somalia: 0,44) y brasileña (0,26). El alelo *GSTM1* nulo se presentó en los controles con una frecuencia de 0,44, similar a lo reportado en población africana (Etiopía: 0,43) y pakistaní (0,45), mientras que en Brasil fue de 0,39.<sup>171</sup> Las frecuencias genotípicas de *GSTT1* nulo en los casos del presente estudio se observaron entre el 28 y 53 % y en el control fue de 36 %. En el genotipo *GSTM1* nulo las frecuencias de los casos oscilaron entre el 25 y 43 % y en el grupo control fue de 19,5 %. El genotipo *GSTM1* nulo en el grupo de mujeres con CE respecto al control mostró aumento significativo ( $p= 0,039$ ), lo que pudo proporcionar una susceptibilidad incrementada en estas mujeres para desarrollar cáncer de cérvix.

Investigaciones realizadas en Brasil mostraron frecuencias de los genotipos *GSTT1* nulo y *GSTM1* nulos menores en los casos con CCU que en los controles (casos:

*GSTT1* nulo 22,2 % y *GSTM1* nulo 48,5 % y controles: *GSTT1* nulo 45 % y *GSTM1* 56 %).<sup>10,68</sup> En la India encontraron para el genotipo *GSTT1* nulo una frecuencia de 26,86 % y para *GSTM1* nulo de 36,29 %.<sup>11</sup> Mientras que, en Lituania se declaró que solo el 6,9 % de las mujeres con CCU tuvo delección de *GSTT1*, en cambio el genotipo *GSTM1* nulo estuvo presente en el 44,1 %.<sup>67</sup> Un estudio realizado por Garte<sup>172</sup> en una amplia muestra de individuos controles refirió que en población caucásica la frecuencia del genotipo *GSTT1* nulo fue de 19,7 % (13 - 26 %) y en asiáticos de 47 % (35 - 52 %); mientras que el genotipo *GSTM1* nulo presentó una prevalencia en caucásicos de 53,1 % (42 - 60 %), en asiáticos de 52,9 % (42 - 54 %) y en africanos de 26,7 % (16 - 36 %).

Las frecuencias de ambos polimorfismos en distintas poblaciones son divergentes, lo que podría deberse a la variabilidad de las frecuencias alélicas.<sup>11</sup> Estas variaciones podrían ocurrir por la distribución de los genes de detoxificación en la población, influenciada por patrones geográficos específicos; a las diferencias étnicas basada en la mezcla que se presenta en las distintas poblaciones, a cambios adaptativos que se producen en la población debido a condiciones ambientales (industrialización, alimentos químicamente procesados, agentes químicos para la higiene) que conduce a mutaciones deletéreas, o como factor contribuyente el número limitado de muestras que son posibles determinar.<sup>10,67,171</sup>

#### 4.4.2 Asociación de polimorfismos *GSTT1* y *GSTM1* en mujeres con lesiones en cuello uterino

Múltiples estudios han centrado su atención en la relación entre los polimorfismos de *GSTT1* y *GSTM1* nulos en diferentes tipos de cáncer, tales como pulmón, próstata, riñón, ovario y cabeza y cuello. Sin embargo, en las últimas décadas se han investigado ambos polimorfismos en el CCU y en mujeres con VPH-AR debido al importante rol de los genes que metabolizan xenobióticos. La infección por VPH y la exposición a carcinógenos derivados de hidrocarburos aromáticos policíclicos

proporcionan ER endógenas y exógenas, que deben ser eliminadas para minimizar los daños al tejido cervical y la transformación celular.<sup>164,173</sup>

Las proteínas GSTs participan en la biotransformación y detoxificación de ER mediante la conjugación del GSH con componentes electrofílicos que incluyen xenobióticos y carcinógenos ambientales para hacerlos más solubles y facilitar su excreción. Las isoformas *GSTT1* y *GSTM1* son altamente polimórficas y conducen a una amplia variedad en la expresión y niveles de actividad enzimática. La delección homocigótica en genes de una u otra isoforma se ha asociado a la pérdida total de la actividad de la enzima de la respectiva proteína, lo que incrementa la vulnerabilidad citogenética y la susceptibilidad individual a padecer cáncer.<sup>10,68,69</sup>

Las mutaciones en los genes *GSTs* descritos son heredadas por la línea germinal, son polimorfismos constitutivos posiblemente funcionales que confieren susceptibilidad para enfermar. Los individuos con estos polimorfismos pueden ser menos eficaces para eliminar mutaciones somáticas, reparar daños en el ADN o evitar aberraciones cromosómicas que se produzcan bien por el propio efecto de *GST* mutado en células somáticas, por mutaciones debidas a otros genes o por factores ambientales. Las frecuencias de genes mutados en individuos, familias o población pueden conferir predisposición o desventaja a padecer la enfermedad. Esto puede explicar la alta variabilidad individual y en consecuencia las frecuencias genéticas divergentes entre poblaciones.<sup>173</sup>

El primer estudio que exploró la asociación entre los polimorfismos *GSTT1* y *GSTM1* con el riesgo de neoplasia cervical fue publicado por Warwick (1994),<sup>174</sup> quien encontró diferencias significativas de sus frecuencias en casos y controles. A partir de estos hallazgos se han realizado múltiples investigaciones para evaluar la asociación de la delección homocigótica de ambas isoformas en neoplasia cervical en diversas etnias. No obstante, la inconsistencia de los resultados en los diferentes estudios restringe la generalización de tal asociación.<sup>69,164,175</sup>

En el presente estudio se constató que el 43,75 % de las mujeres con CE presentó genotipo *GSTM1* nulo respecto al grupo control (19,51 %), lo que resultó en asociación significativa para el modelo recesivo y el aditivo. La presencia de este genotipo triplicó el riesgo en este grupo de casos lo que podría conferir una alta susceptibilidad en estas mujeres a la infección por VPH-AR, a los daños que provoca la exposición a componentes mutagénicos o a la presencia de polimorfismos en otros genes que metabolizan xenobióticos. En las LIE de bajo y alto grado ninguno de los dos polimorfismos estudiados mostró asociación.

En un meta-análisis que incluyó varios estudios, 23 de ellos se realizaron sobre el genotipo *GSTM1* y 19 para *GSTT1*, se asoció de forma significativa el genotipo *GSTT1* nulo (OR= 1,49 e IC al 95 % 1,02 - 2,19) a la NIC y al CCU de tipo desconocido pero no a otros tipo de lesiones de cuello uterino ni en subgrupos analizados según etnias. El genotipo *GSTM1* nulo también se asoció significativamente con la NIC (OR= 1,40 e IC al 95 % 1,19 - 1,65) al ser comparado con el genotipo *GSTM1* presente. Cuando analizaron los tipos de lesiones por separado encontraron riesgo elevado del genotipo *GSTM1* nulo en el grupo de CCU de tipo desconocido y en el grupo mixto de neoplasias de cérvix (OR= 1,98 e IC al 95 % 1,46 - 2,68) pero no en tipos de lesiones específicas,<sup>176</sup> lo que concuerda con los hallazgos de esta investigación. Wang (2011)<sup>177</sup> en un meta-análisis comprobó que el genotipo *GSTM1* nulo fue asociado con un incremento del riesgo de CCU (OR= 1,32 e IC al 95 % 1,06 - 1,66), mientras que el genotipo *GSTT1* nulo no resultó asociado. Otro meta-análisis que incluyó 30 estudios (27 artículos sobre *GSTM1* y 22 sobre *GSTT1*) arrojó que el genotipo *GSTM1* nulo incrementó el riesgo de lesiones cervicales (OR= 1,45,  $p < 0,001$ ) específicamente en mujeres con VPH positivo y población China e India, mientras que *GSTT1* nulo incrementó el riesgo para LIEAG y CCU.<sup>178</sup>

Un estudio realizado en mujeres de Burkina Faso y Mali con LIEAG y CCU encontraron riesgos elevados (OR= 9 y 15, respectivamente) para el genotipo *GSTM1* nulo.<sup>179</sup> La asociación encontrada en el presente estudio, entre el genotipo *GSTM1* nulo con el CCU concordó con estudios previos realizados en China (OR= 2,34), India (OR= 2,02), Pakistán (OR= 5,52), Serbia (OR= 1,73) y Kazakhstan (OR= 6,5), pero no en otros países. También fue hallada asociación en mujeres con infección por VPH (OR= 2,59). Mientras que, el genotipo *GSTT1* nulo solo fue asociado en estudios realizados en Kazakhstan (OR= 3,99) y Brasil (OR= 4,58).<sup>180</sup>

#### 4.4.3 Interacción gen - gen

La interacción entre genes podría utilizarse como un biomarcador genético para identificar individuos con mayor riesgo o elevada susceptibilidad a determinadas enfermedades. En el análisis de interacción gen - gen se encontró la mayor frecuencia de genotipos doble nulo (*GSTT1*-/- & *GSTM1*-/-) en el grupo de CE (43,75 %), que resultó significativo respecto al control e incrementó el riesgo para el desarrollo del cáncer (OR= 3,208). La presencia conjunta de ambos genes podría conferir una mayor susceptibilidad a la infección por VPH, al desarrollo de mutaciones debido a procesos intrínsecos o a la acción de carcinógenos ambientales.

La asociación de ambos genotipos nulos (*GSTT1*-/- & *GSTM1*-/-) con el desarrollo de CCU fue descrita por Gao (2011)<sup>176</sup> en un meta-análisis, el cual constató que la interacción dual fue significativa e incrementó el riesgo de neoplasia cervical (OR= 1,72 e IC al 95 % 1,18 - 2,51). Wang (2011)<sup>177</sup> en otro meta-análisis comprobó que la interacción de ambos genotipos fue significativamente asociada al riesgo de padecer CCU (OR= 1,77 e IC al 95 % 1,14 - 2,75). Chunmei (2017)<sup>180</sup> también mediante un meta-análisis evidenció asociación significativa de la interacción conjunta de los dos polimorfismos en mujeres con CCU (OR= 1,62 e IC al 95 % 1,14 - 2,29). Datkhile<sup>181</sup> encontró asociación significativa de ambos

genotipos nulos que incrementó el riesgo de CCU (OR= 2,27 e IC al 95 % 1,25 - 4,09) e incluso reportó un riesgo mayor (OR= 3,04 y  $p= 0,005$ ) cuando se produjo una triple combinación (*GSTT1*-/- & *GSTM1*-/- & genotipos *GSTP1*). Los resultados confirman que la participación combinada de dos o más genes incrementa el riesgo en comparación a la aparición de un genotipo individual.

#### 4.4.4 Interacción gen - ambiente

Las interacciones significativas entre los genotipos *GSTs* nulos (*GSTT1*, *GSTM1* nulos y ambos genotipos nulos) y factores de riesgo se encontraron solo en el grupo de mujeres con CE. En las LIE de bajo y alto grado, aunque no se observaron interacciones significativas, se evidenció potenciación de los riesgos al contrastar los OR observados por la presencia de factores conjuntos con los OR esperados bajo los modelos aditivos y multiplicativos. Esto corrobora que en enfermedades multifactoriales de determinación compleja, como es el CCU, la interacción entre el componente genético y ambiental juega un rol esencial.<sup>181,182</sup>

Las mujeres con CE expuestas de forma pasiva al humo de tabaco y con presencia de genotipos *GSTT1*, *GSTM1* nulos y ambos alelos nulos, mostraron interacciones significativas. La pérdida de la capacidad de la enzima GST para la detoxificación de los carcinógenos derivados del tabaco afecta el tejido del cérvix, disminuye la cantidad de moco cervical y la función de las células de Langerhans. El OR elevado bajo el modelo aditivo, produjo potenciación del riesgo en este tipo de lesión.<sup>183-185</sup>

Otras interacciones que resultaron significativas en las mujeres con CE fueron la presencia de los dos genotipos nulo y la interacción de doble nulo con el parto temprano, el no uso de preservativos y el no consumo de vitaminas / minerales, factores de riesgo relacionados a la infección del VPH y a la carencia de antioxidantes de origen exógeno, necesarios para la protección contra las EROs generadas en el proceso de carcinogénesis. La presencia conjunta de estos factores podría incrementar la vulnerabilidad del epitelio cervical.<sup>182,185-187</sup>

En la interacción entre los genotipos *GSTs* nulos y doble nulo con la exposición pasiva al humo de tabaco o con el no consumo de vitaminas / minerales, se observó potenciación de los riesgos cuando se adicionan ambos factores en mujeres con CE. Por otra parte, en las mujeres con LIE de alto y bajo grado los riesgos se potenciaron bajo el modelo multiplicativo en la interacción entre el genotipo *GSTM1* y las enfermedades benignas del cérvix previas. La interacción podría deberse a que las mutaciones en los genes de detoxificación, incrementan la susceptibilidad a la infección del VPH y en consecuencia al desarrollo de lesiones de cuello uterino.<sup>188-190</sup>

#### 4.5 Conclusiones parciales

1. Se evidencia en el CE posible asociación genética del alelo *GSTM1* nulo en el modelo recesivo y en el modelo aditivo tanto para el alelo *T* como *M*. La interacción de los genotipos dobles nulos muestra posible asociación en mujeres con CE.
2. Las interacciones gen - ambiente significativas entre los genotipos *GSTs* nulos y factores ambientales específicos en el grupo de mujeres con CE evidencia un efecto de potenciación de los riesgos cuando estos aparecen de manera conjunta. En las LIE de bajo y alto grado, aunque no se observaron interacciones significativas, se constató potenciación de los riesgos al contrastar los OR observados, por la presencia de factores conjuntos, con los esperados bajo modelos aditivos y multiplicativos.
3. La presencia de alelos nulos para ambos polimorfismos y determinados factores ambientales evidenció incremento de los riesgos observados que supera los esperados para la presencia conjunta de los mismos, que supuso adición o multiplicación de sus efectos, en todos los tipos de lesiones en cérvix evaluadas.

## CONCLUSIONES

- 1- La identificación de factores de riesgo asociados a lesiones premalignas y malignas de cuello uterino y a la presencia de VPH-AR genotipados indica que los estilos de vida, hábitos tóxicos y conducta sexual desfavorable, son factores ambientales consistentes con la aparición y desarrollo de estas lesiones.
- 2- La determinación de indicadores bioquímicos de estrés oxidativo en mujeres con distintos tipos de lesiones de cuello uterino constata afectación del sistema antioxidante endógeno, y daño oxidativo a lípidos y proteínas, en estadios superiores de la enfermedad.
- 3- Los análisis de indicadores de estrés oxidativo en mujeres con lesiones intraepiteliales en cuello uterino, que considera la infección confirmada con VPH-AR genotipado sin evidencias clínicas de lesión, no constatan desequilibrio oxidativo. El desbalance redox sí pudo evidenciarse en mujeres con factores de riesgo presentes.
- 4- La probable asociación genética del alelo *GSTM1* nulo en los modelos recesivos y aditivos tanto para el alelo *T* y *M* en el grupo de mujeres con CE, sugiere incremento de la susceptibilidad individual para el desarrollo de lesiones en cérvix.
- 5- La interacción gen - gen y gen - ambiente entre los polimorfismos de las isoformas *GSTT1* y *GSTM1* con variables ambientales en mujeres con lesiones premalignas y malignas de cuello uterino, evidencia potenciación de los riesgos de progresión de las lesiones de cuello uterino a estadios superiores.



## **RECOMENDACIONES**

- 1- Realizar un estudio prospectivo con las mujeres de este estudio que resultaron con genotipo nulo para *GSTT1*, *GSTM1* o doble nulo, a fin de conocer la evolución de su lesión a cinco y diez años de su diagnóstico, de manera que pueda someterse a nueva evaluación la influencia de este polimorfismo sobre la carcinogénesis.
- 2- Estudiar las mujeres con VPH-AR genotipado sin lesión aparente, en el momento de este estudio, para conocer la evolución clínica y el comportamiento del estadio de la lesión y otras variables de interés.
- 3- Realizar estudios moleculares de este polimorfismo nulo de GST en otros tipos de cáncer, como pueden ser cáncer de pulmón, gástrico o colorectal, en cuya patogenia se han descrito influencias relacionadas con la detoxificación de xenobiotas y otros mecanismos relacionados con la función del gen.
- 4- Hacer extensivo y generalizar los resultados de esta investigación al resto de las provincias del país, principalmente las variables de riesgo detectadas, para ser incluidas en la elaboración de una estrategia encaminada a la promoción y prevención del CCU.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Bedell SL, Goldstein LS, Goldstein AR, Goldstein AT. Cervical cancer screening: past, present, and future. Sex Med Rev [Internet]. 2020 [citado 7 de Sep 2022]; 8(1): 28-37. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.sxmr.2019.09.005>
2. Organización Mundial de la Salud. Cáncer cervicouterino. OMS [Internet]. 2022 [citado 7 de Feb 2023]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/factsheets/detail/cervical-cancer>
3. Cuba. Ministerio de salud pública. Anuario estadístico de salud 2020. La Habana: MINSAP [Internet]. 2021 [citado 5 Abr de 2022]. Disponible en: <https://files.sld.cu/dne/files/2022/10/Anuario-Estadistico-de-Salud-2021.-Ed-2022.pdf>
4. Pangarkar, MA. The Bethesda System for reporting cervical cytology. CytoJournal [Internet]. 2022 [citado 20 de Sep del 2022]; 19. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9168399/>
5. Cuba M, González M, Scull M, Panuncia Y, Casamor G. Importancia del sistema de Bethesda en el diagnóstico citológico de lesiones precancerosas del cérvix. RevMed Electrón [Internet]. 2019 [citado 20 de Feb de 2021];41(1). Disponible en: <http://www.revmedicaelectronica.sld.cu/index.php/rme/article/view/2318/4158>
6. Feldman S, Crum CP. Cervical cancer screening tests: Techniques for cervical cytology and human papillomavirus testing. UpToDate [Internet]. 2021 [citado 20 de Feb de 2021]. Disponible en: <https://www.medilib.ir/uptodate/show/3219>

7. Medina de la Cruz O, Villegas E, Ruíz E, Gallegos V. Cofactores Ambientales Asociados al Desarrollo de Neoplasia Intraepitelial Cervical y Cáncer Cervicouterino. REVMEDUAS [Internet]. 2022 [citado 12 Jul de 2021]; 12(1): 56-69. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/sinaloa/uas-2022/uas221h.pdf>
8. Mitran CI, Mitran MI, Popa GL, Popa MI. Molecular Targets and Oxidative Stress Biomarkers in HPV Infection. Roum Arch Microbiol Immunol [Internet].2021 [citado 18 Jul de 2021]; 80(2): 164-172. Disponible en: [https://web.archive.org/web/20220206154756id\\_/https://roami.ro/wp-content/uploads/2021/12/07\\_Revista-Cantacuzino\\_issue2\\_review-3.pdf](https://web.archive.org/web/20220206154756id_/https://roami.ro/wp-content/uploads/2021/12/07_Revista-Cantacuzino_issue2_review-3.pdf)
9. González L, Ruíz AA, de la Torre AV, Carvajal E, de Armas I, Águila A. Las enzimas metalo-óxidorreductasas: posibles biomarcadores de tumores ginecológicos. Rev Finlay [Internet].2021 [citado 18 Ene de 2022]; 11(4): 436-443. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S2221-24342021000400436&script=sci\\_arttext&tlng=en](http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S2221-24342021000400436&script=sci_arttext&tlng=en)
10. Bortolli APR, Vieira VK, Stefanski EE, Lazarotto AK, Lucio LC. Relationship between GSTM1 and GSTT1 polymorphisms and HPV infection: a systematic review. Mol Biol Rep [Internet]. 2021 [citado 8 Feb de 2022]; 48(9): 6631-6636. Disponible en:<https://link.springer.com/article/10.1007/s11033-021-06515-6>
11. Tian S, Yang X, Zhang L, Zhao J, Pei M, Yu Y, et al. Polymorphic variants conferring genetic risk to cervical lesions support GSTs as important associated loci. Medicine (Baltimore) [Internet]. 2019 [citado 6 de Abr de 2022]; 98(41): e17487. DOI:[10.1097/MD.00000000000017487](https://doi.org/10.1097/MD.00000000000017487).

