

**INSTITUTO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS DE LA SALUD
"FUNDACION H. A. BARCELO"**



**FUNDACION H.A.BARCELO
FACULTAD DE MEDICINA**

**PROYECTO DE TESIS
DOCTORADO EN CIENCIAS DE LA SALUD
INSTITUTO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS DE LA SALUD
FUNDACIÓN H. A. BARCELÓ**

TÍTULO:

**Caracterización y Diagnóstico genético-molecular del virus del
Papiloma Humano de alto riesgo en población femenina de la Zona
Norte del Perú**

LUIS EDUARDO COSTA SANTOS

Doctorando

Correo Electrónico: eduardocosta@vtr.net

FRANCISCO JAVIER GONZÁLEZ ROMERO

Director Tesis

f.gonzález@uvm.cl

Buenos Aires, julio 2018.

TÍTULO:

Caracterización y Diagnóstico genético-molecular del virus del Papiloma Humano de alto riesgo en población femenina de la Zona Norte del Perú.

Palabras claves:

Diagnóstico molecular VPH, cáncer cérvico uterino, caracterización VPH de alto riesgo, factores de riesgo asociados.

INTRODUCCIÓN:

El cáncer cérvico uterino (CaCu) es un problema de salud que representa el 36% de los cánceres en mujeres. De estos el 99.7% manifiesta presencia de DNA del VPH (Virus Papiloma Humano), su principal agente etiológico, siendo los genotipos virales 16 y 18 los más frecuentes. También están involucrados como elementos causales, factores celulares, como alteraciones en protooncogenes (myc, ras) y anti-oncogenes (p53, Rb), (American Cancer Society 2014).

La infección por papilomavirus (VPH) ocurre a través de pequeñas lesiones producidas en el epitelio, que exponen las células de la lámina basal a la penetración del virus. El receptor que se sugiere como promotor de la entrada del VPH a la célula huésped es la $\alpha 6$ integrina, que se encuentra formando complejos con las $\beta 1$ y $\beta 4$ integrinas. En el mecanismo de endocitosis se han reconocido dos sistemas: el primero involucra a vesículas revestidas por el complejo proteico de clatrina y es utilizado por el VPH-16 y VPH-18; el segundo utiliza un grupo de proteínas llamadas caveolinas como es el caso del VPH-31 (Schiffman et al. 2007).

Los cánceres de cuello uterino y los precancerosos se clasifican de acuerdo con el aspecto que presentan bajo el microscopio. Existen dos tipos principales de cáncer de cuello uterino: el carcinoma de células escamosas y el adenocarcinoma. Aproximadamente un 80% a 90% de los cánceres de cuello uterino son carcinomas de células escamosas. Estos se originan en las células escamosas que cubren la superficie del exocérvix. Cuando se examina al microscopio, este tipo de cáncer se aprecia que está compuesto por células parecidas a las células escamosas. La mayoría de los tipos de cáncer de cuello uterino (cervicales) restantes son adenocarcinomas. Los adenocarcinomas cervicales parecen haberse vuelto más comunes en los últimos 20 a 30 años. El adenocarcinoma cervical se origina en las células de las glándulas productoras de mucosidad del endocérvix. Con menor frecuencia, el cáncer de cuello uterino tiene características tanto de los carcinomas de células escamosas como de los adenocarcinomas, los llamados carcinomas adenoescamosos o carcinomas mixtos.

Aunque los cánceres de cuello uterino se originan de células con cambios precancerosos (precánceres), solo algunas de las mujeres con precánceres padecerán la enfermedad. El paso de pre-cáncer a cáncer usualmente toma varios años, aunque ocasionalmente puede ocurrir en menos de un año. En algunas mujeres, las células precancerosas pueden permanecer sin ningún cambio, o incluso desaparecer sin tratamiento alguno. Aun así, en algunos casos los precánceres se convierten en cánceres verdaderos (invasivos). El tratamiento de todos los precánceres puede prevenir casi todos los cánceres verdaderos. (American Cancer Society 2014).

Se estima que el Cáncer Cervicouterino causa alrededor de 500.000 muertes al año en el mundo (Serman et al. 2002). En países en desarrollo, su incidencia llega hasta 40 por 100.000 mujeres. En

La situación epidemiológica del Cáncer Cérvico Uterino en Perú es mucho más alarmante, de acuerdo con MINSA 2016 (Guía de Práctica Clínica para la Prevención y Manejo del Cáncer de Cuello Uterino, MINSA 2016), de acuerdo con esta publicación cada día mueren 5 mujeres por cáncer cervical en Perú. El cáncer de cuello uterino se constituye en el cáncer más notificado en Perú (24.1% de los cánceres en las mujeres) y en la población general (14.9% de todos los cánceres); y, es la tercera causa de mortalidad por cáncer en mujeres. (Clifford GM. et al. 2005) El Centro de Información de VPH y Cáncer del Institut Català d'Oncologia (Jaisamram U. et al. 2013), que recopiló datos epidemiológicos sobre VPH y cáncer en el 2016, realizando un reporte sobre la situación del cáncer de cuello uterino en el Perú en base a la información disponible en Globocan. (Dirección General de Epidemiología MINSA 2013; Bruni et al. 2016). En este informe se estima que en el 2012 hubo 4636 casos y 1715 muertes por cáncer de cuello uterino, lo que representa una tasa de mortalidad de 36.6% por esta causa. En el 2012, la incidencia cruda anual por 100,000 habitantes fue de 31.3. Si se compara esta cifra con el promedio de Sudamérica que es 22.2 y la mundial que es 15.1, estos indicadores resultan ser alarmantes. La incidencia estandarizada por edad es de 32.7 para Perú, 20.3, para Sudamérica y 14.0 para el mundo. El riesgo acumulado de cáncer de cuello uterino a los 75 años es 3.4% en Perú, 2.0% en Sudamérica y 1.4% en el mundo.¹², (Bruni et al. 2016a). También para el 2012, la tasa cruda de mortalidad estimada fue de 11.6 y la tasa de mortalidad estandarizada por año fue de 12.0, mientras que en Sudamérica fue de 8.6, (Bruni L. et al. 2016b). La tasa ajustada de mortalidad por cáncer de cuello uterino varió de 7.9 muertes por 100,000 habitantes en el 2001 a 5.7 en el 2011. (Jaisamram U. et al. 2013), Por lo expuesto, el cáncer de cuello uterino es una amenaza para la salud de las mujeres peruanas y sus familias; y, por tanto, un problema de salud pública.

De acuerdo con el coordinador de la Dirección de Prevención y Control del Cáncer del Ministerio de Salud (MINSA Perú), el doctor Víctor Palacios "El 75% de casos de cáncer en el Perú son diagnosticados en estadios avanzados, lo que conlleva a un mayor riesgo de muerte por esta enfermedad. Es necesario disminuir la mortalidad por cáncer, promoviendo que las propias personas se preocupen por una detección precoz, con evaluaciones preventivas y accediendo a una atención oportuna para el manejo especializado", (Palacios V. 2018).

GUÍA DE PRÁCTICA CLÍNICA PARA LA PREVENCIÓN Y MANEJO DEL CÁNCER DE CUELLO DE

En los últimos años ha declinado la mortalidad observada hasta mediados de la década del 80, principalmente en los países desarrollados gracias al aumento de disponibilidad de programas de **screening** con frotis de Papanicolaou (PAP) (Solomon et al. 2002). Por otra parte, diversos estudios han demostrado la relación existente entre Cáncer Cervicouterino, el inicio precoz de la actividad sexual y la infección por Virus Papiloma Humano. (Franco et al, 2001; ENAS 2003; Minsal 2008).

El Virus del Papiloma Humano (VPH) es el único asociado directamente con el desarrollo del cáncer del tracto ano genital y Cervicouterino, siendo el principal factor de riesgo de estas enfermedades. El cáncer Cervicouterino es la Segunda neoplasia más prevalente en mujeres y la quinta causa de muerte por neoplasias malignas en la mujer a nivel mundial.

Para el caso de Chile representa la Sexta causa de muerte por tumores malignos, siendo su incidencia de 14.4 casos por cada 100.000 mujeres, y su mortalidad de 6.6 por cada 100.000 mujeres (Ferlay et al, 2008; Guía Clínica CCU., 2005). Esta situación ha mejorado, ya que la mortalidad fue de 5.2/100.000 mujeres en el año 2010, luego de aplicada una reforma en Salud (Fica 2014). Pese a los promisorios resultados exhibidos, el Cáncer Cervicouterino en Chile continúa siendo un importante problema de salud pública; es así como en 2010 hubo un promedio de un fallecimiento diario por esa neoplasia, cifra aun inaceptablemente alta. (Minsal 2013).

La historia natural de esta enfermedad implica la progresión gradual por etapas intraepiteliales preinvasoras (neoplasias intraepiteliales-NIE-I, II y III o carcinoma in situ -CIS-), de acuerdo con la proporción del grosor del epitelio cervical comprometido. La prevalencia global de estas lesiones preinvasoras es de 10 a 15%. Las edades de máxima prevalencia son entre los 15 y 30 años para la NIE I, 30 a 34 años para NIE II, y 35 a 49 para NIE III. La tasa de progresión de la neoplasia intraepitelial cervical se encuentra entre el 6% y el 34%, explicándose la amplitud de este rango por las condiciones de diferentes países, distintas estrategias de detección precoz en distintas poblaciones, diferentes medios socioculturales y distintos estándares de atención sanitaria (MINSAL 2006, 2008, 2013).

Según distintos estudios, la NIE I regresa en cerca del 70% de los casos, mostrando en cambio la NIE III, una tasa de progresión a carcinoma invasor de hasta 70% y una tasa de regresión de 32%. La NIE II muestra tasas de progresión a CIS o neoplasia más severa de 25%, siendo su riesgo relativo de progresión a CIS de 4,2 y a neoplasia más severa de 2,5. Debido a estos diferentes comportamientos evolutivos, se considera al NIE I como NIE de bajo grado y a las NIE II y III como de alto grado. (Serman 2002).