12. Bermejo W, Abreu G, Gálvez AM, Rubio MC. Acciones de pesquisa para el control del cáncer cervicouterino en Cuba. Infodir [Internet]. 2021 [citado 3 de Nov de 2022]; (36): e996. Disponible en:  
[http://scielo.sld.cu/scielo.php?scrip=sci\\_arttext&pid=S1996-35212000300016&lng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?scrip=sci_arttext&pid=S1996-35212000300016&lng=es)
13. Shrestha B, Dunn L. The Declaration of Helsinki on Medical Research involving Human Subjects: A Review of Seventh Revision. J Nepal Health Res Counc [Internet]. 2019 [citado 4 de Feb de 2022]; 17(4): 548-52. DOI:  
<https://doi.org/10.33314/jnhrc.v17i4.1042>
14. Broders AC. Carcinoma in situ contrasted with benign penetrating epithelium. JAMA [Internet]. 1932 [citado 5 de Abr de 2022]; 99(20):1670-1674. Disponible en: <https://jamanetwork.com/journals/jama/article-abstract/289559>
15. Reagan JW, Seidemann IL, Saracusa Y. The cellular morphology of carcinoma in situ and dysplasia or atypical hyperplasia of the uterine cervix. Cancer [Internet]. 1953 [citado 12 de Jul de 2022]; 6(2): 224-235. Disponible en:  
<https://acsjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/pdfdirect/10.1002/1097-0142%28195303%296%3A2%3C224%3A%3AAID-CNCR2820060203%3E3.0.CO%3B2-H>
16. Richart RM. Natural history of cervical intraepithelial neoplasia. Clin Obstet Gynecol [Internet]. 1968 [citado 14 de Jul de 2022]; 5:748-784. Disponible en:  
[https://journals.lww.com/clinicalobgyn/Citation/1967/12000/Natural\\_History\\_of\\_Cervical\\_Intraepithelial.2.aspx](https://journals.lww.com/clinicalobgyn/Citation/1967/12000/Natural_History_of_Cervical_Intraepithelial.2.aspx)
17. Richart RM. A modified terminology for cervical intraepithelial neoplasia. Obstet Gynecol [Internet]. 1990 [citado 14 de Jul de 2022]; 75:131-133. Disponible en:  
<https://europepmc.org/article/med/2296409>

18. Soloman D. The 1988 Bethesda system for reporting cervical/vaginal cytologic diagnoses: Developed and approved at the national cancer institute workshop in Bethesda, MD, December 12 - 13, 1988. *Diagn Cytopathol* [Internet]. 1989 [citado 16 de Julde 2022]; 5(3): 331-334. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/dc.2840050318>
19. Medina VG, Álvarez MO, Márquez IR, Rivera AC, Sanz DV. Carcinoma de cuello uterino: características fundamentales y el rol de la RM.35 Congreso Seram, España [Internet]. 2021 [citado 16 de Jul de 2022]; 1(1). Disponible en: <https://piper.espacio-seram.com/index.php/seram/article/download/3827/2293>
20. Saleh M, Virarkar M, Javadi S, Elsherif S, Castro Faria, Bhosale P. Cervical Cancer: 2018 Revised International Federation of Gynecology and Obstetrics Staging System and the Role of Imaging. *AJR* [Internet]. 2020 [citado el 20 Mar de 2022]; 214: 1-14. DOI: <https://doi.org/10.2214/AJR.19.21819>
21. Laberiano CD. Estado del tamizaje del cáncer de cérvix en países de América Latina desde la perspectiva de los profesionales de salud. *Rev peru ginecol obstet* [Internet]. 2020 [citado el 22 Mar de 2022]; 66(1):37-40. DOI: <https://doi.org/10.31403/rpgo.v66i2231>
22. Torres JS, Ronceros L, Valcarcel B, Bazalar J, Ybaseta J, Carioli G, et al. Cervical cancer mortality among young women in Latin America and the Caribbean: trend analysis from 1997 to 2030. *BMC public health* [Internet]. 2022 [citado el 10 de Sept de 2022]; 22(1): 1-10. Disponible en: <https://bmcpublikealth.biomedcentral.com/counter/pdf/10.1186/s12889-021-12413-0.pdf>

23. Revé I, Velázquez DJ, Rojas K. Intervention Strategies for the Prevention of Female Cervical Cancer. *Cancer+* [Internet]. 2021 [citado el 8 de Sept de 2022]; 3(1):5–8. Disponible en:  
<https://cancer.whioce.com/index.php/cancer/article/viewFile/359/pdf>
24. del Campo NMS, Matamoros LZ. Análisis estadístico implicative en la identificación de factores pronósticos de mortalidad por cáncer cervicouterino. *Acta méd cent* [Internet]. 2021 [citado el 9 de Sept de 2022];15(2):188-203. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/medicadelcentro/mec-2021/mec212c.pdf>
25. Redondo KfV, Cascante RA, Solís MJH. Cáncer de cérvix: generalidades. *Rev Méd Sinergia* [Internet]. 2022 [citado 5 Jun de 2022]; 7 (9): e898. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/sinergia/rms-2022/rms229e.pdf>
26. Solórzano SM, Yabre O, Collazo AP, Balsinde EG, Vergara ML. Comportamiento cito-colpo-histológico de las lesiones cervicouterinas del Hospital “Ciro Redondo García” de Artemisa. 2018-2020. *Ciencia&Conciencia* [Internet]. 2021 [citado 12 Jun de 2022]; 4(1). Disponible en: <http://revcienciaconciencia.sld.cu/index.php/ciencia-conciencia/article/download/30/70>
27. Leño J, Mena OL. Correlación citológica, colposcópica e histológica de lesiones precancerígenas en cérvix. *Rev Med La Paz* [Internet]. 2020 [citado 4 de May de 2022]; 26(1): 24-31. Disponible en: [http://www.scielo.org.bo/pdf/rmclmp/v26n1/v26n1\\_a04.pdf](http://www.scielo.org.bo/pdf/rmclmp/v26n1/v26n1_a04.pdf)

28. Cospér PF, Bradley S, Luo Q, Kimple RJ. Biology of HPV Mediated Carcinogenesis and Tumor Progression. *Semin Radiat Oncol* [Internet]. 2021 [citado 7 de May de 2022]; 31(4): 265-273. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.semradonc.2021.02.006>
29. Ojha PS, Maste MM, Tubachi S, Patil VS. Human papillomavirus and cervical cancer: an insight highlighting pathogenesis and targeting strategies. *VirusDisease* [Internet]. 2022 [citado 12 de May de 2022]: 1-23. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13337-022-00768-w>
30. Avian A, Clemente N, Mauro E, Isidoro E, Di Napoli M, Dudine S, et al. Clinical validation of full HR-HPV genotyping HPV Selfy assay according to the international guidelines for HPV test requirements for cervical cancer screening on clinician-collected and self-collected samples. *J Transl Med* [Internet]. 2022 [citado 12 de May de 2022]; 20(1), 1-12. Disponible en: <https://translational-medicine.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12967-022-03383-x>
31. Mkrтчian L, Zamulaeva I, Krikunova L, Kiseleva V, Matchuk O, Liubina L, et al. HPV Status and Individual Characteristics of Human Papillomavirus Infection as Predictors for Clinical Outcome of Locally Advanced Cervical Cancer. *J Pers Med* [Internet]. 2021 [citado 15 de May de 2022]; 11(6): 479. DOI: <https://doi.org/10.3390/jpm11060479>
32. Soheili M, Keyvani H, Soheili M, Nasserí S. Human papilloma virus: A review study of epidemiology, carcinogenesis, diagnostic methods, and treatment of all HPV-related cancers. *Med J Islam Repub Iran* [Internet]. 2021 [citado 20 Sep de 2022]; 35:65. DOI: <https://doi.org/10.47176/mjiri.35.65>

33. zur Hausen H. Papillomaviruses in the causation of human cancers—a brief historical account. *Virology* [Internet]. 2009 [citado 10 Sep de 2021]; 384(2): 260-265. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.virol.2008.11.046>
34. Zhingre AE, Peralta WS, Salazar ZK, Heredia FR. Genotipos del Virus del Papiloma Humano en citología alterada del cuello uterino. *Vive Rev Salud* [Internet]. 2022 [citado 12 de Mayde 2022]; 5(14), 565-572. Disponible en: <http://www.scielo.org.bo/pdf/vrs/v5n14/a22-565-572.pdf>
35. Monteiro JC, Tsutsumi MY, de Carvalho DO, da Silva E, Feitosa RN, Laurentino RV, et al. Prevalence, Diversity, and Risk Factors for Cervical HPV Infection in Women Screened for Cervical Cancer in Belém, Pará, Northern Brazil. *Pathogens* [Internet]. 2022 [citado 14 de Mayde 2022]; 11: 960. DOI: <https://doi.org/10.3390/pathogens11090960>
36. Osorio J, Pérez M, Montoya C, Cardona F. Características citológicas previas al diagnóstico de cáncer de cérvix en mujeres de Medellín (Colombia). *Univ salud* [Internet]. 2020 [citado 10 de Jun de 2022]; 22(3):231-237. DOI: <https://doi.org/10.22267/rus.202203.195>
37. Soria JR. Factores ginecológicos asociados a cáncer de cuello uterino en pacientes ambulatorios del Hospital II Essalud Pucallpa en el periodo 2017. Tesis Especialidad Médico Cirujano. Universidad Nacional de Uyacali. Pucallpa-Perú [Internet]. 2021 [citado 12 de Sep de 2022]. Disponible en: [http://repositorio.unu.edu.pe/bitstream/handle/UNU/4745/UNU\\_MEDICINA\\_2021\\_T\\_JOAO-SORIA.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.unu.edu.pe/bitstream/handle/UNU/4745/UNU_MEDICINA_2021_T_JOAO-SORIA.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
38. Betancourt C. Virus del papiloma humano y cáncer de cuello uterino. Tesis Especialidad en Farmacia, Universidad de La Laguna, España [Internet]. 2021



[citado 10 de Jul de 2022]. Disponible en:

<https://riull.ull.es/xmlui/bitstream/handle/915/24063/Virus%20del%20papiloma%20humano%20y%20cancer%20de%20cuello%20uterino.%20.pdf?sequence=1>

39. Ruiz KJR, Rivas AAC, Bayas SEB, Yagual SAC. Virus del papiloma humano y su relación con el cáncer de cérvix. RECIMUNDO [Internet]. 2022 [citado 10 de Oct de 2022]; 6(2): 346-354. Disponible en:

<https://recimundo.com/index.php/es/article/download/1576/2042>

40. Damian MC, Soxo RI, Cazar MJ. Infección por el virus del papiloma humano y cáncer de cuello uterino. Pol Con [Internet]. 2022 [citado 10 de Oct 2022]; 7(6): 856-867. Disponible en:

<https://www.polodelconocimiento.com/ojs/index.php/es/article/download/4108/9629>

41. Ortiz JS, Llanos LC, Ortega MPC, Gómez RD. Factores de riesgo del cáncer de cuello uterino. Mediciencias UTA [Internet]. 2021 [citado 8 de Abr de 2022]; 5(2): 8-14. Disponible en:

<https://revistas.uta.edu.ec/erevista/index.php/medi/article/download/1079/999>

42. Mendoza KJ, Vilchez L, Buendia RE. Factores de riesgo asociados a cáncer de cuello uterino en pacientes atendidas en el instituto regional de enfermedades neoplásicas centro, Concepción, Junín, 2021. Tesis Especialidad Medicina. Perú [Internet]. 2021 [citado 20 Febde 2022] Disponible en:

[repositorio.unac.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12952/6335/TESIS\\_2DAESP\\_MENDOZA\\_VILCHEZ\\_BUENDIA\\_FCS\\_2021.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://repositorio.unac.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12952/6335/TESIS_2DAESP_MENDOZA_VILCHEZ_BUENDIA_FCS_2021.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

43. Heredia D, Fernández D, Herrera M, López LG, Estévez L, Santana S, González E. Influencia de factores de riesgo e indicadores oxidativos en la salud sexual femenina. IV Convención Nacional de Salud. Cuba Salud 2022 [Internet]. 2022 [citado 25 de Oct de 2022]. Disponible en: <https://convencionsalud.sld.cu/index.php/convencionsalud22/2022/paper/download/495/170>
44. Brito ADE, Roca AAE. La susceptibilidad individual como determinante de la salud de las personas. Rev cuba med [Internet]. 2018 [citado 15 de Ene de 2022]; 57(2): 1-12. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/revcubmed/cm-2018/cm182i.pdf>
45. Kwok AJ, Mentzer A, Knight JC. Host genetics and infectious disease: new tools, insights and translational opportunities. Nature Reviews Genetics [Internet]. 2021 [citado 12 de Febde 2022]; 22(3): 137-153. Disponible en: <https://www.nature.com/articles/s41576-020-00297-6>
46. Yang L, Yang Y, Meng M, Wang W, He S, Zhao Y, Hou Z. Identification of prognosis-related genes in the cervical cancer immune microenvironment. Gene [Internet]. 2021 [citado 13 de Mar de 2022]; 766: 145119. Disponible en: <https://assets.researchsquare.com/files/rs-16157/v1/5b0bc6ca-2b65-443d-af33-c8a6c1cc3ab6.pdf?c=1631831419>
47. de Moura EL, Dos Santos ACM, da Silva DM, Dos Santos BB, Figueredo DD S, Moura AWA, et al. Association of polymorphisms in cytokine genes with susceptibility to precancerous lesions and cervical cancer: a systematic review

- with meta-analysis. *Immunol Invest* [Internet]. 2021 [citado 15 de Mar de 2022]; 50(5): 492-526. DOI: <https://doi.org/10.1080/08820139.2020.1778023>
48. Santaclara Maneiro V. Factores genéticos pronósticos y de susceptibilidad en el cáncer de cuello de útero. Tesis Doctoral en Ciencias de la Salud. Universidad Católica de Murcia, España [Internet]. 2022 [citado 10 de Ene de 2023]. Disponible en: <https://repositorio.ucam.edu/bitstream/handle/10952/5726/Tesis.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
49. Bowden SJ, Bodinier B, Kalliala I, Zuber V, Vuckovic D, Doulgeraki T, et al. Genetic variation in cervical preinvasive and invasive disease: a genome-wide association study. *Lancet Oncol* [Internet]. 2021 [citado 10 de May de 2022]; 22(4): 548-557. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(21\)00028-0](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(21)00028-0)
50. Kamal M, Lameiras S, Deloger M, Morel A, Vacher S, Lecerf C, et al. Human papilloma virus (HPV) integration signature in Cervical Cancer: identification of MACROD2 gene as HPV hot spot integration site. *Br J Cancer* [Internet]. 2021 [citado 18 de Abr de 2022]; 124(4): 777-785. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7884736/>
51. Muñoz JO, Carrillo A, Lizano M. Epidemiology and Molecular Biology of HPV Variants in Cervical Cancer: The State of the Art in Mexico. *Int J Mol Sci* [Internet]. 2022 [citado 10 de Oct de 2022]; 23(15): 8566. Disponible en: <https://www.mdpi.com/1422-0067/23/15/8566/pdf>
52. Negri E, La Vecchia C, Bosetti C, Franceschi S, Parazzini F. Risk of cervical cancer in women with a family history of breast and female genital tract

- neoplasms. *Int J Cancer* [Internet]. 2005 [citado 20 de Jul de 2022]; 117(5): 880-881. Disponible en:  
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/ijc.21211>
53. Wang S, Ding B, Cui M, Yan W, Xia Q, Meng D, et al. Fanconi Anemia Pathway Genes Advance Cervical Cancer via Immune Regulation and Cell Adhesion. *Front Cell Dev Biol* [Internet]. 2021 [citado 23 de Jul de 2022]; 9: 734794. Disponible en:  
<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fcell.2021.734794/full>
54. Tejada HR. Asociación entre polimorfismos rs1048943 y rs4646903 del gen CYP1a1 y cáncer cervical: Revisión sistemática. Tesis Especialidad Médico Cirujano. Universidad Católica Santo Toribio de Mogrovejo, Perú [Internet]. 2022 [citado 8 de Sep de 2022] Disponible en:  
[https://tesis.usat.edu.pe/bitstream/20.500.12423/4645/1/TL\\_TejadaDiazHeysi.pdf](https://tesis.usat.edu.pe/bitstream/20.500.12423/4645/1/TL_TejadaDiazHeysi.pdf)
55. Das AP, Saini S, Agarwal SM. A comprehensive meta-analysis of non-coding polymorphisms associated with precancerous lesions and cervical cancer. *Genomics* [Internet]. 2022 [citado 12 Octde 2022];114(3): 110323. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0888754322000684>
56. Arfin S, Jha NK, JhaSK, Kesari KK, Ruokolainen J, Roychoudhury S, et al. Oxidative stress in cancer cell metabolism. *Antioxidants* [Internet]. 2021 [citado 20 de Mar de 2022];10(5): 642. Disponible en: [https://mdpi-res.com/d\\_attachment/antioxidants/antioxidants-10-00642/article\\_deploy/antioxidants-10-00642-v2.pdf?version=1619684212](https://mdpi-res.com/d_attachment/antioxidants/antioxidants-10-00642/article_deploy/antioxidants-10-00642-v2.pdf?version=1619684212)

57. Zahra KF, Lefter R, Ali A, Abdellah EC, Trus C, Ciobica A, et al. The involvement of the oxidative stress status in cancer pathology: a double view on the role of the antioxidants. *Oxidative Med Cell Longev* [Internet]. 2021 [citado 3 Junde 2022]; 2021. Disponible en: <https://downloads.hindawi.com/journals/omcl/2021/9965916.pdf>
58. Caliri AW, Tommasi S, Besaratinia A. Relationships among smoking, oxidative stress, inflammation, macromolecular damage, and cancer. *Mutat Res* [Internet]. 2021 [citado 20 de Mar de 2022];787: 108365. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8287787/>
59. Jelic MD, Mandic AD, Maricic SM, Srdjenovic BU. Oxidative stress and its role in cancer. *J Cancer Res Ther* [Internet]. 2021 [citado 20 de Mar de 2022];17(1): 22. Disponible en: [https://www.cancerjournal.net/temp/JCanResTher17122-614526\\_170412.pdf](https://www.cancerjournal.net/temp/JCanResTher17122-614526_170412.pdf)
60. Zahra K, Patel S, Dey T, Pandey U, Mishra SP. A study of oxidative stress in cervical cancer-an institutional study. *Biochem Biophys Rep* [Internet]. 2021 [citado 23 de Mar de 2022]; 25: 100881. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbrep.2020.100881>
61. Manoharan S, Kolanjiappan K, Kayalvizhi M, Sethupathy S. Lipid peroxidation and antioxidant status in cervical cancer patients. *J Biochem Mol Biol Biophys* [Internet]. 2002 [citado 26 de Mar de 2022]; 6(3):225-7. DOI: [10.1080/10258140290018685](https://doi.org/10.1080/10258140290018685)
62. Shrivastava A, Mishra SP, Pradhan S, Choudhary S, Singla S, Zahra K, et al. An assessment of serum oxidative stress and antioxidant parameters in

- patients undergoing treatment for cervical cancer. *Free Radic Biol Med* [Internet]. 2021 [citado 23 de Mar de 2022]; 167: 29-35. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0891584921001350>
63. Ebrahimi S, Soltani A, Hashemy SI. Oxidative stress in cervical cancer pathogenesis and resistance to therapy. *J Cell Biochem* [Internet]. 2019 [citado 27 de Mar de 2022];120(5): 6868-6877. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/jcb.28007>
64. Nakanishi G, Bertagnolli LS, Pita Oliveira M, Scudeler MM, Torres Loureiro S, Almeida Dantas T, et al. GSTM1 and GSTT1 polymorphisms in Healthy Volunteers—a worldwide systematic review. *Drug Metab Rev* [Internet]. 2022 [citado 13 de Oct de 2022]; 54(1): 37-45. Disponible en: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/03602532.2022.2036996>
65. Nakanishi G, Pita Oliveira M, Bertagnolli LS, Torres Loureiro S, Scudeler MM, Cirino HS, et al. Worldwide Systematic Review of GSTM1 and GSTT1 Null Genotypes by Continent, Ethnicity, and Therapeutic Area. *OMICS* [Internet]. 2022 [citado 13 de Oct de 2022]. Disponible en: <https://www.liebertpub.com/doi/abs/10.1089/omi.2022.0090>
66. Heredia D, Herrera M, Fernández D, López LG. Asociación entre polimorfismos de Glutation s-transferasa y cáncer cérvico uterino. *Rev Cub Obst y Ginecol* [Internet]. 2017 [citado 9 de Nov de 2021]; 43 (3): 163-172. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/revcubobsgin/cog-2017/cog173q.pdf>