En 1999 se demostró que la presencia del virus del papiloma humano (VPH por sus siglas en inglés, **Human Papillomavirus**) es una causa necesaria pero no suficiente para desarrollar CaCu ya que se ha observado la participación de otros factores que contribuyen a su desarrollo (De Villiers et al. 1999). Por medio de estudios epidemiológicos se demostró la asociación de varios factores de riesgo que conducen al desarrollo de cáncer cervical (Franco et al. 2001). Entre estos factores se incluye, como factor principal, la carga viral alta y persistente de VPH de alto riesgo (Lu et al. 2009), el inicio de relaciones sexuales a temprana edad (Beral et al 2007; Winer et al. 2006), el número de parejas sexuales, el número de embarazos (Hernandez et al 2008), el uso de anticonceptivos orales (Hatch et al 2001), el hábito de fumar, factores nutricionales (Ghosh et al. 2008) y factores inmunológicos (Beral et al. 2007).

El agente etiológico del cáncer cervical es el VPH, que se transmite por vía sexual, por lo que en varios países de América Latina se han implementado campañas de prevención, como son las campañas de educación sexual para el control de la transmisión del VPH y de esta manera evitar la alta incidencia de cáncer cervical (Serman et al. 2002).

Los VPH son partículas icosaédricas sin envoltura, con un diámetro aproximado de 55 nm que contienen un genoma de ácido desoxiribonucleico (ADN) de doble cadena, circular, covalentemente cerrado, de 7,500 a 8,000 pares de bases. Actualmente se reportan 216 tipos de los cuales alrededor de 100 se encuentran completamente secuenciados. Estos virus infectan sólo las células epiteliales. Según su localización anatómica, son agrupados en mucosales y cutáneos y según su carácter oncogénico, son clasificados en grupos de alto riesgo y de bajo riesgo (Llop Hernandez et al 2001).

La organización genómica del virus es similar en todos los tipos de VPH y está constituida por 3 regiones fundamentales: E (región temprana), LCR (gran región de control) y L (región tardía). La primera codifica todas las proteínas E que están involucradas en la persistencia del genoma viral, en la replicación del ADN y en la activación del ciclo lítico. Esta zona se considera la región más importante en la patogénesis del cáncer invasivo, debido a que esta secuencia participa en la transformación celular y regula los genes virales. La región L codifica las proteínas estructurales de la cápside L1 y L2. La región LCR se encuentra entre las zonas E y L, es la región de control, no contiene secuencias codificadoras, pero posee promotores y amplificadores importantes en la regulación de la transcripción de los genes virales (Johnson et al 1994).

El aspecto más peligroso del virus papiloma humano es su potencial para causar cáncer. Sus productos génicos, interactúan con dos genes celulares, Rb y p53, los que regulan la división celular normal. El producto del gen supresor de tumores RB, ejerce su efecto durante la primera parte de la fase G1 del ciclo celular. En este período o en las células quiescentes, esta proteína es unida al factor de la transcripción E2F. Este complejo tiene 2 funciones, en primer lugar, muchos de los genes cuyos productos son esenciales para la fase S de dicho ciclo dependen de la actividad del factor E2F. Por tanto, el RB, mediante el secuestro de este factor de la transcripción garantiza que la fase S no pueda ser iniciada.

En segundo lugar, el complejo E2F-RB reprime la transcripción de otros genes. En el punto de restricción de la fase G1 del ciclo celular o cerca del mismo el RB es fosforilado por el complejo quinasa/dependiente de ciclinas y esta fosforilación causa la liberación del factor E2F por el RB, el cual entonces activa los genes cuyas funciones son requeridas para la fase S, también de reprimen otros genes cuya función estaba controlada por el mismo complejo. Cuando VPH infecta una célula, desde la región E, en forma precisa desde el gen E7 se genera la proteína E7. La proteína E7 se une a la proteína del Retinoblastoma (PRB), liberando el Factor de Transcripción E2F, el que se encuentra unido basalmente en fase G1. Como resultado se activan genes de proliferación (c-myc, Timidina kinasa, Polimerasa Alfa). Esta es una señal para que el ciclo celular avance. En

tanto E7 permanezca fijo a Rb, el ciclo celular continuará, causando así un ciclo de reproducción celular incontrolada, que es una de las características que definen a una célula maligna (Johnson et al 1994). Adicionalmente, los productos génicos de VPH interactúan con la proteína codificada por el gen p53.

En una célula, p53 se expresa en respuesta al daño en el DNA. Cuando se deteriora el DNA de una célula, p53 detiene la división celular y dirige a los genes involucrados en la reparación de DNA a fin de corregir el daño. Si no es posible reparar el DNA, p53 causa entonces apoptosis (muerte celular programada), garantizando así que la célula dañada muera y no se reproduzca. En las células cancerosas, p53 a menudo aparece mutado o no funcional, generando que las células con DNA dañado o alterado sigan viviendo en vez de ser destruidas. La proteína E6 viral puede fijarse a p53 e inactivarlo. Este proceso permite que el virus utilice la maquinaria celular para reproducirse a sí mismo, evitando que p53 pueda comenzar el proceso de muerte celular. La replicación repetida de células con DNA alterado es el inicio de la formación de un tumor maligno. Además de bloquear el gen p53 celular, la proteína E6 viral activa a la telomerasa, enzima que sintetiza las secuencias repetitivas del telómero. La activación de esta enzima permite a la célula volverse inmortal. Esto deriva en cáncer a medida que las células mutantes siguen reproduciéndose sin control (Johnson et al. 1994).