67. Matlašaityte K. The Investigation of Associations between Glutathione-S-Transferase Gene Polymorphisms and Cervical Cancer Prognosis. Master Thesis. Lithuanian University of Health and Sciences [Internet]. 2021 [citado 13 de Oct de 2022]. Disponible en:  
[https://lsmu.lt/cris/bitstream/20.500.12512/110661/1/The%20Investigation%20of%20Associations%20between%20Glutathione-S-Transferase%20Gene%20Polymorphisms%20and%20Cervical%20Cancer%20Prognosis\\_Kamile%20Matlasaityte.pdf](https://lsmu.lt/cris/bitstream/20.500.12512/110661/1/The%20Investigation%20of%20Associations%20between%20Glutathione-S-Transferase%20Gene%20Polymorphisms%20and%20Cervical%20Cancer%20Prognosis_Kamile%20Matlasaityte.pdf)
68. Bortolli APR, Vieira VK, Treco IC, Pascotto CR, Wendt GW, Lucio LC. GSTT1 and GSTM1 polymorphisms with human papillomavirus infection in women from southern Brazil: a case–control study. Mol Biol Rep [Internet]. 2022 [citado 18 de Oct de 2022]: 1-8. Disponible en:  
<https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/s11033-022-07475-1.pdf>
69. Ye J, Mu YY, Wang J, He XF. Individual effects of GSTM1 and GSTT1 polymorphisms on cervical or ovarian cancer risk: An updated meta-analysis. Front Genet [Internet]. 2022 [citado 7 de Feb de 2023]; 13: 1074570. DOI:  
[10.3389/fgene.2022.1074570](https://doi.org/10.3389/fgene.2022.1074570)
70. Espinoza H, Ha KT, Pham TT, Espinoza JL. Genetic Predisposition to Persistent Human Papillomavirus-Infection and Virus-Induced Cancers. Microorganisms [Internet]. 2021 [citado 11 de Feb de 2022]; 9(10): 2092. Disponible en: <https://www.mdpi.com/2076-2607/9/10/2092>
71. Zhou C, Tuong ZK, Frazer IH. Papillomavirus immune evasion strategies target the infected cell and the local immune system. Front Oncol [Internet]. 2019

[citado 11 de Feb de 2022]; 9: 682. Disponible en:

<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fonc.2019.00682/full>

72. Stanley M. Host defence and persistent human papillomavirus infection. *Curr Opin Virol* [Internet]. 2021 [citado 13 de Mar de 2022]; 51: 106-110. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.coviro.2021.09.010>
73. Pal A, Kundu R. Human papillomavirus E6 and E7: the cervical cancer hallmarks and targets for therapy. *Front Microbiol* [Internet]. 2020 [citado 13 de Mar de 2022]; 10: 3116. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2019.03116/full>
74. Vats A, Trejo-Cerro O, Thomas M, Banks L. Human papillomavirus E6 and E7: What remains?. *Tumour Virus Res* [Internet]. 2021 [citado 15 de Mar de 2022]; 11: 200213. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2666679021000033?via%3Dihub>
75. Albulescu A, Plesa A, Fudulu A, Iancu IV, Anton G, Botezatu A. Epigenetic approaches for cervical neoplasia screening. *Exp Ther Med* [Internet]. 2021 [citado 10 de Jul de 2022]; 22(6): 1-14. Disponible en: <https://www.spandidos-publications.com/10.3892/etm.2021.10916/download>
76. Zhu H, Zhu H, Tian M, Wang D, He J, Xu T. DNA methylation and hydroxymethylation in cervical cancer: diagnosis, prognosis and treatment. *Front Genet* [Internet]. 2020 [citado 10 de Jul de 2022]; 11: 347. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fgene.2020.00347/full>



77. Lupi LA, Cuciello MS, Silveira HS, Gaiotte LB, Cesário RC, Seiva FR, et al. The role of Toll-like receptor 4 signaling pathway in ovarian, cervical, and endometrial cancers. *Life Sci* [Internet]. 2020 [citado 10 de Feb de 2022]; 247: 117435. Disponible en:  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0024320520301831>
78. Sun X, Liu Y. Activation of the Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway may contribute to cervical cancer pathogenesis via upregulation of Twist. *Oncol Lett* [Internet]. 2017 [citado 10 de Feb de 2022]; 14(4): 4841-4844. Disponible en:  
<https://www.spandidos-publications.com/ol/14/4/4841#>
79. Morgan EL, Macdonald A. Autocrine STAT3 activation in HPV positive cervical cancer through a virus-driven Rac1—NF $\kappa$ B—IL-6 signalling axis. *PLoS Pathog* [Internet]. 2019 [citado 10 de Feb de 2022]; 15(6): e1007835. Disponible en:  
<https://journals.plos.org/plospathogens/article?id=10.1371/journal.ppat.1007835>
80. Zhang W, Zhou Q, Wei Y, Da M, Zhang C, Zhong J, et al. The exosome-mediated PI3k/Akt/mTOR signaling pathway in cervical cancer. *Int J Clin Exp Pathol* [Internet]. 2019 [citado 10 de Feb de 2022]; 12(7): 2474-2484. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6949546/>
81. Abrahantes A, Oliver M, González M, Rodríguez K, Muñoz O, Castro A. Cáncer cérvicouterino. Algo para reflexionar. *Medisur* [Internet]. 2019 [citado 22 de May de 2020]; 17(6): 9. Disponible en:  
<http://www.medisur.sld.cu/index.php/medisur/article/view/4446>

82. Bravo E, Águila N, Guerra D, Blanco Y, Rodríguez O, Oliva M. Cáncer cérvico uterino: prevención y tratamiento. *Medisur* [Internet]. 2020 [citado 8 de Feb de 2022]; 18(4): 685-693. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/ms/v18n4/1727-897X-ms-18-04-685.pdf>
83. Enciso J. Implementación de la estrategia de tamizaje y tratamiento, en la prevención de lesiones pre-malignas de cérvix uterino en un Centro de Atención Primaria. Tesis 2da Especialidad Medicina Familiar. Universidad Científica del Sur. Perú [Internet]. 2021 [citado 16 Feb de 2022]. Disponible en: <https://repositorio.cientifica.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12805/1882/TE-Enciso%20J.pdf?sequence=1>
84. Diaz LM, Brynedal B, Westerlind H, Sandberg R, Ramsköld D. Understanding interactions between risk factors, and assessing the utility of the additive and multiplicative models through simulations. *PLoS ONE* [Internet]. 2021 [citado 10 de Oct de 2022]; 16(4): e0250282. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0250282>
85. Bohorquez R, Rincón B, Martínez R. Sedentarismo y Sobrepeso/Obesidad asociados a la prevalencia de infección por Virus de Papiloma Humano de alto riesgo en mujeres de la zona norte de Bucaramanga. *Rev Univ Ind Santander Salud* [Internet]. 2019 [citado 12 de Sep de 2022]; 51(1): 59-68. DOI: <http://dx.doi.org/10.18273/revsal.v51n1-2019007>
86. Runggay H, Shield K, Charvat H, Ferrari P, Sornpaisarn B, Obot I. Global burden of cancer in 2020 attributable to alcohol consumption: a population-

based study. Lancet Oncol [Internet]. 2021 [citado 20 de Ago de 2022]; 22(8):

1071-1080. Disponible en:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1470204521002795>

87. Sánchez-Díaz A. Biología molecular y riesgo genético de presentar un cáncer ginecológico. In González-Merlo Ginecología. 10ma ed. González E, González J (eds.). Barcelona, España [Internet]. 2020 [citado 10 de Abr de 2022]: 393.

Disponible en:

[https://books.google.com.cu/books?hl=es&lr=&id=tMzpDwAAQBAJ&oi=fnd&pg=PA393&dq=+c%C3%A1ncer+ginecológico+hereditario&ots=w8qBCDwaHi&sig=MpCO6Fxt9XqvDCVc6NdvenLQDIA&redir\\_esc=y#v=onepage&q=c%C3%A1ncer%20ginecológico%20hereditario&f=false](https://books.google.com.cu/books?hl=es&lr=&id=tMzpDwAAQBAJ&oi=fnd&pg=PA393&dq=+c%C3%A1ncer+ginecológico+hereditario&ots=w8qBCDwaHi&sig=MpCO6Fxt9XqvDCVc6NdvenLQDIA&redir_esc=y#v=onepage&q=c%C3%A1ncer%20ginecológico%20hereditario&f=false)

88. Rojas NH, Cisnero YC. Factores de riesgo asociados a la neoplasia intraepitelial cervical en el Policlínico Ramón López Peña. Rev cuba obstet ginecol [Internet]. 2021 [citado 3 de Mar de 2022]; 47(2). Disponible en:

<http://revginecobstetricia.sld.cu/index.php/gin/article/download/783/713>

89. Burgos MP, Vizuela JJ. Factores de riesgo predictivos en el desarrollo de cáncer de cuello uterino Hospital Teodoro Maldonado Carbo. Tesis Especialidad de Medicina General. Universidad de Guayaquil. Ecuador [Internet]. 2019 [citado 18 de Feb de 2022]. Disponible en:

<http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/43659/1/CD%202827-%20BURGOS%20RUIZ%20MERY%20PASTORA%2C%20VIZUELA%20DIAZ%20JONATHAN%20JAVIER.pdf>

90. Ramos D, Lorié LE, González A. Factores de riesgo de lesiones premalignas del cérvix en edad reproductiva. Policlínico Omar Ranedo 2020. IV Convención Internacional de Salud. Cuba Salud 2022 [Internet]. 2022 [citado 18 de Sep de 2022]. Disponible en:  
<https://convencionsalud.sld.cu/index.php/convencionsalud22/2022/paper/viewFile/466/1621>
91. Velázquez C, Kawabata A, Rios González CM. Prevalencia de lesiones precursoras de cáncer de cuello uterino y antecedentes sexuales/reproductivos de indígenas de Caaguazú, Paraguay 2015-2017. Rev Salud Pública Parag [Internet]. 2018 [citado 8 de Mar de 2022]; 8 (2): 15-20. Disponible en:  
[http://scielo.iics.una.py/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2307-33492018000200015](http://scielo.iics.una.py/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2307-33492018000200015)
92. Villafuerte J, Hernández Y, Ayala Z, Naranjo L, González J, Brito M. Aspectos bioquímicos y factores de riesgo asociados con el cáncer cervicouterino. Rev Finlay [Internet]. 2019 [citado el 8 Mar de 2022]; 9(2):aprox. 8. Disponible en:  
<http://www.revfinlay.sld.cu/index.php/finlay/article/view/635>
93. Ejecutivo C. Acelerar la eliminación del cáncer del cuello uterino como problema mundial de salud pública: informe del Director General. No. EB146/9. OMS [Internet]. 2020 [citado 5 de May de 2022]. Disponible en:  
[https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/355968/B146\\_9-sp.pdf?sequence=1](https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/355968/B146_9-sp.pdf?sequence=1)

94. Marcheco B, Fuentes E, Marín PLC, Gómez CE. Cuba: Estudio de la historia del mestizaje y de las bases genéticas de la pigmentación de la piel utilizando marcadores autosómicos y uniparentales. An Acad Cienc Cuba [Internet]. 2015 [citado 20 enero de 2023]; 5 (3). Disponible en:<http://www.revistaccuba.sld.cu/index.php/revacc/article/viewFile/298/298>
95. González DE. El color de la piel según el Censo de Población y Viviendas de 2012. ONEI [Internet]. 2016 [citado 12 de Nov de 2022]. Disponible es: [http://www.onei.gob.cu/sites/default/files/publicacion\\_completa\\_color\\_de\\_la\\_piel\\_0.pdf](http://www.onei.gob.cu/sites/default/files/publicacion_completa_color_de_la_piel_0.pdf)
96. de las Mercedes L, Petiny M. El cáncer del cuello uterino en los objetivos de desarrollo sostenible. In Cibamanz 2021 [Internet]. 2021 [citado 9 de May de 2022]. Disponible en: <https://cibamanz2021.sld.cu/index.php/cibamanz/cibamanz2021/paper/viewFile/708/458>
97. Arrivillaga M, Ruiz DM, Medina M. Atención en salud de mujeres con lesiones precursoras de cáncer de cuello uterino: evidencia cualitativa de la fragmentación del sistema de salud en Colombia. Rev gerenc políticas salud [Internet]. 2019 [citado 5 de May de 2022]; 18(37): 1-20. Disponible en: [https://revistas.javeriana.edu.co/files-articulos/RGPS/18-37%20\(2019-II\)/54561490009/](https://revistas.javeriana.edu.co/files-articulos/RGPS/18-37%20(2019-II)/54561490009/)
98. Ferreccio C. New strategies for the prevention and control of cervical cancer in Chile. Salud pública Méx [Internet]. 2019 [citado 5 de May de 2022]; 60(6): 713-

721. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/salpubmex/sal-2018/sal186o.pdf>
99. de Buen SP, Villalba AIF, Lapuente JM, Sánchez MR, Cuartero MD, Castillo AG. El virus del papiloma humano en la adolescencia y su vacunación. Rev sanit investig [Internet] 2021 [citado 4 de Abr de 2022]; 2(12): 319. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=8277671>
100. Camargo-Pinzón SM. Asociación del Virus del Papiloma Humano con la presencia de dos infecciones de transmisión sexual en mujeres colombianas. Tesis Doctoral en Ciencias Biomédicas y Biológicas, Universidad del Rosario [Internet]. 2020 [citado 25 de Mar de 2022]. Disponible en: <https://repository.urosario.edu.co/handle/10336/30752>
101. Sequera M, Matamoros A, Mendoza León MJ. Genotipos de VPH y cambios citológicos cervico-uterino en pacientes de una consulta ginecológica privada del Estado Carabobo, Venezuela. Marzo-octubre de 2017. Rev med Risaralda [Internet]. 2020 [citado 28 de Abr de 2022]; 26(1): 28-37. Disponible en: [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0122-06672020000100028](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0122-06672020000100028)
102. Erazo Luna EV, Velásquez Lopera MM. Respuesta inmunológica al virus del papiloma humano. Dermatol Rev Mex [Internet]. 2019 [citado 5 de Jul de 2022]: 40-59. Disponible en: <https://smdac.org.mx/wp-content/uploads/2019/02/dermaENE-FEB2019completo-ca-o-1.pdf#page=61>
103. Cárdenas R, Pérez D, Cruz RJ, Torres KL, Pérez JA. Caracterización de mujeres de Las Tunas con lesiones cérvico uterinas. Rev electrón Dr. Zoilo E.

- Marinello Vidaurreta [Internet]. 2017 [citado 5 de Ene de 2022]; 41(12).  
Disponible en: <http://revzoilomarinello.sld.cu/index.php/zmv/article/view/953>.
104. Elizabeth ZJR, Jorge YM, Adrián PH. Relación entre citología, biopsia y colposcopía en Cáncer cérvico uterino. Rev méd panacea [Internet]. 2019 [citado 19 de May de 2022]; 8(1). Disponible en:  
<https://revistas.unica.edu.pe/index.php/panacea/article/download/13/13>
105. Pérez R, Cordero Y, del Río T. Mujeres fumadoras y su asociación con atipia del cérvix uterino en Las Tunas. Rev méd sinerg [Internet]. 2019 [citado 7 de May de 2022]; 4 (7): e258. DOI: <https://doi.org/10.31434/rms.v4i7.258>
106. Feng R, Shang Ying Hu, Fang Hui Zhao. Role of active and passive smoking in high-risk human papillomavirus infection and cervical intraepithelial neoplasia grade 2 or worse. J Gynecol Oncol [Internet]. 2017 [citado el 10 de May de 2022]; 28(5): e47. Disponible en:  
<https://synapse.koreamed.org/articles/1093833>
107. Informe de cáncer en el mundo por consumo de alcohol. NCI [Internet]. 2021 [citado 10 de Jul de 2022]. Disponible en:  
<https://www.cancer.gov/espanol/noticias/temas-y-relatos-blog/2021/cancer-en-el-mundo-consumo-alcohol>
108. Ramachandran, B. Functional association of oestrogen receptors with HPV infection in cervical carcinogenesis. Endocr - Relat Cancer [Internet]. 2017 [citado 15 de Abr de 2022]; 24(4): R99-R108. Disponible en:  
<https://erc.bioscientifica.com/view/journals/erc/24/4/R99.xml>

109. Norenhag J, Du J, Olovsson M, Verstraelen H, Engstrand L, Brusselaers N. The vaginal microbiota, human papillomavirus and cervical dysplasia: a systematic review and network meta-analysis. BJOG [Internet]. 2019 [citado 9 de Sep de 2022]; 127 (2): 171-180. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/1471-0528.15854>
110. Shrivastava A, Pradhan S, Mishra SP, Asthana AK, Choudhary S, Zahra K, et al. Serum vitamin A, E and C status in cervical cancer patients undergoing Concurrent Chemo-Radiotherapy, an institutional study. J Nutr Intermed Metab [Internet]. 2019 [citado 3 de May de 2022]; 18:100107. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2352385919300234>
111. Vintimilla SA, Flores MA. Vitamina C y su acción en células cancerígenas. Rev inf cient [Internet]. 2022 [citado 3 de Oct de 2022]; 101(2). Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S1028-99332022000200014&script=sci\\_arttext&lng=en](http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S1028-99332022000200014&script=sci_arttext&lng=en)
112. Acevedo OG, Ugalde PZ, García VG, de León LD, Hernández DG. Ingesta de antioxidantes y su asociación a Cáncer Cervicouterino en mujeres de un Sistema Universitario. RESPYN [Internet]. 2020 [citado 3 de May de 2022]; 19(1): 23-32. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/revsalpubnut/spn-2020/spn201c.pdf>
113. Wichmann IA, Cuello MA. Obesity and gynecological cancers: A toxic relationship. Int J Gynecol Obstet [Internet]. 2021 [citado 14 de May de 2022]; 155(Supl 1): 123-134. DOI: <https://doi.org/10.1002/ijgo.13870>



114. Lee DY, Lee TS. Associations between metabolic syndrome and gynecologic cancer. *Obstet Gynecol Sci* [Internet]. 2020 [citado 11 de Sep de 2022]; 63(3): 215-224. Disponible en:  
<https://www.ogscience.org/journal/view.php?doi=10.5468/ogs.2020.63.3.215>
115. Pourvakhshoori N, Khankeh HR, Stueck M. The association between air pollution and cancers: controversial evidence of a systematic review. *Environ Sci Pollut Res* [Internet]. 2020 [citado 7 de Ago de 2022]; 27: 38491-38500  
DOI: <https://doi.org/10.1007/s11356-020-10377-z>
116. Bazyar J, Pourvakhshoori N, Khankeh H, Farrokhi M, Delshad V, Rajabi E. A comprehensive evaluation of the association between ambient air pollution and adverse health outcomes of major organ systems: a systematic review with a worldwide approach. *Environ Sci Pollut Res Int* [Internet]. 2019 [citado 7 de Ago de 2020]; 26:12648 - 12661. Disponible en:  
<https://link.springer.com/article/10.1007/s11356-019-04874-z>
117. Hu W, Wang Y, Wang T, Ji Q, Jia Q, Meng T, et al. Ambient particulate matter compositions and increased oxidative stress: Exposure-response analysis among high-level exposed population. *Environ Int* [Internet]. 2021 [citado 10 de Ago de 2022]; 147: 106341. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.envint.2020.106341>
118. Alonso L, Hernández JR, Ugalde M, Reyes M, et al. Factores de riesgo del cáncer cérvico uterino en adolescentes de la Universidad de Ciencias Médicas de Matanzas. *Rev Med Electrón* [Internet]. 2021 [citado 7 de Abr de 2022]; 43(1): 2784-2794. Disponible en:

[http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1684-](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1684-)

[18242021000102784&lng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1684-18242021000102784&lng=es). Epub 28-Feb-2021

119. Del Pazo R, Lukaszuk B, Leite M, Iribas JL. Detección de la infección por virus papiloma humano en hombres: Penoscopía como método de cribado. Rev argent dermatol [Internet]. 2008 [citado 9 de Abr de 2022]; 89(3): 146-152. Disponible en: <http://www.scielo.org.ar/pdf/rad/v89n3/v89n3a03.pdf>
120. Malave JR, Bermello IA, Cárdenas KG, Guerrero CM, Recalde JV, Santana OL. Factores de riesgo que inciden para la presencia del cáncer cervicouterino. Rev Científica Dom Cien [Internet]. 2019 [citado 3 de Feb de 2021]; 5(2): [Aprox. 7 p.]. DOI: <http://dx.doi.org/10.23857/dom.cien.pocaip.2019.vol.5.n.2.363-375>
121. Huertas Gastiaburu JE. Factores asociados a cáncer de cuello uterino en mujeres atendidas en servicio de gineco obstetricia Hospital Santa Rosa-Piura 2017-2020. Tesis Especialidad Médico Cirujano, Universidad César Vallejo. Piura-Perú [Internet]. 2021 [citado el 10 de Jul de 2022] Disponible en: [https://repositorio.ucv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12692/74967/Huertas\\_GJE-SD.pdf?sequence=1](https://repositorio.ucv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12692/74967/Huertas_GJE-SD.pdf?sequence=1)
122. Ramos M, Moreno M, Callejas D, Téllez L. Virus papiloma humano, infecciones de transmisión sexual y microbioma vagino cervical en el desarrollo de lesiones premalignas y malignas del cuello uterino. Invest Clin [Internet]. 2019 [citado 7 de Ago de 2022]; 60(4): 336 - 351. DOI: <https://doi.org/10.22209/IC.v60n4a07>