El VPH puede evadir la respuesta inmune, por ello es importante determinar la función que tienen los oncogenes virales y la activación de la respuesta inmune en el desarrollo de este tipo de cáncer. El diagnóstico temprano para identificar una infección por VPH es todavía difícil, ya que la citología es efectiva en un 35% y la colposcopia localiza la lesión cuando es avanzada. Recientemente, se han desarrollado técnicas como la "captura híbrida" y el "**reverse line-blot**", las que son más sensibles en la detección de secuencias de DNA de VPH. Sin embargo, la desventaja de estos sistemas es que no se puede determinar si la infección por VPH es activa o latente.

El porcentaje de mujeres diagnosticadas en etapas avanzadas de cáncer cervical sigue siendo alto, lo cual implica un mayor costo al país al tratar de curarlas por medio de quimioterapia y radioterapia, procesos que además dañan al paciente (Johnson et al 1994). Por tanto, es importante el estudio de la infestación con VPH con el fin de ser usado como un predictor que ayude en el control de esta patología.

Por esto surge la necesidad de tener mayores avances en el conocimiento de todas sus formas de infestación e infección, como asimismo de los factores de riesgo asociados, esto a través de ensayos que permitan el diagnóstico temprano del contagio por VPH. El desafío que esto plantea en la población y el país se debe traducir en la necesaria disminución de la morbimortalidad en Cáncer Ginecológico en población femenina y su relación con el Cáncer en hombres.

Existen, además, otros factores de riesgo asociado al desarrollo de CaCu, que predisponen a patología cervical luego de la infección viral de alto riesgo con la instauración de la patología oncológica, por lo que también

debieran ser considerados en el momento de estimar el riesgo asociado a desarrollar cáncer.

Factores de riesgo del cáncer de cuello uterino.

Un factor de riesgo es aquel que aumenta las probabilidades de que se desarrolle una enfermedad como el cáncer. Los distintos tipos de cáncer tienen diferentes factores de riesgo. Por ejemplo, la exposición de la piel a la luz solar intensa es un factor de riesgo para el cáncer de piel. El hábito de fumar, por su parte es factor de riesgo para muchos tipos de cáncer. Pero tener uno o incluso varios factores de riesgo no significa que se padecerá la enfermedad.

En el caso del cáncer de cuello uterino son varios los factores de riesgo que aumentan la probabilidad de padecerlo. Las mujeres sin estos factores de riesgo raramente padecen dicha enfermedad. Ahora bien, aunque estos factores aumentan las probabilidades de padecer este cáncer, muchas mujeres con estos factores de riesgo no padecen la enfermedad. Cuando una mujer desarrolla cáncer de cuello uterino o cambios precancerosos del cuello uterino, no es posible afirmar con seguridad qué factor de riesgo en particular haya sido la causa.

Al considerar estos factores de riesgo, es útil enfocarse en los que se pueden cambiar o evitar (tales como fumar o una infección con el virus del papiloma humano), en vez de enfocarse en los que no se pueden cambiar (tales como su edad y antecedentes familiares). Sin embargo, sigue siendo vital conocer los factores de riesgo que no se pueden cambiar ya que resulta aún más importante para las mujeres que tienen estos factores hacerse la prueba para detectar el cáncer de cuello uterino en las primeras etapas.

El mayor factor de riesgo del cáncer de cuello uterino es el virus del papiloma humano, VPH, denominado así por sus siglas en inglés. Este virus corresponde a un grupo de más de 200 virus relacionados, algunos de los cuales causan un tipo de crecimiento llamado papiloma, o conocido comúnmente como verrugas.

El VPH puede infectar a las células de la superficie de la piel, y aquellas que revisten los genitales, el ano, la boca y la garganta, pero no puede infectar la sangre o los órganos internos como el corazón o los pulmones. Este virus se puede transmitir de una persona a otra a través del contacto con la piel. Una manera en la que el VPH se transmite es mediante las relaciones sexuales, incluyendo coito vaginal, penetración anal e incluso sexo oral.

Los diferentes tipos de VPH causan verrugas en diferentes partes del cuerpo. Algunos tipos causan verrugas comunes en las manos y los pies. Otros tipos tienden a causar verrugas en los labios o la lengua. Ciertos tipos de VPH pueden causar verrugas en o alrededor de los órganos genitales y en el área del ano. Estas pueden ser apenas visibles o pueden tener varios centímetros de diámetro y se conocen como verrugas genitales o condiloma acuminado. Los dos tipos de VPH que causan la mayoría de los casos de verrugas genitales son el VPH 6 y 11. A estos tipos se les llama VPH de bajo

riesgo porque rara vez están asociados con el cáncer del cuello uterino (Boshart M et al 1984; Walboomers et al 1999).

A otros tipos de VPH se les llama tipos de alto riesgo, porque están fuertemente vinculados con cánceres, incluyendo los de cuello uterino, vulva y vagina en mujeres, cáncer de pene en los hombres, y cáncer anal y oral tanto en hombres como en mujeres. Los tipos de alto riesgo incluyen VPH 16, VPH 18, VPH 31, VPH 33 y VPH 45, entre otros. Es probable que no se presenten signos visibles de infección por un VPH de alto riesgo hasta que se originen cambios precancerosos o cáncer.

Estudios sobre el tema han determinado que una mujer tiene que estar infectada con VPH antes de desarrollar cáncer de cuello uterino (Bosch FX, et al 2002; Jastreboff A, et al 2002). Aunque esto puede resultar de una infección con cualquier tipo de alto riesgo, alrededor de dos tercios de todos los cánceres de cuello uterino son causados por VPH 16 y 18. La infección por VPH es común, y en la mayoría de las personas el organismo es capaz de eliminarla por sí mismo. Algunas veces, sin embargo, la infección no desaparece y se torna crónica. Una infección crónica, especialmente cuando es causada por los tipos de VPH de alto riesgo, puede eventualmente causar ciertos cánceres, como el cérvicouterino (Wiebren A. T. et al 2013).

Aunque el VPH se puede propagar durante la relación sexual, que incluye el contacto vaginal, el anal y el sexo oral, no tiene que ocurrir el acto sexual para que la infección se propague. Todo lo que se requiere para transmitir el virus de una persona a otra es el contacto de piel a piel con un área del cuerpo infectada por VPH. Al parecer, la infección por VPH se puede propagar de una parte del cuerpo a otra; por ejemplo, la transmisión puede iniciarse en el cuello uterino y luego propagarse a la vagina. El único modo de prevenir verdaderamente que estas áreas se infecten con VPH podría ser evitar de modo total el contacto de estas áreas del cuerpo que se pueden infectar con el VPH (como la boca, el ano, y los genitales) con las de otra persona ya infectada.

En la actualidad existen técnicas ampliamente utilizadas para la detección de alteraciones en las células epiteliales cervicales, como la prueba de Papanicolaou. Otras pruebas detectan infecciones mediante la búsqueda de genes (ADN) del VPH en las células. Para algunas mujeres, la prueba de VPH se usa junto con la prueba de Papanicolaou como parte de la detección. La prueba de VPH también se puede usar para ayudar a decidir qué hacer cuando los resultados de una prueba de Papanicolaou son ligeramente anormales. Si la prueba encuentra un tipo de VPH de alto riesgo, esto podría significar que se necesitará una evaluación completa con un procedimiento de colposcopia. Actualmente, no hay cura para la infección de VPH, aunque existen métodos de tratamiento de las verrugas y el crecimiento celular anormal que causa el VPH (National Cancer Institute 2015).

Se ha podido establecer, por un sinnúmero de investigaciones (Ortiz Serrano, R. et al 2004; Armenteros-Espino E, et al. 2016) que además de estar infectado por el VPH, hay otros factores que deberían concurrir para a que se origine el cáncer. Es poco probable que la patología se presente por

la sola presencia del VPH. Algunos de estos factores más relevantes son los siguientes.

1.- Tabaquismo.

Las fumadoras tienen aproximadamente el doble de probabilidades respecto a las no fumadoras de padecer cáncer de cuello uterino. Fumar expone al cuerpo a variados elementos químicos potencialmente cancerígenos que afectan a otros órganos, además de los pulmones. Estas sustancias son absorbidas a través de los pulmones y conducidas al cuerpo a través del torrente sanguíneo. Se han detectado subproductos del tabaco en la mucosidad cervical de mujeres fumadoras. Estas sustancias pueden alterar el ADN de las células del cuello uterino contribuyendo al origen del cáncer cervicouterino. Además, fumar afecta al sistema inmunológico, haciendo que sea menos eficaz en combatir las infecciones con VPH (Ghosh et al. 2008).

2.- Inmunosupresión.

El virus de inmunodeficiencia humana (VIH o HIV), causante del SIDA (AIDS), ocasiona daño al sistema inmunológico y provoca que las mujeres estén en un mayor riesgo de infección con VPH. Esto es en parte, una explicación del riesgo aumentado de cáncer de cuello uterino en las mujeres con VIH. El sistema inmunológico puede ser un importante factor para destruir las células cancerosas, así como para retardar su crecimiento y extensión. En las mujeres con un sistema inmunológico que se encuentra deteriorado debido al VIH, un precáncer de cuello uterino podría transformarse en un cáncer invasivo con mayor rapidez de la normal. Otro grupo de mujeres en riesgo de cáncer de cuello uterino son aquellas que requieren de medicamentos supresores de respuestas inmunes, como las que reciben tratamiento para enfermedades autoinmunes, o aquellas que han tenido un trasplante de órgano (Beral et al. 2007).

3.- Infección por clamidia.