123. Quispe LA. Factores de riesgo asociados a citología cervical anormal en mujeres atendidas en el servicio de ginecología y obstetricia del Centro de Salud Materno Infantil Tambo Viejo de octubre 2020-octubre 2021. Tesis Especialidad Médico Cirujano, Universidad Ricardo Palma. Lima-Perú [Internet]. 2022 [citado el 5 de Sep de 2022] Disponible en: <https://repositorio.urp.edu.pe/bitstream/handle/20.500.14138/5455/MED-Quispe%20Llanos,%20Luz%20Angela%20.pdf?sequence=1>
124. Skorstengaard M, Suhr J, Lynge E. Condom use to enhance regression of cervical intraepithelial neoplasia: study protocol for a randomized controlled trial. *Trials* [Internet]. 2019 [citado 9 de Abr de 2022]; 20(1):473. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1186/s13063-019-3564-4>
125. Velázquez-Ramírez N. Cancer and contraception. *Ginecol Obstet Mex* [Internet]. 2020 [citado 9 de Abr de 2022]; 88(Supl 1): S156-S162. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/ginobsmex/gom-2020/goms201p.pdf>
126. Ríos PA, Montoya ID. Efectos secundarios de los componentes activos de las píldoras anticonceptivas en el cáncer de cuello uterino. Tesis Especialidad de Medicina, Universidad de Cartagena. Colombia [Internet]. 2020 [citado 9 de Abr de 2022]. Disponible en: <http://repositorio.unisinucartagena.edu.co:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/362/Efectos%20secundarios%20de%20%20los%20componentes%20activos%20de%20las%20p%C3%ADldoras%20anticonceptivas%20en%20el%20c%C3%A1ncer%20de%20cuello%20uterino.pdf?sequence=1>

127. Vásquez-Awad D, Ospino AM. Anticonceptivos orales combinados. Ginecol Obstet Mex [Internet]. 2020 [citado 9 de Abr de 2022]; 88(Supl.1): S13- S31. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/ginobsmex/gom-2020/goms201d.pdf>
128. Pérez A, Gonzáles IZ, Rodríguez RL, Terrero L. Agregación familiar para cáncer de cuello uterino. Rev Cubana Med Gen Integ [Internet]. 2019 [citado 16 de Jul de 2022]; 35(4): e881 Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/revcubmedgenint/cmi-2019/cmi194a.pdf>
129. Chuco GA. Epidemiología del carcinoma del cuello uterino. Rev Elect Portales Médicos [Internet]. 2009 [citado el 20 de Mar del 2022]; (10). Disponible en: <http://www.geosalud.com/Cancerpacientes/epicancercervical.htm>
130. Blanco I, Lara B. Déficit de alfa-1 antitripsina: fisiopatología, enfermedades relacionadas, diagnóstico y tratamiento. Barcelona: Editorial Respira-Fundación Española del Pulmón-SEPAR, 2ª ed. [Internet]. 2016 [citado el 18 de Mar de 2022]. Disponible en: <https://issuu.com/separ/docs/libro-daat>
131. Buenfil JA. Asociación de polimorfismos " 5" y" 2" de alfa-1-antrispina y TNF-alfa-308> A con lesiones intraepitiales y CACU del hospital Universitario UANL. Tesis Especialidad en Ginecología y Obstetricia. Universidad Autónoma de Nuevo León. México [Internet]. 2016 [citado 18de Mar de 2022]. Disponible en: <http://eprints.uanl.mx/17403/1/TESIS%20DR.%20JOS%C3%89%20ANTONIO%20BUENFIL%20LOZANO.pdf>

132. Sagaró del Campo NM, Zamora L. Técnicas estadísticas multivariadas para el estudio de causalidad en Medicina. Rev Ciencias Médicas [Internet]. 2020 [citado 10 de Sep de 2022]; 24(2): e4029. Disponible en: <http://revcmpinar.sld.cu/index.php/publicaciones/article/view/4029>
133. Su B, Qin W, Xue F, Wei X, Guan Q, Jiang, et al. The relation of passive smoking with cervical cancer: A systematic review and meta-analysis. Medicine [Internet]. 2018 [citado 19 de Abr de 2022]; 97(46). Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6257541/>
134. Palma M, Romero A, Torres A. Factores de riesgo en las lesiones intraepiteliales del cuello uterino. Rev. Finlay [Internet]. 2019 [citado el 15 de Jul del 2021]; 9 (4): 2. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S2221-24342019000400291&script=sci\\_arttext&tlng=en](http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S2221-24342019000400291&script=sci_arttext&tlng=en)
135. Zhang S, Xu H, Zhang L, Qiao Y. Cervical cancer: Epidemiology, risk factors and screening. Chin J Cancer Res [Internet]. 2020 [citado 19 de Abr de 2022]; 32(6): 720. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7797226/>
136. Brandes N, Nathan L, Linial M. Genetic association studies of alterations in protein function expose recessive effects on cancer predisposition. Sci Rep [Internet]. 2021 [citado 19 de Jul de 2022]; 11: 14901. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-94252-y>
137. Rybin AI. Modern look to the risk factors and prevention of cervical cancer. J Educ Health Sport [Internet]. 2020 [citado 19 de Abr de 2022]; 10(9): 965-977. DOI: <http://dx.doi.org/10.12775/JEHS.2020.10.09.116>

138. Jelić M, Mandić A, Kladar N, Sudji J, Božin B, Srdjenović B. Lipid peroxidation, antioxidative defense and level of 8-hydroxy-2-deoxyguanosine in cervical cancer patients. *J Med Biochem* [Internet]. 2018 [citado 23 de May de 2022]; 37(3): 336. Disponible en:  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6298469/>
139. Marklund S, Marklund G. Involvement of the superoxide anion radical in autoxidation of pyrogallol as a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur J Biochem* [Internet]. 1990 [citado 20 de Oct de 2021]; 47: 469-474. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4215654>
140. Aebi H. Catalase. *Methods of Enzymatic Analysis*. New York, Academic Press [Internet]. 1974 [citado 20 de Oct de 2021]; 2: 673-683. DOI:  
<https://doi.org/10.1016/b978-0-12-091302-2.50032-3>
141. Sedlak J, Lindsay RH. Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. *Anal Biochem* [Internet]. 1968 [citado 20 de Oct de 2021]; 25 (1): 192-205. Disponible en:  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0003269768900924>
142. Esterbauer H, Cheeseman KH. Determination of aldehydic lipid peroxidation products: malonaldehyde and 4-hydroxynonenal. *MethEnzymol* [Internet]. 1990 [citado 26 de Nov de 2021]; 186: 407-421. DOI:  
[https://doi.org/10.1016/0076-6879\(90\)86134-H](https://doi.org/10.1016/0076-6879(90)86134-H)
143. Witko-Sarsat V, Friedlander M, Khoa TN, Capeillère-Blandin C, Nguyen AT, et al. Advanced oxidation protein products as novel mediators of inflammation and monocyte activation in chronic renal failure. *J Immunol* [Internet]. 1998

[citado 26 de Nov de 2021]; 161(5): 2524-2532. Disponible en:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9725252>

144. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin-Phenol reagent. J Biol Chem [Internet]. 1951 [citado 26 de Nov de 2021]; 193: 265-275. Disponible en:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14907713>

145. Hayes JD, Dinkova-Kostova AT, Tew KD. Oxidative stress in cancer. Cancer cell [Internet]. 2020 [citado 6 de Jul de 2022]; 38(2): 167-197. Disponible en:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1535610820302749>

146. Klaunig JE, Wang Z. Oxidative stress and carcinogenesis. Curr Opin Toxicol [Internet]. 2018 [citado 6 de Jul de 2022]; 7: 116 - 121. DOI:

<https://doi.org/10.1016/j.cotox.2017.11.014>

147. Georgescu SR, Mitran CI, Mitran MI, Caruntu C, Sarbu MI, Matei C, et al. New insights in the pathogenesis of HPV infection and the associated carcinogenic processes: the role of chronic inflammation and oxidative stress. JIR [Internet]. 2018 [citado 14 de Jul de 2022]; 2018 (ID 5315816): [Aprox. 10 pag]. DOI: <https://doi.org/10.1155/2018/5315816>

148. Samanta D, Semenza GL. Metabolic adaptation of cancer and immune cells mediated by hypoxia-inducible factors. BBA-Reviews on Cancer [Internet]. 2018 [citado 17 de Jul de 2022]; 1870(1): 15-22. DOI:

<https://doi.org/10.1016/j.bbcan.2018.07.002>

149. Preci DP, Almeida A, Weiler AL, Franciosi MLM, Cardoso AM. Oxidative damage and antioxidants in cervical cancer. Int J Gynecol Cancer [Internet].

2021 [citado 17 de Jul de 2022]; 31(2). Disponible en:

[https://www.researchgate.net/profile/Maria-Mukai-Franciosi/publication/344955881\\_Oxidative\\_damage\\_and\\_antioxidants\\_in\\_cervical\\_cancer/links/6288ecb56e41e5002d383fcf/Oxidative-damage-and-antioxidants-in-cervical-cancer.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Maria-Mukai-Franciosi/publication/344955881_Oxidative_damage_and_antioxidants_in_cervical_cancer/links/6288ecb56e41e5002d383fcf/Oxidative-damage-and-antioxidants-in-cervical-cancer.pdf)

150. Tomita K, Takashi Y, Ouchi Y, Kuwahara Y, Igarashi K, Nagasawa T, et al. Lipid peroxidation increases hydrogen peroxide permeability leading to cell death in cancer cell lines that lack mtDNA. *Cancer Sci* [Internet]. 2019 [citado 5 de Feb de 2022]; 110(9): 2856-2866. DOI: <https://doi.org/10.1111/cas.14132>
151. Cruz A, Aranda AK, Ortega AJ, Pedraza J, Mendoza F. Lipid metabolism and oxidative stress in HPV-related cancers. *Free Radic Biol Med* [Internet]. 2021 [citado 5 de Feb de 2022]; 172: 226-236. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2021.06.009>
152. Murata M. Inflammation and cancer. *Environ Health Prev Med* [Internet]. 2018 [citado 17 de Jul de 2022]; 23(1): 1-8. Disponible en: <https://environhealthprevmed.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12199-018-0740-1>
153. Quinn KM, Cox AJ, Roberts L, Pennell EN, McKeating DR, Fisher J, et al. Temporal changes in blood oxidative stress biomarkers across the menstrual cycle and with oral contraceptive use in active women. *Eur J Appl Physiol* [Internet]. 2021 [citado 5 de Feb de 2022]; 121(9): 2607-2620. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00421-021-04734-0>



154. Asthana S, Busa V, Labani S. Oral contraceptives use and risk of cervical cancer-A systematic review & meta-analysis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* [Internet]. 2020 [citado 5 de Feb de 2022]; 247, 163-175. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0301211520300828>
155. Nigar T, Goodman A, Pervin S. Total Antioxidant Capacity and Lipid Peroxidation Status in Cervical Cancer Patients Compared with Women Without Cervical Cancer in Bangladesh. *Indian J Gynecol Oncol* [Internet]. 2021 [citado 10 de Feb de 2022]; 19(4): 1-7. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/s40944-021-00560-6>
156. Li X, Ding L, Song L, Gao W, Wang L, Wang J. Effects of exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons combined with high-risk human papillomavirus infection on cervical intraepithelial neoplasia: A population study in Shanxi Province, China. *Int J Cancer* [Internet]. 2020 [citado 22 de May de 2022]; 146(9): 2406-2412. DOI: <https://doi.org/10.1002/ijc.32562>
157. Latchoumycandane C, Maniradhan M, Mathur PP. Environmental Contaminants, Oxidative Stress, and Reproductive Cancer. In: Chakraborti S, Ray BK, Roychoudhury S (eds). *Handbook of Oxidative Stress in Cancer: Mechanistic Aspects*. Singapore. Springer [Internet]. 2022 [citado 25 de Oct de 2022]: 423-436. DOI: [https://doi.org/10.1007/978-981-15-9411-3\\_34](https://doi.org/10.1007/978-981-15-9411-3_34)
158. Srinivas N, Malla RR, Kumar KS, Sailesh AR. Environmental carcinogens and their impact on female-specific cancers. In: Nagaraju P, Malla R (eds). *A Theranostic and Precision Medicine Approach for Female-Specific Cancers*.

- India. Academic Press [Internet]. 2021 [citado 24 de Ago de 2022]: 249-262.  
DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-822009-2.00015-7>
159. Leelavathi L, Dhanraj Ganapathy. Passive Smoking - An Overview. Int J Dentistry Oral Sci [Internet]. 2021 [citado 8 de Jul de 2022]; 8(7): 3416-3418.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.19070/2377-8075-21000694>
160. Ono A, Koshiyama M, Nakagawa M, Watanabe Y, Ikuta E, Seki K. The preventive effect of dietary antioxidants on cervical cancer development. Medicina [Internet]. 2020 [citado 14 de Feb de 2022]; 56(11): 604. Disponible en: <https://www.mdpi.com/1648-9144/56/11/604/pdf>
161. Singh RR, Reindl KM. Glutathione S-transferases in cancer. Antioxidants [Internet]. 2021 [citado 26 de Jul de 2022]; 10(5): 701. DOI: <https://doi.org/10.3390/antiox10050701>
162. Welsh K, Bunce M. Molecular typing for the MHC with PCR-SSP. Rev Immunogenet [Internet]. 1999 [citado 18 de Ene de 2021]; 1(2): 157-76. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11253945>
163. Chong ETJ, Goh LPW, Png KK, Lee PC. An Improved Protocol for High Quantity and Quality of Genomic DNA Isolation from Human Peripheral Blood. Curr Appl Sci Technol [Internet]. 2021 [citado 18 de Mar de 2022]; 21(3): 445-455. Disponible en: <https://li01.tci-thaijo.org/index.php/cast/article/download/248577/169979>
164. Beray K, Mutlu K, Hakan O, Tahsin Y, Kemal O, Sebnem S, et al. GST (GSTM1, GSTT1, and GSTP1) polymorphisms in the genetic susceptibility of Turkish patients to cervical cancer. J Gynecol Oncol [Internet]. 2010 [citado 20

- de Sep de 2021]; 21 (3): 169-173. Disponible en:  
<https://synapse.koreamed.org/DOIx.php?id=10.3802/jgo.2010.21.3.169>
165. Liu HM, Zheng JP, Yang D, Liu ZF, Li Z, Hu ZZ, et al. Recessive/dominant model: Alternative choice in case-control-based genome-wide association studies. PLoS ONE [Internet]. 2021 [citado 17 de Oct de 2022]; 16(7): e0254947. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0254947>
166. Basak T. On the Different Ways to Handle the Trend of Disease Risk in Genetic Association Tests. Open Journal of Statistics [Internet]. 2022 [citado 20 de Oct de 2022]; 12: 521-531. DOI: <https://doi.org/10.4236/ojs.2022.124031>.
167. Zhang L. A General Study of Genetic Association Tests and the Test of Hardy-Weinberg Equilibrium. Doctoral dissertation, University of Toronto (Canada) [Internet]. 2021 [citado 18 de Oct de 2022]. Disponible en: [https://tspace.library.utoronto.ca/bitstream/1807/108718/1/Zhang\\_Lin\\_202111\\_PhD\\_thesis.pdf](https://tspace.library.utoronto.ca/bitstream/1807/108718/1/Zhang_Lin_202111_PhD_thesis.pdf)
168. Zhen S, Hu CM, Bian LH. Glutathione S-transferase polymorphism interactions with smoking status and HPV infection in cervical cancer risk: An evidence-based meta-analysis. PLoS One [Internet]. 2013 [citado 12 de May de 2022]; 8: e83497. Disponible en: <https://journal.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0083497>
169. Zhang ZY, Jin XY, Wu R, Wu LN, Xing R, Yang SJ, et al. Meta-analysis of the association between GSTM1 and GSTT1 gene polymorphisms and cervical cancer. Asian Pac J Cancer Prev [Internet]. 2012 [citado 16 de Oct de 2022];

- 13: 815-9. Disponible en:  
<https://koreascience.kr/article/JAK0201218552489306.page>
170. Liu Y, Xu LZ. Meta-analysis of association between GSTM1 genepolymorphism and cervical cancer. Asian Pac J Trop Med [Internet]. 2012 [citado 11 de Abr de 2022]; 5: 480-4. Disponible en:  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1995764512600832>
171. Pitchalu S, Ramasamy T, Ayyavoo J, Kirtikumar D, Anatrav D. GST M1-T1 frequency patterns in geographically assorted human populations: a phylogenetic approach. PloS One [Internet]. 2015 [citado 10 de Nov de 2022]; 10 (4): e0118660 DOI: [10.1371/journal.pone.0118660](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0118660)
172. Garte S, Gaspari L, Alexandrie AK, Ambrosone C, Autrup H, et al. Metabolic gene polymorphism frequencies in control populations. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev [Internet]. 2001 [citado 10 de Nov de 2022]; 10: 1239-1248  
Disponible en:  
<https://aacrjournals.org/cebp/article/10/12/1239/164217/Metabolic-Gene-Polymorphism-Frequencies-in-Control>
173. Joseph T, Chacko P, Weslwy R, Jayaprakash, James F, Radhakrishna P. Germline genetic of CYP1A1, GSTM1 and GSTT1 genes in Indian cervical cáncer: Associations with tumor progression, age and human papillomavirus infection. Gynecol Oncol [Internet]. 2006 [citado 10 de Nov de 2022]; 101 (3): 411-417. Disponible en:  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S009082580500973X>

174. Warwick A, Sarhanis P, Redman C, Pemble S, Taylor JB, Ketterer B, et al. Theta class glutathione S-transferase GSTT1 genotypes and susceptibility to cervical neoplasia: interactions with GSTM1, CYP2D6 and smoking. *Carcinogenesis* [Internet]. 1994 [citado 25 de Nov de 2022]; 15: 2841-2845. DOI: <https://doi.org/10.1093/carcin/15.12.2841>
175. Helaoui A, Sfar S, Boudhiba N, Dehghanian F, Dehbashi M, Bouchahda H, et al. Association of xenobiotic-metabolizing genes polymorphisms with cervical cancer risk in the Tunisian population. *Mol Biol Rep* [Internet]. 2022 [citado 23 de Oct de 2022]: 1-11. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11033-022-07945-6>
176. Gao LB, Pan XM, Li LJ, Liang WB, Bai P, Rao L, et al. Null genotypes of GSTM1 and GSTT1 contribute to risk of cervical neoplasia: an evidence-based meta-analysis. *PloS One* [Internet]. 2011 [citado 15 de Oct de 2022]; 6(5): e20157. DOI: [10.371/journal.pone.0020157](https://doi.org/10.371/journal.pone.0020157)
177. Wang D, Wang B, Zhai JX, Liu DW, Sun GG. Glutathione S-transferase M1 and T1 polymorphisms and cervical cancer risk: a meta-analysis. *Neoplasia* [Internet]. 2011 [citado 15 de Oct de 2022]; 58(4): 352-359. DOI: [10.4149/neo\\_2011\\_04\\_352](https://doi.org/10.4149/neo_2011_04_352)
178. Hu Q, Huang Y, Wei Z, Chen L, Luo Y, Li X, et al. Effects of Glutathione S-Transferases (GSTM1, GSTT1 and GSTP1) gene variants, alone and in combination with smoking or drinking, on cancers: a meta-analysis. *Res Sq* [Internet]. 2022 [citado 23 de Oct de 2022]. Disponible en:

- <https://assets.researchsquare.com/files/rs-1671597/v1/4ba9faa7-498e-42b9-8fcc-40c8398c23ce.pdf?c=1653580754>
179. Ouedraogo T, Djigma F, Zohoncon T, Idani B, Ouattara A, Sorgho P, et al. Association between Polymorphisms of Glutathione S-Transferase and Progression to Cervical Cancer in Women from Burkina Faso and Mali. JBM [Internet]. 2020 [citado 25 de Oct de 2022]; 8: 12-25. DOI: [10.4236/jbm.2020.84002](https://doi.org/10.4236/jbm.2020.84002).
180. Chunmei L, Yan Z, Xizhen M, Yuewen Q, Shuai Z, Rui L, et al. An updated meta-analysis: cervical cancer risk conferred by GSTM1 and GSTT1 polymorphisms. IJSciences [Internet]. 2017 [citado 4 de Nov de 2022]; 6 (1): 52-63. DOI: [10.18483/ijSci.1179](https://doi.org/10.18483/ijSci.1179)
181. Datkhile KD, Patil MN, Durgawale PP, Korabu KS, Joshi SA, Gudur A, et al. Genetic polymorphisms in carcinogen detoxifying genes and risk of cervical cancer in Maharashtra, India: a case control study. IJBR [Internet]. 2019 [citado 27 de Oct de 2022]; 10(4): 5105. Disponible en: <https://ssjournals.com/index.php/ijbr/article/view/510>
182. Ruwali M, Shukla R. Interactions of Environmental Risk Factors and Genetic Variations: Association with Susceptibility to Cancer. In: Singh A, Srivastava S, Rathore D, Pant D. (eds) Environmental Microbiology and Biotechnology. Springer, Singapore [Internet]. 2021 [citado 25 de Oct de 2022]. DOI: [https://doi.org/10.1007/978-981-15-7493-1\\_10](https://doi.org/10.1007/978-981-15-7493-1_10)
183. Bahrami A, Hasanzadeh M, Shahidsales S, Farazestanian M, Hassanian SM, Moetamani Ahmadi M, et al. Genetic susceptibility in cervical cancer: from

- bench to bedside. *J Cell Physiol* [Internet]. 2018 [citado 25 de Oct de 2022]; 233(3): 1929-1939. DOI: <https://doi.org/10.1002/jcp.26019>
184. Phuthong S, Settheetham-Ishida W, Natphopsuk S, Settheetham D. The Correlation between Glutathione S-Transferase Theta-1 (GSTT1) Polymorphism in Relation to Partners' Smoking and Cervical Cancer Risk. *Srinagarind Med J* [Internet]. 2018 [citado 27 de Oct de 2022]; 33(2): 107-112. Disponible en: <https://thaidj.org/index.php/SMNJ/article/download/2612/2349>
185. Munaro Tacca AL, Lopes AK, Vilanova-Costa CAST, Silva AMTC, Costa SHN, Nogueira NA, et al. Null polymorphisms in GSTT1 and GSTM1 genes and their associations with smoking and cervical cancer. *Genet Mol Res* [Internet]. 2018 [citado 13 de Oct de 2022]; 17(2). Disponible en: <https://www.geneticsmr.org/articles/null-polymorphisms-in-gstt1-and-gstm1-genes-and-their-associations-with-smoking-and-cervical-cancer.pdf>
186. Maugeri A, Barchitta M, San Lio RM, Scalisi A, Agodi A. Antioxidant and inflammatory potential of diet among women at risk of cervical cancer: findings from a cross-sectional study in Italy. *Public Health Nutr* [Internet]. 2022 [citado 14 de Nov de 2022]; 25(6), 1577-1585. DOI: <https://doi.org/10.1017/S1368980021001944>
187. Teega-Wend CO, Florencia WD, Boureima IDANI, Thodora MZ, PegdwendAS, Prosper BADO, et al. Impact of glutathione S-transferase genes polymorphisms on human papillomavirus infection and precancerous lesions in West African women. *Int J Genet Mol Biol* [Internet]. 2020 [citado 5 de Jul

de 2022]; 12(2): 59-70. Disponible en:

<https://academicjournals.org/journal/IJGMB/article-full-text-pdf/80AB82C64391>

188. Sengupta D, Guha U, Mitra S, Ghosh S, Bhattacharjee S, Sengupta M. Meta-analysis of polymorphic variants conferring genetic risk to cervical cancer in Indian women supports CYP1A1 as an important associated locus. APJCP [Internet]. 2018 [citado 5 de Jul de 2022]; 19(8): 2071. Disponible en:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6171405/>

189. Wongpratate M, Phuthong S, Natphopsuk S, Ishida T. Genetic polymorphism of glutathione S-transferase and cervical cancer susceptibility in Northeastern Thailand. Asian Pac J Cancer Biol [Internet]. 2020 [citado 5 de Jul de 2022]; 5(2): 35-41. Disponible en:

<http://waocp.com/journal/index.php/apjcb/article/view/373>

190. Khurshid Z, Abdullahi KO, Parveen K, Khan S. Factors Contributing to Cervical Cancer Among Women: A Systematic Review and Meta-Analysis: Cervical Cancer Among Women. PBMJ [Internet]. 2022 [citado 3 de Nov de 2022]; 72-76. Disponible en:

<https://pakistanbmj.com/journal/index.php/pbmj/article/download/675/622>



## **AUTOBIBLIOGRAFÍA**

### **Publicaciones**

1. Heredia D, Herrera M, Fernández D, López LG. Asociación entre polimorfismos de Glutation s-transferasa y cáncer cérvico uterino. Rev Cub Obst y Ginecol. 2017; 43 (3): 163-172.  
<http://revginecobstetricia.sld.cu/index.php/gin/rt/printerFriendly/110/0>
2. Heredia D, Herrera M, Fernández D, López LG, Estévez L, Santana S, González E. Oxidative Imbalance and Risk Factors Involved in Premalignant and Malignant Lesions of the Uterine Cervix. Rev Cuba Investig Biomed. 2019; 38(1): e166.  
[http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0864-03002019000100007](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03002019000100007) ISSN 1561-3011 RNPS 0126
3. Heredia D, Herrera M, Fernández D, López LG, Gómez MB, González E. Sistema antioxidante enzimático en mujeres con diagnóstico de Atipias celulares y Neoplasia Intraepitelial Cervical grado I. Rev Cub Investig Biomed. 2019; 38(4): e249  
[http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0864-03002019000100007](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03002019000100007) ISSN 1561-3011 RNPS 0126
4. Heredia D, Herrera M, Fernández D. Vías de señalización celular implicadas en la carcinogénesis cervical. Rev Cub Obste Gineco. 2019; 45(3): e491  
<http://revginecobstetricia.sld.cu/index.php/gin/rt/printerFriendly/110/90>

5. Herrera M, Fernández D, Heredia D, de la Torre M, Taboada N, Salazar L, González L. Studies of genetic epidemiology about phenotype with complex determination in the context of a biomedical basic sciences doctoral program. Rev Cub Investigac Biomed. 2019; 38(1): e167

<http://www.revibiomedica.sld.cu/index.php/ibi/article/view/167>

ISSN 1561-3011 RNPS 0126

## **Eventos Científicos**

1. VI Jornada Territorial X Jornada Provincial de Ciencias Fisiológicas 2018
  - Factores de riesgo genético ambientales e indicadores de estrés oxidativo en lesiones cérvico uterinas de alto grado.
2. V Jornada Nacional de Genética Comunitaria 2018
  - Desbalance Oxidativo y Factores de Riesgo Genéticos y Ambientales en Lesiones Premalignas del Cérvix Uterino.
3. 2do Congreso Panamericano de Fisiología 2019
  - Oxidative Imbalance and Risk Factors Involved in Premalignant and Malignant Lesions of the Uterine Cervix.
4. Primer Congreso Nacional Virtual de Ciencias Básicas Biomédicas. Cibamanz 2020
  - Indicadores oxidativos en mujeres con lesiones cérvico-uterinas en diferentes estadios.
5. VII Jornada Científica Nacional de Genética Comunitaria 2021
  - Polimorfismos *GSTT1* y *GSTM1* en lesiones cérvico-uterinas en diferentes estadios.
6. I Encuentro Virtual de la Cátedra de Salud Camagüey 2021 (Nacional)
  - Sistema antioxidante endógeno en mujeres con lesiones intraepiteliales en cuello uterino.

7. IV Convención Internacional de Salud. Cuba Salud 2022

- Influencia de factores de riesgo e indicadores oxidativos en la salud sexual femenina.

8. III Taller FORMADOC 2022 (Nacional)

- Factores genéticos, ambientales e indicadores oxidativos que contribuyen al desarrollo de lesiones cérvico-uterinas.

9. Jornada del Capítulo de Genética GenMed Holguín 2022

- Contribución de factores bioquímicos, genéticos y ambientales al desarrollo de cáncer uterino.

10. I Jornada Nacional de Ciencias Fisiológicas en Villa Clara. FisioVilla 2022

- Antioxidantes endógenos en mujeres con lesiones premalignas en cérvix.
- Polimorfismos *GSTT1* y *GSTM1* en lesiones cérvico-uterinas en diferentes estadios.

**Superación**

1- Curso de Biología Molecular en Universidad de Ciencias Médicas de La Habana.

2- Entrenamiento en Técnicas de Biología Molecular en Centro Nacional de Genética Médica.

3- Estandarización y optimización de Técnicas de Biología Molecular en Laboratorios de la Unidad de Investigaciones Biomédicas. UCM-VC.

## ANEXOS

### Anexo 1. Consentimiento Informado

El Virus del Papiloma Humano (VPH) se considera una de las principales causas de infección por transmisión sexual en nuestra población, por lo que se estudiarán mujeres con lesiones en cuello uterino, que acudan a las consulta de Ginecología de la APS, Hospital Gineco-Obstétrico «Mariana Grajales» y multidisciplinaria del Hospital Provincial Clínico Quirúrgico «Celestino Hernández Robau». El objetivo del estudio es asociar factores de riesgo con la aparición de lesiones provocadas por el virus, así como la determinación de indicadores bioquímicos de estrés oxidativo. Las muestras tomadas serán procesadas en los Laboratorios de Química Sanguínea y Multipropósito de la UNIB-UCM. Los resultados de los exámenes serán manejados por el equipo de investigación según las normas éticas y bajo estricta confidencialidad, para ser reportados individualmente a las pacientes involucradas.

Por este medio hago constar que se me ha explicado por parte del Dr(a): \_\_\_\_\_ el objetivo y funciones de la investigación y manifiesto mi disposición para brindar la información requerida sobre mi salud, así mismo expreso mi voluntad para que se me tome una muestra de sangre para el estudio de parámetros sanguíneos. Hago constar que se me ha expresado que dichos datos son de carácter confidencial y que solo serán empleados con fines médicos y para beneficio de la comunidad y de los enfermos, incluyendo conocer los resultados de los mismos y recibir atención médica si alguno de ellos fuese alterado.

Nombre y Firma de la paciente: \_\_\_\_\_ Fecha \_\_\_\_\_

**Anexo 2. Consentimiento informado para muestras de ADN**

Por este medio expreso mi consentimiento para que a partir de la muestra de sangre donada voluntariamente por mí, se conserve mi ADN a fin de poder realizar estudios genéticos relacionados con lesiones en cuello uterino, así como hago constar que deseo \_\_\_ no deseo \_\_\_ ser informada de los resultados de dicho estudio y expreso que es mi decisión que los mismos le sean entregados a \_\_\_\_\_

Expreso que he sido informada que no recibiré ningún beneficio económico por esta decisión, que tengo derecho a atención médica y que puedo retirarme del estudio o solicitar desechar la muestra cuando yo lo considere conveniente.

Nombre y Firma del paciente: \_\_\_\_\_ Fecha \_\_\_\_\_

Nombre y Firma del profesional que informó: \_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_\_

**Anexo 3.** Validación del cuestionario. Estudio caso control. Villa Clara. 2018 - 2021

➤ **Validación del cuestionario por expertos en la etapa 1**

Estudio caso control. Villa Clara. 2018 - 2021.

**Momento de la validación:**

Previo a la aplicación del cuestionario a las mujeres seleccionadas para el estudio.

**Orientaciones a los expertos:**

Al tener en cuenta el objetivo principal de la investigación, la experiencia de trabajo y los conocimientos sobre el tema, se solicitó evaluar cada pregunta del cuestionario mediante un sistema de puntuación, de 5 a 0 en orden descendente según la pertinencia de las preguntas.

**Resultados:**

Del análisis de las respuestas de los expertos, la prueba no paramétrica aplicada (test Kruskal Wallis), evidenció la homogeneidad de los criterios ( $p=0,672$ ) y por tanto un total de 22 preguntas quedaron inalteradas.

Fueron eliminadas las siguientes variables:

- Por considerarse que no aportaban información a los análisis de riesgo o no eran factores de riesgo: edad actual de la mujer, estado civil, menopausia, ciclos menstruales, frecuencia de las relaciones sexuales, condición económica, condición de la vivienda y antecedentes de enfermedad genética (monogénica, cromosómica, defecto congénito, multifactorial).

- Por considerarse que eran indicadores de riesgo y no factores de riesgo: antecedentes personales de cáncer (útero, ovario, endometrio, u otros) y los medios terapéuticos aplicados para la enfermedad que padece.

**Participantes:**

Un total de 12 expertos (cuatro Especialistas en Ginecología y Obstetricia, cuatro Especialistas en Genética Médica, dos Especialistas en Cito-Histopatología y dos Especialistas en Medicina General Integral de la APS).

➤ **Validación del cuestionario por expertos en la etapa 2**

**Momento de la validación:**

Se realizó una vez que se obtuvieron los resultados del análisis bivariado de los factores de riesgo, con el objetivo de considerar los factores que podrían incluirse en el análisis multivariado.

**Orientación a los expertos:** (documento emitido)

Estimado Doctor(a)

Como parte de la investigación titulada “Susceptibilidad genética polimórfica y factores de riesgo asociados a lesiones de cuello uterino”, para la obtención del doctorado, le agradecería nos ofreciera su consideración sobre el siguiente particular.

Aunque usted formó \_\_\_no formó \_\_\_ parte de los expertos que valoraron en la primera encuesta los factores de riesgo a incluir, ahora le solicitamos haga su valoración, en la que no tiene que coincidir exactamente con su apreciación inicial, toda vez que dado el tiempo transcurrido entre ambas encuestas usted puede



tener nuevas perspectivas acorde a los descubrimientos y aportes científicos que constantemente se aprueban sobre esta temática.

En estos momentos nos encontramos en la evaluación de los resultados estadísticos de las variables obtenidas luego de aplicado el cuestionario a las mujeres con algún tipo de lesión en cérvix y a las mujeres controles.

Se conoce que en ocasiones existen asociaciones estadísticas entre un factor de riesgo y un daño a la salud, en este caso las lesiones premalignas y malignas de cérvix, que resultan asociaciones espurias y no están basadas en una asociación biológica real y fundamentada.

Al tener en cuenta, que usted es un experto en esta temática y que posee conocimientos sólidos sobre los factores de riesgo reportados en la literatura especializada sobre el tema, le hacemos llegar las asociaciones significativas encontradas en el procesamiento de nuestros datos, a fin de poder definir si alguna o algunas de ellas, no deberían quedar incluidas en los análisis multivariados de riesgo, por considerar que no tienen credibilidad biológica o consistencia en la literatura.

A continuación, le exponemos una relación de 17 variables que resultaron asociadas a las lesiones de cérvix en nuestro estudio. A fin de que alguna (s) de ella (s) debería ser excluida del análisis multivariado de riesgo, le pedimos que marque cada una con una puntuación según el valor que usted le concede a su contribución en la aparición de las lesiones. Coloque 5 para las de mayor importancia, 4 a las que considera siguen en importancia y así sucesivamente,

hasta otorgar puntuación de 0 a aquellas que considera no tienen ninguna relación.

Su opinión sería de gran valor para la investigación.

No	Puntuación	Factores de riesgo
1		Sexualidad precoz (<18 años)
2		Múltiples parejas sexuales (4 o más)
3		Parto temprano (< 20 años)
4		Multigestación (más de 3)
5		Multiparidad (más de 3)
6		No uso de preservativo
7		Anticonceptivos orales
8		Uso de DIU
9		ITS previas

No	Puntuación	Factores de riesgo
10		Enfermedad benigna del cérvix (previa)
11		Cáncer útero en familiares de I Grado
12		Hábito de fumar
13		Fumador pasivo
14		Hábitos alcohólicos
15		Exposición a tóxicos ambientales
16		No consumo de suplementos Vitamínicos / minerales
17		Obesidad

**Análisis estadístico:** Se realizó prueba no paramétrica (Test Kruskal-Wallis) para conocer homogeneidad en la distribución de los datos y estadígrafos descriptivos.

Resumen de prueba de hipótesis

	Hipótesis nula	Test	Sig.	Decisión
1	La distribución de Sexualidad precoz es la misma entre las categorías de Expertos.	Prueba Kruskal-Wallis de muestras independientes	,443	Retener la hipótesis nula.
2	La distribución de Múltiples parejas sexuales es la misma entre las categorías de Expertos.	Prueba Kruskal-Wallis de muestras independientes	,443	Retener la hipótesis nula.
3	La distribución de Parto temprano es la misma entre las categorías de Expertos.	Prueba Kruskal-Wallis de muestras independientes	,443	Retener la hipótesis nula.
4	La distribución de Multigestación es la misma entre las categorías de Expertos.	Prueba Kruskal-Wallis de muestras independientes	,443	Retener la hipótesis nula.
5	La distribución de Multiparidad es la misma entre las categorías de Expertos.	Prueba Kruskal-Wallis de muestras independientes	,443	Retener la hipótesis nula.
6	La distribución de No preservativo es la misma entre las categorías de Expertos.	Prueba Kruskal-Wallis de muestras independientes	1,000	Retener la hipótesis nula.
7	La distribución de Anticonceptivos orales es la misma entre las categorías de Expertos.	Prueba Kruskal-Wallis de muestras independientes	,443	Retener la hipótesis nula.
8	La distribución de DIU es la misma entre las categorías de Expertos.	Prueba Kruskal-Wallis de muestras independientes	,443	Retener la hipótesis nula.
9	La distribución de ITS previas es la misma entre las categorías de Expertos.	Prueba Kruskal-Wallis de muestras independientes	,443	Retener la hipótesis nula.

Se muestran las significancias asintóticas. El nivel de significancia es ,05.

Resumen de prueba de hipótesis

	Hipótesis nula	Test	Sig.	Decisión
1	La distribución de Enfermedad benigna del cérvix es la misma entre las categorías de Expertos.	Prueba Kruskal-Wallis de muestras independientes	,443	Retener la hipótesis nula.
2	La distribución de CC familiares es la misma entre las categorías de Expertos.	Prueba Kruskal-Wallis de muestras independientes	,443	Retener la hipótesis nula.
3	La distribución de Hábito de fumar es la misma entre las categorías de Expertos.	Prueba Kruskal-Wallis de muestras independientes	,443	Retener la hipótesis nula.
4	La distribución de Fumador pasivo es la misma entre las categorías de Expertos.	Prueba Kruskal-Wallis de muestras independientes	,443	Retener la hipótesis nula.
5	La distribución de Hábitos alcohólicos es la misma entre las categorías de Expertos.	Prueba Kruskal-Wallis de muestras independientes	,443	Retener la hipótesis nula.
6	La distribución de Exposición a tóxicos ambientales es la misma entre las categorías de Expertos.	Prueba Kruskal-Wallis de muestras independientes	,443	Retener la hipótesis nula.
7	La distribución de No consumo de suplementos vitamínicos es la misma entre las categorías de Expertos.	Prueba Kruskal-Wallis de muestras independientes	,443	Retener la hipótesis nula.
8	La distribución de Obesidad es la misma entre las categorías de Expertos.	Prueba Kruskal-Wallis de muestras independientes	,443	Retener la hipótesis nula.

Se muestran las significancias asintóticas. El nivel de significancia es ,05.

No	Variable	Mediana (Rango Intercuartílico)
1	Sexualidad precoz (< 18 años)	5,00 (4,00 – 5,00)
2	Parejas sexuales > 4	4,50 (4,00 – 5,00)
3	Parto temprano (< 20 años)	3,00 (3,00 – 4,00)
4	Multigestación (más de 3)	3,50 (2,00 – 4,00)
5	Multiparidad (más de 3 hijos)	3,00 (2,00 – 4,00)
6	No uso de preservativos	5,00 (5,00 – 5,00)
7	Anticonceptivos orales	4,00 (2,25 – 4,00)
8	Uso de DIU	2,50 (2,00 – 3,00)
9	ITS previas	5,00 (4,25 – 5,00)
10	Enfermedades benignas del cérvix	3,00 (3,00 – 4,00)
11	Antecedentes de CCU en familiar de I grado	4,00 (3,00 – 4,75)
12	Hábito de fumar	4,00 (3,00 – 5,00)
13	Fumador pasivo	3,00 (3,00 – 4,00)
14	Hábitos alcohólicos	2,50 (2,00 – 3,00)
15	Exposición a tóxicos ambientales	3,00 (2,25 – 3,00)
16	No consumo de vitaminas/minerales	3,00 (2,25 – 3,00)
17	Obesidad	1,00 (0,00 – 2,00)

### Resultados:

Las variables mostraron homogeneidad en sus valores ( $p= 0,443$ ). Los datos no mostraron distribución normal ( $p<0,05$ ), por lo que se muestran la mediana y el rango intercuartílico como medidas de tendencia central.