La clamidia es una clase relativamente común de bacteria que puede infectar el sistema reproductor, y se contrae por contacto sexual. La infección con clamidia puede causar inflamación de la pelvis que puede conducir a la infertilidad. Algunos estudios han indicado que las mujeres cuyos resultados de los análisis de sangre indican una infección pasada o actual con clamidia, tienen mayor riesgo de cáncer de cuello uterino que aquellas que presentan análisis de sangre normal. A menudo, las mujeres que están infectadas con clamidia no presentan síntomas. De hecho, puede que no sepan que están infectadas, a menos que se les practique un examen de clamidia durante una revisión pélvica (Smith JS, et al. 2002).

4.- Alimentación.

Las mujeres con una alimentación que no incluya suficientes frutas, ensaladas y verduras pueden tener un mayor riesgo de cáncer de cuello uterino. Además, aquellas que tienen sobrepeso tienen una mayor

probabilidad de padecer adenocarcinoma del cuello uterino (Ghosh et al. 2008).

5.- Anticoncepción Oral.

Existe evidencia de que el uso de píldoras anticonceptivas por períodos prolongados aumenta el riesgo de cáncer de cuello uterino. La investigación sugiere que el riesgo de cáncer de cuello uterino aumenta mientras más tiempo una mujer tome las píldoras, pero el riesgo se reduce nuevamente después de suspender las píldoras. Según estudios, el riesgo de cáncer de cuello uterino se duplicó en las mujeres que tomaron píldoras anticonceptivas por más de 5 años, pero el riesgo regresó a lo normal después de 10 años de haber dejado de tomarlas (Hatch et al. 2001).

La Sociedad Americana Contra El Cáncer sugiere que una mujer y su médico tratante deben considerar si los beneficios de usar píldoras anticonceptivas superan este potencial riesgo.

6.- Uso de un dispositivo intrauterino (DIU).

Según algunas propuestas, las mujeres que han usado dispositivo intrauterino evidencian menor riesgo de cáncer de cuello uterino (Castellsagué 2011). La disminución en el riesgo se observó incluso en mujeres que utilizaron el dispositivo por menos de un año, demostrándose que el efecto protector permaneció después de que fueron removidos. El uso del dispositivo intrauterino también podría reducir el riesgo de cáncer de endometrio (uterino). Sin embargo, los dispositivos intrauterinos presentan otro tipo de riesgos asociados a otras patologías. El uso de un dispositivo intrauterino debe primero tratarse con el médico para evaluar los riesgos y beneficios potenciales.

7.- Muchos embarazos a término.

Las mujeres que han tenido tres o más embarazos a término tienen un riesgo aumentado de padecer cáncer de cuello uterino. Se desconocen las reales causas de esto. Una teoría sugiere que las mujeres pudieron haber tenido relaciones sexuales (coito) sin protección para quedar embarazadas, por lo que pudieron haber estado más expuestas al VPH. Otros estudios han indicado que los cambios hormonales durante el embarazo podrían causar mayor susceptibilidad a infección con VPH o crecimiento tumoral. Se estima que las mujeres embarazadas podrían tener sistemas inmunológicos más débiles, lo que permite la infección con VPH y crecimiento tumoral (Hernández et al. 2008).

8.- Edad temprana en el primer embarazo a término.

Las mujeres que tuvieron su primer embarazo a término a la edad de 17 años o menos son casi dos veces más propensas a llegar a tener cáncer de cuello uterino, que las que tuvieron su primer embarazo a los 25 años o después (Hernández et al. 2008).

9.- Pobreza.

La pobreza es también un factor de riesgo para el cáncer de cuello uterino. Muchas mujeres con bajos ingresos no tienen acceso fácil a servicios adecuados de atención a la salud, incluyendo las pruebas de Papanicolaou. Esto significa que es posible que no se hagan las pruebas de detección ni reciban tratamiento para precánceres y cánceres de cuello uterino de manera oportuna (Gutiérrez et al. 2008).

10.- Antecedentes familiares de cáncer de cuello uterino.

El cáncer de cuello uterino puede presentarse con mayor frecuencia en algunas familias. Si la madre o hermana de una mujer tuvieron cáncer de cuello uterino, sus probabilidades de padecer esta enfermedad aumentan de dos a tres veces respecto de las que no tienen antecedente familiar. Algunos estudios proponen que existiría una condición hereditaria que hace que algunas mujeres sean menos capaces de luchar contra la infección con VPH. De todos modos, se señala que para la aparición del cáncer deberían concurrir además otros agentes no genéticos (National Cancer Institute 2015).

Pregunta Problema de Investigación

Dado que existe una correlación entre la incorporación de material genético del virus papiloma humano de alto riesgo y la progresión de la patología cervical, no conociendo la prevalencia de presencia de VPH de alto riesgo, y teniendo a disposición tecnología de detección de inclusión de material genético viral en muestras de tejido cérvico uterino, se pretende caracterizar mediante la genética molecular las cepas de VPH presentes en una muestra de mujeres sanas mayores de 18 años y menores de 25 de la Región Norte del Perú. Por lo que la pregunta de investigación sería:

Con la determinación de la prevalencia de las cepas de VPH de alto riesgo en una población de mujeres de la región de Cajamarca, Perú, y la asociación de factores de riesgo adicionales, se pretende encontrar una correlación que permita definir y diseñar una estrategia de prevención temprana en población femenina sin sintomatología ni signos de Cáncer Cérvico Uterino.