Las variables con puntuación menor de tres que quedaron excluidas para el análisis multivariado fueron: uso de DIU, hábitos alcohólicos y obesidad.

### Participantes:

Un total de 12 expertos (cuatro Especialistas en Ginecología y Obstetricia, cuatro Especialistas en Genética Médica, dos Especialista en Cito-Histopatología y dos Especialistas en Medicina General Integral de la APS).

**CUESTIONARIO**

Fecha entrevista \_\_\_\_\_ Centro Asistencial: \_\_\_\_\_

Nombre: \_\_\_\_\_ Carnet de Identidad: \_\_\_\_\_

Edad del diagnóstico: \_\_\_\_\_ Color de la piel: \_\_\_\_\_

Dirección: \_\_\_\_\_ Zona: Urbana \_\_\_ Rural \_\_\_ Teléfono: \_\_\_\_\_

Fecha diagnóstico del VPH \_\_\_\_\_ Fecha diagnóstico lesión en cuello uterino \_\_\_\_\_

**Factores de riesgos laborales**

Ocupación: \_\_\_\_\_ Su trabajo conlleva riesgos? \_\_\_\_\_ Cuáles: \_\_\_\_\_

Ha estado expuesta a:

Disolventes u otros productos químicos \_\_\_\_\_ Tiempo \_\_\_\_\_

Metales \_\_\_\_\_ Tiempo \_\_\_\_\_

Pinturas \_\_\_\_\_ Tiempo \_\_\_\_\_

Tintes \_\_\_\_\_ Tiempo \_\_\_\_\_

Asbestos \_\_\_\_\_ Tiempo \_\_\_\_\_

Radiaciones (rayos X, etc.) \_\_\_\_\_ Tiempo \_\_\_\_\_

Polvo \_\_\_\_\_ Tiempo \_\_\_\_\_

Pesticidas \_\_\_\_\_ Tiempo \_\_\_\_\_

Derivados del petróleo \_\_\_\_\_ Tiempo \_\_\_\_\_

Otros \_\_\_\_\_ Cuáles: \_\_\_\_\_ Tiempo \_\_\_\_\_

Años en el desempeño de la ocupación actual: \_\_\_\_\_

Ocupación previa: \_\_\_\_\_ Riesgos: \_\_\_\_\_ Tiempo: \_\_\_\_\_

**Factores de riesgo personales**

***Antecedentes personales:***

Menarquía (Edad) \_\_\_\_\_ Embarazos: Si \_\_\_ No \_\_\_ N° \_\_\_\_\_ Interrupciones:

\_\_\_ Partos: \_\_\_ Abortos: \_\_\_\_\_ Cesáreas \_\_\_\_\_ Embarazos Ectópicos \_\_\_\_\_

Muertes fetales \_\_\_\_\_ Muertes neonatales \_\_\_\_\_ Edad del Primer Parto \_\_\_\_\_

Edad de la primera relación sexual: \_\_\_\_\_ N° de Parejas Sexuales: \_\_\_\_\_

***Método anticonceptivo actual:***

Tabletas: \_\_\_ DIU: \_\_\_ Preservativos: \_\_\_ Óvulos: \_\_\_ Tiempo de uso: \_\_\_\_\_

**Hábitos tabáquicos:**

Fumó: Si \_\_\_ No \_\_\_ ¿Cuánto tiempo? \_\_\_ ¿Cuándo lo dejó? \_\_\_\_\_

¿Cuántos cigarrillos fumaba? \_\_\_\_\_

Fuma: Si \_\_\_ No \_\_\_ ¿Desde cuándo fuma? \_\_\_ ¿Cuántos cigarrillos fuma? \_\_\_

Fumador pasivo: Si \_\_\_ No \_\_\_ ¿Desde cuándo? \_\_\_\_\_

**Hábitos alcohólicos:**

Si \_\_\_ No \_\_\_ Cerveza \_\_\_ Ron \_\_\_ Vino \_\_\_ Licores \_\_\_\_\_

Diario \_\_\_ Semanal \_\_\_ Ocasional \_\_\_ Cantidad \_\_\_ Tiempo \_\_\_\_\_

**Estilos de vida:**

Consumo de Alimentos: Verduras \_\_\_ Frutas \_\_\_ Cereal \_\_\_ Carnes \_\_\_

Pescados \_\_\_ Huevo \_\_\_ Conservantes \_\_\_ Embutidos \_\_\_ Carnes

ahumadas \_\_\_ Alimentos enlatados \_\_\_ Café \_\_\_ Cantidad \_\_\_\_\_

Consumo de suplementos vitamínicos / minerales: Si \_\_\_ No \_\_\_\_\_

Sobrepeso: Si \_\_\_ No \_\_\_ Obesidad: Si \_\_\_ No \_\_\_\_\_

Proximidad a industrias \_\_\_ fábricas \_\_\_ granjas \_\_\_ artesanía \_\_\_\_\_

Tipo de producto (exposición): \_\_\_\_\_ Tiempo de exposición: \_\_\_\_\_

**Antecedentes de otras infecciones de transmisión sexual (fecha de su diagnóstico):**

Si \_\_\_ No \_\_\_ Fecha: \_\_\_\_\_ Sífilis \_\_\_ Gonorrea \_\_\_ Linfogranuloma

Venéreo \_\_\_ VPH \_\_\_ Chancro Blando \_\_\_ Chlamydia \_\_\_\_\_

Herpes Genital \_\_\_ Tricomonas \_\_\_ Tratadas: Si \_\_\_ No \_\_\_\_\_

Control Actual: Si \_\_\_ No \_\_\_ Fecha ultima citología vaginal: \_\_\_\_\_

**Antecedentes patológicos:**

Antecedentes de enfermedad benigna previa con biopsia de: cuello uterino \_\_\_\_\_

endometrio \_\_\_ ovario \_\_\_\_\_

Cáncer en Parientes Si \_\_\_ No \_\_\_ Tipo de pariente \_\_\_ Tipo de cáncer \_\_\_\_\_

Desglosar todos los parientes: \_\_\_\_\_

**Anexo 4.** Operacionalización de las variables para estudio de factores de riesgo.

Estudio caso control. Villa Clara. 2018 - 2021

	<b>Variables</b>	<b>Clasificación</b>	<b>Definición</b>
Epidemiológicas	Edad de debut	Cuantitativa discreta	Edad biológica de la mujer al momento del diagnóstico de la enfermedad. Se expresó en años.
	Color de piel	Cualitativa nominal dicotómica	Fenotipo resultante de la pigmentación de la piel. Se clasificó en blanco o no blanco, según valoración y apreciación del investigador. Se definió Si o No.
	Zona de residencia	Cualitativa nominal dicotómica	Lugar donde residió la mujer de forma estable al menos dos años previos al diagnóstico de la enfermedad (urbana o rural). Se definió Si o No.
Clínicas	Lesión de cuello uterino	Cualitativa nominal dicotómica	Presencia de lesiones epiteliales en cuello uterino, diagnosticadas por citología, colposcopias y/o biopsias, según protocolo de atención vigente (Sistema Bethesda). <sup>5</sup> Se definió Si o No
	LIEBG VPH	Cualitativa nominal dicotómica	Lesión Intraepitelial de Bajo Grado, que refiere presencia de diversos grupos de virus ADN, pertenecientes a la familia de los Papillomaviridae, diagnosticados mediante tinción, citología, biopsia (coilocitos) o genotipificación. <sup>1</sup> Se definió Si o No
	VPH-AR	Cualitativa nominal dicotómica	Tipos de Virus de Papiloma Humano de Alto Riesgo oncogénico, que pueden generar infecciones subclínicas, para dar lugar a cáncer cervical, de vulva, vagina y ano en mujeres, o cáncer del ano y pene en hombres. Se identificó por genotipificación. <sup>34</sup>
	NIC I	Cualitativa nominal dicotómica	Neoplasia Intraepitelial Cervical grado I. Tipo de lesión de menor riesgo, representa sólo una displasia leve o crecimiento celular anormal. Se caracteriza por estar confinado al 1/3 basal del epitelio cervical. Se diagnosticó por cito-colposcopia y biopsia. <sup>4</sup>
	LIEAG NIC II	Cualitativa nominal dicotómica	Lesión Intraepitelial de Alto Grado, incluye la Neoplasia Intraepitelial Cervical grado II, que representa una displasia moderada, confinada a los 2/3 basales del epitelio cervical. Se diagnosticó mediante biopsia. <sup>4</sup>
	NIC III/CIS	Cualitativa nominal dicotómica	Lesión Intraepitelial de Alto Grado, referida a la Neoplasia Intraepitelial Cervical grado III que representa una displasia severa que cubre más de los 2/3 de todo el epitelio cervical, en algunos casos incluye todo el grosor del revestimiento cervical, y es considerada como un carcinoma in situ (CIS). Se

	CE IIb	Cualitativa nominal dicotómica	<p>diagnosticó por biopsia.<sup>4</sup></p> <p>Carcinoma epidermoide (células escamosas), que se origina a expensas del epitelio pavimentoso, es el más frecuente (aproximadamente 80% de los casos). El precursor inmediato de este carcinoma son las LIEAG. El grupo II se extiende más allá del cuello uterino, pero no compromete la pared de la pelvis y, si afecta a la vagina, no llega a su tercio inferior. Se clasifica como IIb si afecta a los parametrios. Se diagnosticó por biopsia.<sup>4</sup></p>
<b>VARIABLES DE RIESGO</b>			
Obstétricas	Multigestación	Cuantitativa discreta, dicotomizada para riesgo	Desarrollo del embrión hasta su formación completa. Se tomó en cuenta el número de embarazos declarados por la entrevistada. Se consideró riesgo (Multigestación) cuando tuvo más de tres gestaciones. Se evaluó como Si o No. <sup>84</sup>
	Multiparidad	Cuantitativa discreta, dicotomizada para riesgo	Número de nacimientos como culminación del embarazo. Se consideró riesgo (Multiparidad) cuando tuvo más de tres. Se evaluó como Si o No. <sup>84</sup>
	Parto temprano	Cuantitativa discreta, dicotomizada para riesgo	Edad de la mujer en la que tuvo su primer parto. Se consideró riesgo si ocurrió antes de los 20 años. Se evaluó Si o No. <sup>7</sup>
Ginecológicas	Edad de la menarquia	Cuantitativa discreta, dicotomizada para riesgo	Edad biológica de la mujer al momento de su primer sangrado vaginal de origen menstrual. Se expresó en años. Se consideró precoz antes de los diez años. <sup>(7)</sup>
	Enfermedades benignas en cuello uterino	Cualitativa nominal dicotómica	Enfermedades en cuello uterino producidas por miomas, cervicitis o ectropión cervical debido a heridas o desgarros durante el parto, legrados, infecciones, entre otros. <sup>84</sup> Se consideró riesgo cuando estuvo presente, se evaluó como Si o No.
	Legrados	Cualitativa nominal dicotómica	Procedimiento que se realiza a ciegas y en el que, tras la dilatación del canal cervical con un espéculo, se procede a la limpieza de la cavidad uterina. <sup>84</sup> Se consideró riesgo cuando se realizó más de tres. Se evaluó como Si o No.
Comportamiento sexual	Anticonceptivos	Cualitativa nominal dicotómica	Se controló el tipo (oral, DIU, condón, vacunas o parches), <sup>7</sup> tiempo de uso y fecha de suspensión (si lo hizo). Se consideró riesgo cuando consumió píldora o vacunas más de dos años, usó DIU más de cinco años y no usó condón. Se evaluó Si o No.

	Sexualidad precoz	Cuantitativa discreta, dicotomizada para riesgo	Edad de comienzo de las relaciones sexuales en la mujer. Se expresó en años. Se consideró riesgo el inicio antes de los 18 años. <sup>7</sup> Se evaluó Si o No.
	Múltiples parejas sexuales	Cuantitativa discreta, dicotomizada para riesgos	Cantidad de parejas sexuales continuas, incluyendo relaciones fortuitas. <sup>7</sup> Se consideró riesgo las relaciones con cuatro o más parejas. Se evaluó Si o No.
	ITS previas	Cualitativa nominal dicotómica	Conjunto de afecciones clínicas infecto-contagiosas que se transmiten de persona a persona por medio del contacto sexual (sífilis, gonorrea, chlamydia, VPH, VIH y herpes). <sup>7</sup> Se consideró riesgo cuando se presentó, se evaluó como Si o No.
Ambientales	Consumo de vitaminas / minerales	Cualitativa nominal dicotómica	Consumo de vitaminas y minerales provenientes de la dieta (frutas y vegetales), comprimidos orales o inyecciones. <sup>7</sup> Se consideró riesgo cuando no hubo consumo. Se evaluó Si o No.
	Obesidad	Cualitativa nominal dicotómica	Enfermedad crónica de origen multifactorial prevenible, que se caracteriza por acumulación excesiva de grasa o hipertrofia general del tejido adiposo en el cuerpo. <sup>85</sup> Se consideró riesgo el IMC >30 kg/m <sup>2</sup> . Se evaluó Si o No.
	Exposición a tóxicos en zona de residencia	Cualitativa nominal dicotómica	Exposición de la mujer, al menos dos años previos al diagnóstico, a lugar de residencia con existencia de fábricas o industrias químicas, fábricas artesanales, refinerías, zonas agrícolas con uso de pesticidas, agroquímicos u otras, <sup>7</sup> en cuyo caso se consideró riesgo. Se definió Si o No.
	Exposición a tóxicos en ambiente laboral	Cualitativa nominal dicotómica	Exposición a productos tóxicos en el lugar de trabajo (sustancias químicas, pesticidas, fertilizantes, derivados del petróleo, humo de industrias, etc.), <sup>7</sup> al menos dos años previos al diagnóstico, cuyo caso se consideró riesgo. Se evaluó Si o No.
Hábitos tóxicos	Tabaco	Cualitativa nominal dicotómica	Exposición a la nicotina, alquitrán y monóxido de carbono por consumo de tabaco. <sup>7</sup> Se consideró fumador activo al que consumió más cinco cigarrillo al día, en un periodo superior a un año y fumador pasivo al expuesto al humo de cigarrillo en un periodo mayor de dos años. Se definió Si o No.
	Alcohol	Cualitativa nominal dicotómica	Bebida considerada una droga legal, que contiene etanol (alcohol etílico) entre las que se incluyen: ron, cerveza, vino, licor. <sup>86</sup> Se consideró bebedora a la mujer que consumió más de tres copas a la semana. Se definió Si o No.



---

Genéticas	Antecedentes familiares de CCU	Cualitativa nominal dicotómica	Se consideró riesgo cuando hubo antecedentes de cáncer de útero en parientes, <sup>7</sup> según grado de parentesco (1er, 2do y 3er). Se definió como Si o No.
	Antecedentes familiares de otro cáncer ginecológico	Cualitativa nominal dicotómica	Se refiere al padecimiento de cáncer en endometrio, ovarios, trompas o mama, en parientes de distinto grado. <sup>87</sup> Se definió como Si o No.
	Antecedentes familiares de otro tipo cáncer	Cualitativa nominal dicotómica	Existencia de otro tipo de cáncer en cualquier localización. <sup>87</sup> Se tuvo en cuenta antecedentes de cáncer en parientes, tipo de cáncer y desglose según grado de parentesco (1er, 2do y 3er). Se definió como Si o No.

---

**Anexo 5.** Test de homogeneidad para la edad de diagnóstico de mujeres con lesiones en cuello uterino. Estudio caso control. Villa Clara. 2028 - 2021

**Resumen de prueba de hipótesis**

	Hipótesis nula	Test	Sig.	Decisión
1	La distribución de Edad es la misma entre las categorías de Diagnósticogrupos.	Prueba Kruskal-Wallis de muestras independientes	,000	Rechazar la hipótesis nula.

Se muestran las significancias asintóticas. El nivel de significancia es ,05.

Cada nodo muestra el rango de media de muestras de Diagnósticogrupos.

Muestra1-Muestra2	Prueba estadística	Error típico	Desv. Prueba estadística	Sig.	Sig. ady.
LIEAG (NIC II, III, CIS, VPH+ con LIEAG)-LIEBG (VPH+ y NIC I)	1,143	10,031	,114	,909	1,000
LIEAG (NIC II, III, CIS, VPH+ con LIEAG)-C. Epidermoide	-66,741	11,520	-5,793	,000	,000
LIEBG (VPH+ y NIC I)-C. Epidermoide	-65,598	10,155	-6,460	,000	,000

Cada fila prueba la hipótesis nula que las distribuciones de la Muestra 1 y la Muestra 2 son las mismas.  
Se muestran las significancias asintóticas (pruebas de 2 caras). El nivel de significancia es ,05.

**Anexo 6.** Análisis multivariado de los factores de riesgo en mujeres con LIEBG. Estudio caso control. Villa Clara. 2018 - 2021.

Tabla de clasificación<sup>a</sup>

Observado			Pronosticado		
			Diagnósticogrupos		Porcentaje correcto
			LIEBG (VPH+ y NIC I)	Control	
Paso 1	Diagnósticogrupos	LIEBG (VPH+ y NIC I)	91	8	91,9
		Control	15	45	75,0
	Porcentaje global				85,5

a. El valor de corte es ,500

Variables en la ecuación

		B	E.T.	Wald	gl	Sig.	Exp(B)	I.C. 95% para EXP(B)	
								Inferior	Superior
Paso 1 <sup>a</sup>	Sexprecoz	1,387	,548	6,414	1	,011	4,001	1,368	11,701
	Multiparejasexuales	1,382	,567	5,940	1	,015	3,981	1,311	12,095
	NoPreservativo	,476	,608	,612	1	,434	1,609	,489	5,298
	Partotemprano	2,508	,887	7,992	1	,005	12,275	2,158	69,830
	ITSprevias	3,862	,843	20,992	1	,000	47,542	9,113	248,024
	Fumadorpasivo	,777	,610	1,619	1	,203	2,174	,657	7,190
	Cáncuteroparigrad	,922	1,219	,573	1	,449	2,514	,231	27,396
	EnfbenCervix	1,246	,618	4,062	1	,044	3,477	1,035	11,679
	Constante	-25,419	4,519	31,644	1	,000	,000		

a. Variable(s) introducida(s) en el paso 1: Sexprecoz, Multiparejasexuales, NoPreservativo, Partotemprano, ITSprevias, Fumadorpasivo, Cáncuteroparigrad, EnfbenCervix.

**Anexo 7.** Análisis multivariado de los factores de riesgo en mujeres con LIEAG. Estudio caso control. Villa Clara. 2018 - 2021.

Tabla de clasificación<sup>a</sup>

Observado			Pronosticado		
			Diagnósticogrupos		Porcentaje correcto
			LIEAG (NIC II, III, CIS, VPH+ con LIEAG)	Control	
Paso 1	Diagnósticogrupos	LIEAG (NIC II, III, CIS, VPH+ con LIEAG)	47	7	87,0
		Control	15	45	75,0
	Porcentaje global				80,7

a. El valor de corte es ,500

Variables en la ecuación

		B	E.T.	Wald	gl	Sig.	Exp(B)	I.C. 95% para EXP(B)	
								Inferior	Superior
Paso 1 <sup>a</sup>	Sexprecoz	1,581	,536	8,687	1	,003	4,861	1,698	13,911
	Multiparejasexuales	1,907	,558	11,704	1	,001	6,736	2,258	20,091
	PildoraAnticoncep	1,671	,627	7,099	1	,008	5,317	1,555	18,177
	ITSprevias	3,405	,958	12,637	1	,000	30,123	4,608	196,914
	NoPreservativo	1,341	,625	4,612	1	,032	3,824	1,124	13,006
	Constante	-15,362	3,124	24,182	1	,000	,000		

a. Variable(s) introducida(s) en el paso 1: Sexprecoz, Multiparejasexuales, PildoraAnticoncep, ITSprevias, NoPreservativo.