Delimitación del Problema

- **Delimitación Temporal:** La investigación se realizará entre los meses de agosto 2017 y julio 2018.
- **Delimitación Espacial:** El muestreo se realizará en Mujeres voluntarias de la Dirección Regional de Salud (DIRESA) de Cajamarca, Perú.
- **Delimitación de Contenido:**
 - Campo: Atención primaria
 - Área: Programa de Salud Ginecológica
 - Aspectos: Caracterización de cepas de virus papiloma humana presente en las mujeres muestreadas, relación con resultados de Papanicolaou y la posible relación con factores de riesgo asociado de cada participante.
 - Objetivo del estudio: Caracterizar cepas de VPH presente en mujeres sanas y su correlación con PAP y factores de riesgo asociado.

Justificación

Relevancias

- **Teórica: ¿Qué aportará al conocimiento existente el resultado de la investigación?**

Esta investigación aportará la caracterización molecular de la infestación con el virus papiloma humano de alto riesgo en etapas iniciales de la infección en la población de riesgo de cáncer cérvico uterino.

Se pretende buscar una correlación entre los genotipos de VPH presentes en muestras de pacientes infectadas, los resultados del PAP y los factores de riesgo adicional, como modelo de prevención temprana en población femenina.

- **Práctica: ¿Para qué y cómo podría utilizarse? ¿Qué podría hacer con esos resultados?**

Con los resultados, se podrá realizar un seguimiento temprano a las pacientes efectivamente infectadas con VPH, con o sin PAP alterado y con factores de riesgo adicionales, y de esta manera estar atento a los primeros cambios que se generen en las células cervicales, de tal manera de realizar intervenciones tempranas para evitar su progresión o retrasar el desarrollo del cáncer cérvico uterino.

En caso de que la mujer no presentara material genético viral, se podría recomendar la vacunación como método profiláctico del desarrollo de la patología.

Este conocimiento tendrá relevancia como un aporte con base científica de cuantificación de población infectada, en una muestra

representativa de la Región Norte del Perú, de tal manera de orientar los esfuerzos sanitarios y evitar, o al menos retrasar, la aparición de los estados más avanzados de la patología cérvicouterina.

- **Social: ¿Quiénes se verían beneficiados con la investigación y de qué manera?**

La población objetiva que se verá beneficiada con el conocimiento que se aportará, es la población femenina en peligro de desarrollar cáncer cervicouterino. Esto tendría como consecuencia una reducción de la morbilidad asociada a esta infección con los consiguientes beneficios económicos y sociales.

A nivel gubernamental y de salud pública, el beneficio se obtendrá mediante la adopción del modelo que se formule para una determinación efectivamente precoz y concluyente de la infección en la población de riesgo, de tal forma de establecer una política de salud pública cuya orientación se esfuerce hacia una prevención, con planes de vacunación, e intervención en los estadios más tempranos de la patología. De esta manera se tendrá un control y manejo más certero y preciso del avance de la enfermedad, con los consiguientes beneficios epidemiológicos y de Salud pública que esto conlleva.

Hipótesis

A través del modelo de diagnóstico precoz que se establezca entre la presencia de del virus del Papiloma Humano (VPH) de alto riesgo y su correlación con factores de riesgo asociados, se establecerá un predictor temprano de la progresión del cáncer Cérvico uterino en población estudiada.

Objetivo General

Caracterizar y Diagnosticar presencia del VPH de alto riesgo (cepas 16, 18, 31, 33 y 45), desde la genética molecular en población femenina de la Región de Cajamarca (Perú) y su correlación con factores de riesgo adicionales, para buscar un modelo predictor precoz para la prevención del Cáncer Cérvico Uterino.

Objetivos Específicos

1.- Caracterizar el virus del papiloma humano (VPH) de alto riesgo en población femenina de la Región de Cajamarca, Perú, a partir del análisis obtenido de tejido del cuello cérvico-uterino de 400 pacientes en estudio, inclusión en medio ThinPrep post PAP.

2.- Detectar y caracterizar todos los serotipos de DNA de VPH presentes en las muestras post-PAP, de la población femenina en estudio, por amplificación directa de PCR mediante método GenoArray (carga viral).

3.- Determinar la correlación que existe entre VPH oncogénico y PAP, mediante estimadores que correlacionen VPH oncogénico presentes en población femenina en estudio con los encontrados en población con PAP normal.

4.- Caracterizar los factores de riesgo relativo presentes en cada paciente, asociados a la presencia de VPH, determinando una correlación que plantee un modelo predictor precoz para la prevención del Cáncer Cérvico Uterino.

MARCO TEÓRICO

Síntomas del cáncer de cuello uterino (National Cancer Institute 2015).