**Anexo 8.** Análisis multivariado de los factores de riesgo en mujeres con CE. Estudio caso control. Villa Clara. 2018 - 2021.

Tabla de clasificación<sup>a</sup>

Observado			Pronosticado		
			Diagnósticogrupos		Porcentaje correcto
			CE	Control	
Paso 1	Diagnósticogrupos	CE	45	7	86,5
		Control	10	50	83,3
Porcentaje global					84,8

a. El valor de corte es ,500

Variables en la ecuación

	B	E.T.	Wald	gl	Sig.	Exp(B)	I.C. 95% para EXP(B)	
							Inferior	Superior
Paso 1 <sup>a</sup> NoPreservativo	2,643	,922	8,211	1	,004	14,054	2,305	85,678
Partotemprano	4,546	1,070	18,052	1	,000	94,245	11,575	767,359
Fumadorpasivo	1,842	,616	8,940	1	,003	6,311	1,886	21,111
NoVitaminaMinerales	1,656	,737	5,054	1	,025	5,237	1,236	22,185
Exptóxicoszonaresidencia	1,252	,623	4,038	1	,044	3,496	1,031	11,852
Constante	-18,370	3,666	25,109	1	,000	,000		

a. Variable(s) introducida(s) en el paso 1: NoPreservativo, Partotemprano, Fumadorpasivo, NoVitaminaMinerales, Exptóxicoszonaresidencia

**Anexo 9.** Interacciones entre factores de riesgo en mujeres con LIEBG. Estudio caso control. Villa Clara 2018 - 2021.

Factores de riesgo	LIEBG (N= 99)		Controles (N= 60)		X <sup>2</sup> de Pearson o *TE Fisher		OR Observado Factores conjuntos		OR Esperado Modelo Aditivo	OR Esperado Modelo Multiplicativo
	No	%	No	%	Valor	Signif.	Valor	CI al 95 %	Valor	Valor
Sexualidad precoz+ Múltiples parejas sexuales	44	44,44	8	13,33	16,33	0,0001	5,20	2,10 – 13,26	10,126	25,630
Sexualidad precoz+ Parto temprano	21	21,21	2	3,33		0,002*	7,81	1,67 – 50,25	13,847	44,503
Sexualidad precoz+ No preservativo	51	51,51	13	21,66	13,75	0,0001	3,84	1,75 – 8,53	7,110	10,339
Sexualidad precoz + Fumador pasivo	35	35,35	3	5,00		0,0001*	10,39	2,84 – 44,90	8,404	16,901
No preservativo + Múltiples parejas sexuales	43	43,43	13	21,66	7,71	0,005*	2,78	1,26 – 6,18	8,094	10,307
No preservativo + ITS previas	36	36,36	3	5,00		0,0001*	33,71	4,71 – 681,86	39,706	76,803
No preservativo + Fumador pasivo	30	30,30	7	11,66	7,22	0,007	3,29	1,26 – 8,96	5,372	6,795
No preservativo + Hábitos alcohólicos	16	16,16	2	3,33		0,013*	5,59	1,16 – 36,65	8,483	13,139
Consumo de píldora + Múltiples parejas sexuales	42	42,42	6	10,00	18,52	0,0001	6,63	2,44 – 18,95	6,551	7,562
Consumo de píldora + Fumador pasivo	32	32,32	7	11,66	8,56	0,003	3,62	1,47 – 8,83	4,829	4,986
Consumo de píldora + ITS previas	36	36,36	6	10,00	13,27	0,0001*	5,14	2,01 – 13,13	39,263	56,499
Fumador pasivo + Múltiples parejas sexuales	27	27,27	3	5,00		0,0001*	7,13	1,92 – 31,13	8,308	16,848
Otras interacciones										
Sexualidad precoz+ Píldora Anticonceptiva	51	51,51	12	20,00	15,41	0,0001*	4,25	1,91 – 9,62	6,567	7,586
Sexualidad precoz+ No Vitaminas/Minerales	54	54,54	13	21,66	16,46	0,0001	4,34	1,98 – 9,65	6,634	7,925
No preservativo + Píldora Anticonceptiva	43	43,43	14	40,00	6,52	0,010	2,52	1,16 – 5,52	3,535	3,050
No preservativo + No Vitaminas/Minerales	59	59,29	21	35,00	8,98	0,003	2,74	1,34 – 5,64	3,602	3,186
Fumador pasivo + No Vitaminas/Minerales	29	29,29	6	10,00	8,05	0,004	3,73	1,35 – 10,83	4,896	5,209
No Vitaminas/Minerales + Múltiples parejas sexuales	43	43,43	7	11,66	17,38	0,0001	5,81	2,26 – 15,58	6,618	7,900
No Vitaminas/Minerales + Parto temprano	18	18,18	2	3,33		0,006*	6,44	1,36 – 41,89	10,339	13,716

LIEBG: Lesión Intraepitelial Escamosa de Bajo Grado. \*TE: Test Exacto de Fisher ( $p < 0,05$ ).

Fuente: Base de datos de la investigación

**Anexo 10.** Interacciones entre factores de riesgo en mujeres con LIEAG. Estudio caso control. Villa Clara 2018 - 2021.

Factores de riesgo	LIEAG (N= 54)		Controles (N= 60)		X <sup>2</sup> de Pearson o *TE Fisher		OR Observado Factores conjuntos		OR Esperado Modelo Aditivo	OR Esperado Modelo Multiplicativo
	No	%	No	%	Valor	Signif.	Valor	CI al 95 %	Valor	Valor
Sexualidad precoz+ Múltiples parejas sexuales	25	46,29	8	13,33	14,88	0,0001	5,60	2,07 – 15,62	11,767	35,586
Sexualidad precoz+ Parto temprano	13	24,07	2	3,33		0,001*	9,20	1,82 – 62,55	15,864	57,997
Sexualidad precoz+ No preservativo	31	57,40	13	21,66	15,18	0,0001	4,87	2,00 – 12,05	8,703	17,079
Sexualidad precoz + Fumador pasivo	17	31,48	3	5,00		0,0001*	8,73	2,19 – 40,50	8,067	13,445
Sexualidad precoz+ Consumo de píldora	25	46,29	12	20,00	8,89	0,002	3,45	1,40 – 8,62	8,144	13,885
Fumador pasivo + Múltiples parejas sexuales	10	18,51	3	5,00		0,023*	4,32	1,01 – 21,19	8,406	14,242
No preservativo + Múltiples parejas sexuales	24	44,44	13	21,66	6,67	0,009	2,89	1,19 – 7,11	9,042	18,092
No preservativo + Parto temprano	13	24,07	2	3,33		0,001*	9,20	1,82 – 62,55	13,139	30,338
No preservativo + ITS previas	17	31,48	3	5,00		0,0001*	27,11	3,57 – 569,11	22,927	59,594
No preservativo + Fumador pasivo	16	29,62	7	11,66	5,64	0,017	3,19	1,09 – 9,57	5,342	7,033
No preservativo + Cáncer útero familiares de I Grado	7	12,96	2	3,33		0,025*	8,79	1,02 – 196,75	11,776	26,264
No preservativo + Consumo de píldora	27	50,00	14	40,00	8,70	0,003	3,29	1,37 – 7,95	4,275	3,843
Consumo de píldora + Múltiples parejas sexuales	20	37,03	6	10,00	11,70	0,0001	5,29	1,77 – 16,53	8,483	14,708
Consumo de píldora + Fumador pasivo	14	25,92	7	11,66	3,81	0,050	2,65	0,89 – 8,08	4,783	5,717
Consumo de píldora + ITS previas	15	27,77	2	3,33		0,0001*	11,15	2,24 – 75,01	22,368	48,449
Otras interacciones										
Sexualidad precoz+ No Vitaminas/Minerales	29	53,70	13	21,66	12,43	0,0001	4,19	1,73 – 10,32	7,464	9,999
No preservativo + No Vitaminas/Minerales	35	64,81	21	35,00	10,02	0,001	3,42	1,48 – 7,99	4,739	5,230
Fumador pasivo + No Vitaminas/Minerales	16	29,62	6	10,00	6,97	0,008	3,79	1,24 – 12,05	4,103	9,654

LIEAG: Lesión Intraepitelial Escamosa de Alto Grado. \*TE: Test Exacto de Fisher (p<0,05)

Fuente: Base de datos de la investigación

**Anexo 11.** Interacciones entre factores de riesgo en mujeres con CE. Estudio caso control. Villa Clara 2018 - 2021.

Factores de riesgo	CE (N= 52)		Controles (N= 60)		X <sup>2</sup> de Pearson o *TE Fisher		OR Observado Factores conjuntos		OR Esperado Modelo Aditivo	OR Esperado Modelo Multiplicativo
	No	%	No	%	Valor	Signif.	Valor	CI al 95 %	Valor	Valor
Sexualidad precoz+ Múltiples parejas sexuales	19	36,23	8	13,33	8,13	0,004	3,74	1,35 – 10,62	8,990	9,845
Sexualidad precoz+ Parto temprano	24	46,15	2	3,33	28,40	0,0001	24,86	5,12 – 164,16	37,611	127,82
Sexualidad precoz+ No preservativo	31	29,61	13	21,66	16,67	0,0001	5,34	2,17 – 13,36	12,954	34,666
Sexualidad precoz + Hábito de fumar	9	17,30	2	3,33		0,005*	12,35	1,50 – 269,95	17,826	53,073
Sexualidad precoz + Fumador pasivo	17	32,69	3	5,00	14,43	0,001	9,23	2,30 – 42,93	7,778	15,112
Sexualidad precoz+ No Vitaminas/Minerales	30	57,69	13	21,66	15,15	0,0001	4,93	2,01 – 12,29	6,992	12,142
No preservativo + Múltiples parejas sexuales	22	42,30	13	21,66	5,47	0,002	2,65	1,08 – 6,58	11,782	23,912
No preservativo + Parto temprano	24	46,15	2	3,33	28,40	0,0001	24,86	5,12 – 164,16	43,009	310,451
No preservativo + Fumador pasivo	24	46,15	7	11,66	16,40	0,0001	6,49	2,29 – 19,06	13,176	36,704
No preservativo + No Vitaminas/Minerales	42	80,76	21	35,00	23,50	0,0001	7,80	3,02 – 20,60	12,390	29,491
No preservativo + Obesidad	12	23,07	2	3,33	9,84	0,002	8,70	1,70 – 59,72	17,876	79,831
Fumador pasivo + Múltiples parejas sexuales	11	21,15	3	5,00	6,59	0,010	5,10	1,21 – 24,74	6,606	10,424
Fumador pasivo + No Vitaminas/Minerales	25	48,07	6	11,53	18,16	0,0001	7,50	2,55 – 23,14	7,214	12,856
No Vitaminas/Minerales + Múltiples parejas sexuales	20	38,46	7	11,66	10,83	0,0001	4,73	1,65 – 14,0	5,820	8,375
No Vitaminas/Minerales + Parto temprano	23	44,23	2	3,33	26,63	0,0001	23,0	4,73 – 151,99	37,047	108,739
No Vitaminas/Minerales + Obesidad	12	23,07	2	3,33	9,84	0,002	8,70	1,70 – 59,72	11,914	27,961

CE: Carcinoma epidermoide, \*TE: Test Exacto de Fisher (p&lt;0,05)

Fuente: Base de datos de la investigación



**Anexo 12.** Operacionalización de las variables bioquímicas de estrés oxidativo.

Estudio caso control. Villa Clara. 2018 - 2021.

<b>Variables bioquímicas de Estrés Oxidativo</b>	<b>Clasificación</b>	<b>Definición</b>
Superóxido dismutasa (SOD)	Cuantitativa continua	Enzima antioxidante que cataliza la dismutación del radical superóxido ( $O_2^-$ ) en $O_2$ y $H_2O_2$ . Se expresó en unidades de actividad enzimática específica (U/mg). <sup>57</sup>
Catalasa (CAT)	Cuantitativa continua	Enzima antioxidante perteneciente a la categoría de las oxido-reductasas, que cataliza la descomposición del $H_2O_2$ en $O_2$ y $H_2O$ . Puede actuar como una peroxidasa para muchas sustancias orgánicas. Se expresó en U/mg. <sup>57</sup>
Glutatión reducido (GSH)	Cuantitativa continua	Tripéptido no proteico que se deriva de los aminoácidos. Es el mayor antioxidante endógeno producido por las células. Su concentración se expresó en $\mu M$ . <sup>57</sup>
Malonildaldehído (MDA)	Cuantitativa continua	Dialdehído de tres átomos de carbono producido principalmente por la degradación oxidativa de los ácidos grasos poliinsaturados, indicador de daño oxidativo a lípidos. Su concentración se expresó en $\mu M$ . <sup>138</sup>
Productos Avanzados de la Oxidación de Proteínas (PAOP)	Cuantitativa continua	Productos de reacciones de agregación, entrecruzamiento y fragmentación de las proteínas luego de su oxidación, indicador de daño oxidativo a proteínas. Su concentración se expresó en $\mu M/mg$ de proteínas. <sup>138</sup>
Proteínas Totales (PT)	Cuantitativa continua	Proteínas formadas por cadenas lineales de aminoácidos, con funciones biorreguladoras. Forman parte de las enzimas y de defensa (anticuerpos). <sup>144</sup> Su concentración se expresa en g/L. Se utilizó para los cálculos de las actividades enzimáticas específicas y los niveles de PAOP.

**Anexo 13.** Indicadores de estrés oxidativo según factores de riesgo en mujeres con LIEBG. Estudio caso control 2018 - 2021.

Factor de riesgo	Tipos de lesión	No	Mediana (Rango intercuartílico)				
			SOD (U/mg)	CAT (U/mg)	GSH ( $\mu$ M)	MDA ( $\mu$ M)	PAOP ( $\mu$ M/mg prot)
Consumo de Píldora anticonceptivas	LIEBG	63	0,032 (0,022 – 0,057)	0,485 (0,308 – 0,584)	31,200 (24,070 – 37,440)	0,881 (0,558 – 1,462)	0,675 (0,451 – 0,938)
	Control	27	0,051 (0,041 – 0,067)	0,507 (0,423 – 0,562)	32,740 (29,000 – 45,860)	0,804 (0,683 – 1,034)	0,911 (0,770 – 1,014)
	p		0,042	0,285	0,068	0,398	0,386
Exposición a tóxicos ambientales en residencia	LIEBG	27	0,041 (0,028 – 0,058)	0,523 (0,367 – 0,752)	32,600 (28,240 – 41,440)	1,015 (0,795 – 1,589)	1,023 (0,750 – 1,479)
	Control	48	0,052 (0,041 – 0,063)	0,507 (0,423 – 0,559)	32,608 (22,650 – 47,747)	0,842 (0,686 – 0,992)	0,830 (0,628 – 1,029)
	p		0,018	0,473	0,745	0,007	0,029
Fumador pasivo	LIEBG	45	0,044 (0,028 – 0,066)	0,499 (0,333 – 0,606)	30,930 (24,795 – 37,370)	0,850 (0,558 – 1,070)	0,864 (0,648 – 1,175)
	Control	48	0,052 (0,041 – 0,063)	0,501 (0,423 – 0,551)	37,759 (23,962 – 46,257)	0,770 (0,625 – 0,909)	0,853 (0,612 – 1,012)
	p		0,446	0,821	0,329	0,549	0,479
No consumo de vitaminas / minerales	LIEBG	72	0,035 (0,022 – 0,054)	0,436 (0,308 – 0,588)	28,765 (22,487 – 34,470)	0,892 (0,574 – 1,901)	1,037 (0,751 – 1,394)
	Control	20	0,061 (0,042 – 0,066)	0,521 (0,433 – 0,608)	34,295 (21,845 – 1,037)	0,842 (0,697 – 1,037)	0,925 (0,685 – 1,044)
	p		0,004	0,071	0,097	0,532	0,134

LIEBG: Lesión Intraepitelial de Bajo Grado, SOD: Superóxido dismutasa, CAT: Catalasa, GSH: Glutatión reducido, MDA: Malonidialdehído, PAOP: Productos Avanzados de la Oxidación de Proteínas.  
 Test U de Mann-Whitney, p: significación  $p < 0,05$  y  $p < 0,01$   
 Fuente: Resultados de investigación

**Anexo 14.** Indicadores de estrés oxidativo, según factores de riesgo en mujeres con LIEAG. Estudio caso control 2018 - 2021.

Factor de riesgo	Tipos de lesión	No	Mediana (Rango intercuartílico)				
			SOD (U/mg)	CAT (U/mg)	GSH ( $\mu$ M)	MDA ( $\mu$ M)	PAOP ( $\mu$ M/mg prot)
Consumo de Píldora anticonceptivas	LIEAG	33	0,035 (0,019 – 0,053)	0,367 (0,299 – 0,506)	27,080 (20,040-31,845)	0,983 (0,583 – 2,102)	0,833 (0,602 – 1,275)
	Control	27	0,051 (0,041 – 0,067)	0,507 (0,423 – 0,562)	32,740 (29,000 – 45,860)	0,804 (0,683 – 1,034)	0,911 (0,770 – 1,014)
	p		0,012	0,005	0,002	0,232	0,608
Exposición a tóxicos ambientales en residencia	LIEAG	19	0,037 (0,017 – 0,070)	0,339 (0,234 – 0,494)	26,970 (22,430-37,590)	0,670 (0,491 – 1,146)	1,288 (0,619 – 1,588)
	Control	48	0,052 (0,041 – 0,063)	0,507 (0,423 – 0,559)	32,608 (22,650 – 47,747)	0,842 (0,686 – 0,992)	0,830 (0,628 – 1,029)
	p		0,054	0,001	0,278	0,478	0,036
Fumador pasivo	LIEAG	20	0,035 (0,019 – 0,053)	0,348 (0,294 – 0,484)	25,880 (18,750-31,885)	0,967 (0,511 – 1,696)	0,888 (0,635 – 1,281)
	Control	48	0,052 (0,041 – 0,063)	0,501 (0,423 – 0,551)	37,759 (23,962 – 46,257)	0,770 (0,625 – 0,909)	0,853 (0,612 – 1,012)
	p		0,006	0,002	0,020	0,279	0,604
No consumo de vitaminas/minerales	LIEAG	42	0,033 (0,017 – 0,043)	0,341 (0,245 – 0,487)	29,670 (22,200-33,690)	1,230 (0,935 – 3,375)	1,064 (0,691 – 1,667)
	Control	20	0,061 (0,042 – 0,066)	0,521 (0,433 – 0,608)	34,295 (21,845 – 1,037)	0,842 (0,697 – 1,037)	0,925 (0,685 – 1,044)
	p		0,0001	0,001	0,168	0,005	0,164

LIEAG: Lesión Intraepitelial de Alto Grado, SOD: Superóxido dismutasa, CAT: Catalasa, GSH: Glutación reducido, MDA: Malonildialdehído, PAOP: Productos Avanzados de la Oxidación de Proteínas. Test U de Mann-Whitney, p: significación  $p < 0,05$  y  $p < 0,01$ .

Fuente: Resultados de investigación

**Anexo 15.** Indicadores de estrés oxidativo, según factores de riesgo en mujeres con CE. Estudio caso control 2018 - 2021.

Factor de riesgo	Tipos de lesión	No	Mediana (Rango intercuartílico)				
			SOD (U/mg)	CAT (U/mg)	GSH ( $\mu$ M)	MDA ( $\mu$ M)	PAOP ( $\mu$ M/mg prot)
Consumo de Píldora anticonceptivas	CE	19	0,032 (0,023 – 0,047)	0,439 (0,295 – 0,526)	25,970 (19,830 - 37,810)	1,005 (0,575 – 1,548)	1,119 (0,988 – 1,503)
	Control	27	0,051 (0,041 – 0,067)	0,507 (0,423 – 0,562)	32,740 (29,000 – 45,860)	0,804 (0,683 – 1,034)	0,911 (0,770 – 1,014)
	p		0,584	0,196	0,006	0,321	0,007
Exposición a tóxicos ambientales en residencia	CE	23	0,058 (0,035 – 0,067)	0,398 (0,296 – 0,833)	29,930 (21,160 – 37,810)	1,005 (0,740 – 1,290)	1,307 (0,841 – 2,921)
	Control	48	0,052 (0,041 – 0,063)	0,507 (0,423 – 0,559)	32,608 (22,650 – 47,747)	0,842 (0,686 – 0,992)	0,830 (0,628 – 1,029)
	p		0,410	0,191	0,083	0,012	0,0001
Fumador pasivo	CE	26	0,047 (0,018 – 0,065)	0,442 (0,293 – 0,807)	24,475 (19,830 – 33,605)	1,015 (0,737 – 1,532)	1,240 (0,772 – 2,623)
	Control	48	0,052 (0,041 – 0,063)	0,501 (0,423 – 0,551)	37,759 (23,962 – 46,257)	0,770 (0,625 – 0,909)	0,853 (0,612 – 1,012)
	p		0,241	0,398	0,025	0,002	0,001
No consumo de vitaminas / minerales	CE	45	0,056 (0,023 – 0,067)	0,437 (0,323 – 0,663)	29,340 (20,495 – 38,499)	0,955 (0,734 – 1,478)	1,241 (0,829 – 1,628)
	Control	20	0,061 (0,042 – 0,066)	0,521 (0,433 – 0,608)	34,295 (21,845 – 1,037)	0,842 (0,697 – 1,037)	0,925 (0,685 – 1,044)
	p		0,306	0,299	0,147	0,101	0,006

CE: Carcinoma epidermoide, SOD: Superóxido dismutasa, CAT: Catalasa, GSH: Glutati6n reducido, MDA: Malonildialdehido, PAOP: Productos Avanzados de la Oxidaci6n de Proteínas.

Test U de Mann-Whitney, p: significaci6n  $p < 0,05$  y  $p < 0,01$ .

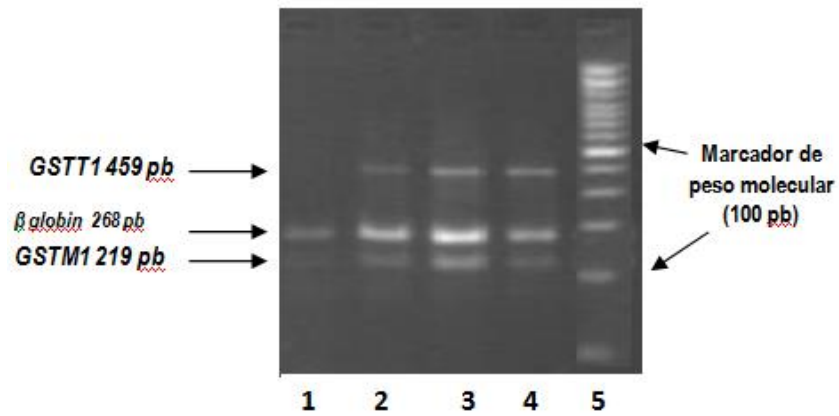
Fuente: Resultados de investigaci6n

## Anexo 16. Operacionalización de las variables moleculares de polimorfismos genéticos de la enzima GST.

Variables Moleculares	Clasificación	Definición
Glutación-S-transferasa (GST)	Cualitativa nominal	Familia de enzimas dispuestas en cinco clases distintas que intervienen en la detoxificación celular. Estas enzimas catalizan el sustrato fisiológico GSH (g-Glu-Cys-Gly), sobre el centro electrofílico de un gran número de estructuras tóxicas y permiten su degradación. <sup>10,68</sup>
Glutación-S-transferasa clase Theta ( <i>GSTT1</i> )	Cualitativa nominal dicotómica	Gen de <i>GST</i> clase theta, se localiza en el cromosoma 22 (22q11.23), posee 5 exones y 8 179 pb. Posibles genotipos <i>GSTT1</i> : <i>GSTT1</i> +/, <i>GSTT1</i> +/-, <i>GSTT1</i> -/. Se evaluó Presente o Nulo. <sup>10,68</sup>
Glutación-S-transferasa clase Mu ( <i>GSTM1</i> )	Cualitativa nominal dicotómica	Gen de <i>GST</i> clase mu, se localiza en el cromosoma 1 (1p13.3), posee 8 exones y 21 244 pb. Posibles genotipos <i>GSTM1</i> : <i>GSTM1</i> +/, <i>GSTM1</i> +/-, <i>GSTM1</i> -/. Se evaluó Presente o Nulo. <sup>10,68</sup>
Fenotipos electroforéticos observados	Cualitativa nominal dicotómica	<i>GSTT1</i> presente, <i>GSTT1</i> nulo, <i>GSTM1</i> presente, <i>GSTM1</i> nulo. Se consideraron variable de riesgo <i>GSTT1</i> nulo y <i>GSTM1</i> nulo.
Interacción gen-gen	Cualitativa nominal dicotómica	Genotipos resultantes de la interacción de ambos loci. Valores finales son: <i>GSTT1</i> +/+ vs <i>GSTM1</i> +/, <i>GSTT1</i> +/+ vs <i>GSTM1</i> +/-, <i>GSTT1</i> +/+ vs <i>GSTM1</i> -/, <i>GSTT1</i> +/- vs <i>GSTM1</i> +/, <i>GSTT1</i> +/- vs <i>GSTM1</i> +/-, <i>GSTT1</i> +/- vs <i>GSTM1</i> -/, <i>GSTT1</i> -/- vs <i>GSTM1</i> +/, <i>GSTT1</i> -/- vs <i>GSTM1</i> +/-, <i>GSTT1</i> -/- vs <i>GSTM1</i> -/. Se consideraron variable de riesgo las interacciones de <i>GSTM1</i> -/ y <i>GSTT1</i> -/ (genotipo doble nulo: <i>GSTM1</i> -/ & <i>GSTT1</i> -/).

**Anexo 17.** Diagrama de representación de los polimorfismos *GSTT1* y *GSTM1*.

Estudio caso control. Villa Clara 2018 - 2021.



Visualización de los productos de amplificación de los genes *GSTT1* y *GSTM1*. Los carriles 1 al 4 corresponden a muestras de pacientes, donde se observan las bandas correspondientes a los genes *GSTT1*, *GSTM1* y  $\beta$ -globina (control positivo). El carril 5 corresponde al marcador de peso molecular de 100 pb (ladder) para comparar el tamaño del producto amplificado.

**Anexo 18.** Frecuencias fenotípicas de las diferentes combinaciones de los polimorfismos de *GSTT1* y *GSTM1* en controles y mujeres con lesiones de cuello uterino. Estudio caso control 2018 - 2021.

Genes	Combinaciones	Frecuencias fenotípicas		p Lesión vs Control
		N	(%)	
<b>Control (N= 41)</b>				
<i>GSTT1</i> y <i>GSTM1</i>	<i>GSTT1</i> +/ <i>GSTM1</i> +	24	(58,53)	
	<i>GSTT1</i> +/ <i>GSTM1</i> -	1	(2,43)	
	<i>GSTT1</i> -/ <i>GSTM1</i> +	8	(19,51)	
	<i>GSTT1</i> -/ <i>GSTM1</i> -	8	(19,51)	
<b>LIEBG (N= 35)</b>				
<i>GSTT1</i> y <i>GSTM1</i>	<i>GSTT1</i> +/ <i>GSTM1</i> +	21	(60,00)	1,000
	<i>GSTT1</i> +/ <i>GSTM1</i> -	1	(2,85)	1,000
	<i>GSTT1</i> -/ <i>GSTM1</i> +	4	(11,42)	0,367
	<i>GSTT1</i> -/ <i>GSTM1</i> -	9	(25,71)	0,587
<b>LIEAG (N= 32)</b>				
<i>GSTT1</i> y <i>GSTM1</i>	<i>GSTT1</i> +/ <i>GSTM1</i> +	23	(71,87)	0,325
	<i>GSTT1</i> +/ <i>GSTM1</i> -	0	(0,00)	1,000
	<i>GSTT1</i> -/ <i>GSTM1</i> +	1	(3,12)	0,068
	<i>GSTT1</i> -/ <i>GSTM1</i> -	8	(25,00)	0,776
<b>CE (N= 32)</b>				
<i>GSTT1</i> y <i>GSTM1</i>	<i>GSTT1</i> +/ <i>GSTM1</i> +	15	(46,87)	0,352
	<i>GSTT1</i> +/ <i>GSTM1</i> -	0	(0,00)	1,000
	<i>GSTT1</i> -/ <i>GSTM1</i> +	3	(9,37)	0,327
	<i>GSTT1</i> -/ <i>GSTM1</i> -	14	(43,75)	0,039

LIEBG: Lesión Intraepitelial de Bajo Grado, LIEAG: Lesión Intraepitelial de Alto Grado, CE: Carcinoma epidermoide,

p= Prueba de hipótesis (InfoStat) p<0,05

Fuente: Resultados de investigación

**Anexo 19.** Interacciones gen - ambiente en mujeres con LIEBG. Estudio caso control. Villa Clara. 2018 - 2021.

Factores de riesgo	LIEBG (N= 35)		Controles (N= 41)		X <sup>2</sup> de Pearson o *TE Fisher		OR Observado		OR Esperado Modelo Aditivo	OR Esperado Modelo Multiplicativo
	No	%	No	%	Valor	Signif.	Valor	CI al 95 %	Valor	Valor
<i>GSTT1</i> nulo + Fumador pasivo	6	17,14	2	4,87		0,133*	4,03	0,66 – 31,41	4,489	3,852
<i>GSTT1</i> nulo + Hábito alcohólico	1	2,85	1	2,43		1,000*	1,18	0,00 – 45,07	7,600	7,449
<i>GSTT1</i> nulo + Sexualidad precoz	12	34,28	9	21,95	1,42	0,233	1,86	0,60 – 5,80	6,227	5,862
<i>GSTT1</i> nulo + Múltiples parejas sexuales	8	22,85	4	9,75	2,41	0,120	2,74	0,65 – 12,25	6,211	5,843
<i>GSTT1</i> nulo + Parto temprano	5	14,28	1	2,43		0,088*	6,67	0,69 – 158,99	9,932	10,145
<i>GSTT1</i> nulo + No preservativo	12	34,28	10	24,39	0,89	0,346	1,62	0,53 – 4,94	3,195	2,357
<i>GSTT1</i> nulo + CCU familiares de I grado	1	2,85	1	2,43		1,000*	1,18	0,00 – 45,07	10,075	10,310
<i>GSTT1</i> nulo + Enfermedad benignas del cérvix	6	17,14	2	5,71		0,109*	4,87	0,78 – 30,28	5,035	4,484
<i>GSTM1</i> nulo + Fumador pasivo	5	14,28	1	2,43		0,088*	6,67	0,69 – 158,99	4,761	4,759
<i>GSTM1</i> nulo + Hábito alcohólico	1	2,85	1	2,43		1,000*	1,18	0,00 – 45,07	7,872	9,202
<i>GSTM1</i> nulo + Sexualidad precoz	7	20,00	3	7,31		0,172*	3,17	0,65 - 17,18	6,499	7,241
<i>GSTM1</i> nulo + Múltiples parejas sexuales	5	14,28	2	4,87		0,237*	3,25	0,50 – 26,23	6,483	7,218
<i>GSTM1</i> nulo + No preservativo	7	20,00	6	14,63	0,38	0,538	1,46	0,38 – 5,64	3,467	2,911
<i>GSTM1</i> nulo + Enfermedad benigna del cérvix	4	11,42	2	4,87		0,620*	2,40	0,30 – 19,04	5,307	5,539
Ambos nulos + Fumador pasivo	5	14,28	1	2,43		0,088*	6,67	0,69 – 158,99	4,761	4,759
Ambos nulos + Hábito alcohólico	1	2,85	1	2,43		1,000*	1,18	0,00 – 45,07	7,872	9,202
Ambos nulos + Sexualidad precoz	7	20,00	3	7,31		0,172*	3,17	0,65 - 17,18	6,499	7,241
Ambos nulos + Múltiples parejas sexuales	5	14,28	2	4,87		0,237*	3,25	0,50 – 26,23	6,483	7,218
Ambos nulos + No preservativo	7	20,00	6	14,63	0,38	0,538	1,46	0,38 – 5,64	3,467	2,911
Ambos nulos + Enfermedad benigna del cérvix	4	11,42	2	4,87		0,405*	2,52	0,36 – 21,39	5,307	5,539

LIEBG: Lesión Intraepitelial Escamosa de Bajo Grado, \*Test Exacto de Fisher, Significación: p&lt; 0,05

Fuente: Resultados de investigación



**Anexo 20.** Interacciones gen - ambiente en mujeres con LIEAG. Estudio caso control. Villa Clara. 2018 - 2021.

Factores de riesgo	LIEAG (N= 32)		Controles (N= 41)		X <sup>2</sup> de Pearson o *TE Fisher		OR Observado		OR Esperado Modelo Aditivo	OR Esperado Modelo Multiplicativo
	No	%	No	%	Valor	Signif.	Valor	CI al 95 %	Valor	Valor
<i>GSTT1</i> nulo + Hábito de fumar	1	3,12	1	2,43		1,000*	1,29	0,00 – 49,57	19,385	12,683
<i>GSTT1</i> nulo + Fumador pasivo	2	6,25	2	4,87		1,000*	1,30	0,12 – 13,95	3,031	1,595
<i>GSTT1</i> nulo + Píldoras anticonceptivas	7	21,87	11	26,82	0,23	0,628	0,76	0,22 – 2,56	3,100	1,647
<i>GSTT1</i> nulo + Sexualidad precoz	6	18,75	9	21,95	0,11	0,738	0,82	0,22 – 2,97	6,392	3,874
<i>GSTT1</i> nulo + Múltiples parejas sexuales	4	12,50	4	9,75		0,723*	1,32	0,25 – 7,05	6,731	4,103
<i>GSTT1</i> nulo + Parto temprano	3	9,37	1	2,43		0,312*	4,14	0,35 – 108,88	10,828	6,881
<i>GSTT1</i> nulo + Enfermedad benigna del cérvix	6	18,75	3	7,31		0,162*	3,00	0,59 – 16,88	3,408	1,850
<i>GSTT1</i> nulo + No preservativo	9	28,12	10	24,39	0,13	0,720	1,21	0,38 – 3,92	3,667	2,026
<i>GSTT1</i> nulo + CCU familiares de I grado	1	3,12	1	2,43		1,000*	1,29	0,00 – 49,57	9,465	5,957
<i>GSTM1</i> nulo + Hábito de fumar	1	3,12	1	2,43		1,000*	1,29	0,00 – 49,57	19,682	25,172
<i>GSTM1</i> nulo + Fumador pasivo	2	6,25	1	2,43		0,578*	2,67	0,18 – 78,20	3,728	3,235
<i>GSTM1</i> nulo + Píldoras anticonceptivas	6	18,75	7	17,07	0,03	0,853	1,12	0,29 – 4,33	2,661	1,768
<i>GSTM1</i> nulo + Sexualidad precoz	6	18,75	3	7,31		0,167*	2,92	0,57 – 16,46	7,089	7,856
<i>GSTM1</i> nulo + Múltiples parejas sexuales	4	12,50	2	4,87		0,394*	2,79	0,40 – 23,00	7,428	8,322
<i>GSTM1</i> nulo + Enfermedad benigna del cérvix	7	21,87	3	7,31		0,093	3,55	0,72 – 19,39	4,105	3,753
<i>GSTM1</i> nulo + No preservativo	8	25,00	6	14,63	1,23	0,267	1,94	0,52 – 7,39	4,364	4,109
Ambos nulos + Hábito de fumar	1	3,12	1	2,43		1,000*	1,29	0,00 – 49,57	19,682	25,172
Ambos nulos + Fumador pasivo	2	6,25	1	2,43		0,578*	2,67	0,18 – 78,20	3,728	3,235
Ambos nulos + Píldoras anticonceptivas	6	18,75	6	14,63	0,22	0,640	1,35	0,33 – 5,45	2,661	1,768
Ambos nulos + Sexualidad precoz	6	18,75	3	7,31		0,167*	2,92	0,57 – 16,46	7,089	7,856
Ambos nulos + Múltiples parejas sexuales	4	12,50	2	4,87		0,394*	2,79	0,40 – 23,00	7,428	8,322
Ambos nulos + No preservativo	8	25,00	6	14,63	1,23	0,267	1,94	0,52 – 7,39	4,364	4,109

LIEAG: Lesión Intraepitelial de Alto Grado, \*Test Exacto de Fisher, Significación: p< 0,05

Fuente: Resultados de investigación

**Anexo 21.** Interacciones gen - ambiente en mujeres con CE. Estudio caso control. Villa Clara. 2018 - 2021.

Factores de riesgo	CE (N= 32)		Controles (N= 41)		X <sup>2</sup> de Pearson o *TE Fisher		OR Observado		OR Esperado Modelo Aditivo	OR Esperado Modelo Multiplicativo
	No	%	No	%	Valor	Signif.	Valor	CI al 95 %	Valor	Valor
<i>GSTT1</i> nulo + Hábito de fumar	2	6,25	1	2,43		0,578*	2,67	0,18 – 78,20	16,012	27,590
<i>GSTT1</i> nulo + Fumador pasivo	9	28,12	2	4,87		0,008*	7,63	1,35 – 56,38	5,964	7,856
<i>GSTT1</i> nulo + Hábito alcohólico	2	6,25	1	2,43		0,278*	2,67	0,18 – 78,20	7,237	10,356
<i>GSTT1</i> nulo + Exposición tóxicos ambientales	7	21,87	4	9,75		0,194*	2,59	0,59 – 11,98	5,136	6,229
<i>GSTT1</i> nulo + No vitaminas/minerales	17	53,12	7	17,07	10,44	0,001	5,50	1,69 – 18,62	5,178	6,312
<i>GSTT1</i> nulo + Sexualidad precoz	10	31,25	9	21,95	0,80	0,372	1,62	0,50 – 5,26	5,742	7,419
<i>GSTT1</i> nulo + Múltiples parejas sexuales	8	25,00	4	9,75	3,00	0,083	3,08	0,73 – 13,92	4,570	5,118
<i>GSTT1</i> nulo + Parto temprano	9	28,12	1	2,43		0,003*	15,65	1,80 – 351,18	35,797	66,448
<i>GSTT1</i> nulo + No preservativo	16	50,00	10	24,39	5,07	0,024*	3,10	1,03 – 9,50	11,140	18,021
<i>GSTT1</i> nulo + CCU familiares de I grado	3	9,37	1	2,43		0,317*	4,00	0,34 – 105,13	9,660	15,114
<i>GSTM1</i> nulo + Hábito de fumar	2	6,25	1	2,43		0,578*	2,67	0,18 – 78,20	17,256	45,065
<i>GSTM1</i> nulo + Fumador pasivo	7	21,87	1	2,43		0,018*	11,20	1,24 – 257,01	7,208	12,832
<i>GSTM1</i> nulo + Hábito alcohólico	2	6,25	1	2,43		0,578*	2,67	0,18 – 78,20	8,481	16,915
<i>GSTM1</i> nulo + Tóxicos ambientales	6	18,75	2	4,87		0,126*	4,50	0,73 – 35,25	6,380	10,175
<i>GSTM1</i> nulo + No vitaminas/minerales	14	43,75	4	9,75	11,03	0,0001	7,19	1,83 – 30,61	6,422	10,310
<i>GSTM1</i> nulo + Sexualidad precoz	7	21,87	3	7,31		0,093*	3,55	0,72 – 19,39	6,986	12,119
<i>GSTM1</i> nulo + Múltiples parejas sexuales	5	15,62	2	4,87		0,228*	3,61	0,56 – 29,30	5,814	8,360
<i>GSTM1</i> nulo + No preservativo	13	40,62	6	14,63	6,22	0,012	3,99	1,16 – 14,25	12,384	29,436
Ambos nulos + Hábito de fumar	2	6,25	1	2,43		0,578*	2,67	0,18 – 78,20	17,256	45,065
Ambos nulos + Fumador pasivo	7	21,87	1	2,43		0,018*	11,20	1,24 – 257,01	7,208	12,832
Ambos nulos + Hábito alcohólico	2	6,25	1	2,43		0,578*	2,67	0,18 – 78,20	8,481	16,915
Ambos nulos + Tóxicos ambientales	6	18,75	3	7,31		0,167*	2,92	0,57 – 16,46	6,380	10,175
Ambos nulos + No vitaminas/minerales	14	43,75	4	9,75	11,03	0,0001	7,19	1,83 – 30,61	6,422	10,310
Ambos nulos + Sexualidad precoz	7	21,87	3	7,31		0,093*	3,55	0,72 – 19,39	6,986	12,119

---

Ambos nulos + Múltiples parejas sexuales	5	15,62	2	4,87		0,228*	3,61	0,56 – 29,30	5,814	8,360
Ambos nulos + No preservativo	13	40,62	6	14,63	6,22	0,012	3,99	1,16 – 14,25	12,384	29,436

---

CE: Carcinoma epidermoide, \*Test Exacto de Fisher, Significación:  $p < 0,05$

Fuente: Resultados de investigación