Las mujeres con cánceres de cuello uterino en etapa temprana y precánceres usualmente no presentan síntomas. Frecuentemente estos no se evidencian hasta que el precáncer se transforma en un cáncer invasivo verdadero y crece hacia el tejido adyacente. Cuando esto ocurre, los síntomas más comunes son:

- Sangrado vaginal anormal, tal como sangrado después de sostener relaciones sexuales (coito vaginal), sangrado después de la menopausia, sangrado y manchado entre periodos y periodos menstruales que duran más tiempo o con sangrado más profuso de lo usual. El sangrado después de una ducha vaginal o después del examen pélvico es un síntoma común del cáncer de cuello uterino, pero no de precáncer.

- Una secreción vaginal inusual (la secreción puede contener algo de sangre y se puede presentar entre sus periodos o después de la menopausia).

- Dolor durante las relaciones sexuales (coito vaginal).

Estas señales y síntomas también pueden ser causados por otras condiciones que no son cáncer de cuello uterino. Por ejemplo, una infección puede causar dolor o sangrado y necesitará tratamiento. De ser cáncer, ignorar los síntomas puede permitir que el este progrese a una etapa más avanzada y que se reduzcan las probabilidades de un tratamiento eficaz.

Prevención de precánceres y cánceres Cervicouterino (CaCu).

Debido a que el VPH es la principal causa del cáncer y precáncer de cuello uterino, evitar la exposición al VPH podría ayudar a prevenir esta enfermedad. El VPH se transmite de una persona a otra durante el contacto de piel a piel con una zona infectada del cuerpo. Aunque el VPH se puede propagar durante la relación sexual, que incluye el contacto vaginal, el anal y el sexo oral, no tiene que ocurrir el acto sexual para que la infección se propague. Lo único que se necesita es el contacto de piel a piel con una zona del cuerpo contagiada con VPH. Esto significa que el virus se puede transmitir a través del contacto de genital a genital (sin coito). Incluso es posible que una infección genital se transmita al tocar los genitales con las manos.

Además, la infección por VPH se puede transmitir de una parte del cuerpo a otra en la misma persona. Esto significa que una infección puede iniciarse en el cuello uterino y luego propagarse a la vagina y a la vulva.

Es muy difícil no exponerse al VPH. Se puede prevenir la infección genital con el VPH no dejando que otras personas tengan contacto con su área

genital o anal. Sin embargo, aun así puede haber otras maneras de infectarse que todavía no están claras.

En las mujeres, las infecciones por VPH ocurren principalmente en las más jóvenes y son menos comunes en las mujeres mayores de 30 años. La razón de esto no está clara. Ciertos tipos de comportamientos sexuales aumentan el riesgo de una mujer de contraer una infección por VPH, tales como: tener relaciones sexuales a temprana edad y tener muchas parejas sexuales (Flores et al., 2008).

Las mujeres que han tenido muchas parejas sexuales tienen una mayor probabilidad de infectarse con el VPH, aunque una mujer que haya tenido solo una pareja sexual también puede infectarse con el virus. Es probable que esto ocurra si ella tiene una pareja que ha tenido muchas parejas sexuales o si su pareja es un hombre que no ha sido circuncidado (Badano et al., 2010; Panatto et al., 2012). Esperar hasta una mayor edad para tener relaciones sexuales puede ayudar a evitar el VPH. También ayuda limitar el número de parejas sexuales y el evitar las relaciones con alguien que haya tenido muchas otras parejas sexuales.

Aunque el virus se propaga con más frecuencia entre un hombre y una mujer, la infección con VPH y el cáncer de cuello uterino también se han visto en mujeres que solo han tenido sexo con otras mujeres. Se puede tener el VPH por años sin aún presentar síntomas (no siempre causa verrugas o cualquier otro síntoma), por lo que una persona puede tener el virus y transmitirlo sin saberlo.

Con el advenimiento de vacunas para prevenir la infección de VPH de alto riesgo, se abre una oportunidad muy promisoriosa en la prevención del cáncer cervicouterino, con costo-beneficio claramente establecido (Bolaños-Díaz, Rafael, et al. 2016). Una orientación para mujeres libres de infección de VPH de alto riesgo, podría ser la indicación de acceder a vacunas.

La prueba citológica del Papanicolaou (PAP).

La prueba de Papanicolaou es la principal evidencia citológica de detección para el cáncer de cuello uterino (CaCu) y los cambios precancerosos (National Cancer Institute 2015).

Aunque el Papanicolaou ha tenido más éxito que ninguna otra prueba de detección en la prevención del cáncer, no siempre garantiza resultados perfectos. Una de sus limitaciones es que el análisis de las muestras es realizado por patólogos, por lo que no siempre es posible un examen preciso de cientos de miles de células en cada muestra. Es posible que en algunas oportunidades no se detecten algunas anomalías, aunque las muestras sean observadas en los mejores laboratorios. Por otra parte, siempre será recomendable hacerse estas pruebas con la frecuencia recomendada por las autoridades sanitarias, lo que no ocurre en todos los casos.

El PAP como procedimiento busca la obtención de células del cuello uterino para realizar en ellas evaluaciones de citología cervical, estos son,

diagnosticar el cáncer y el precáncer mediante la observación de células bajo la observación microscópica.

Existen dos formas de procesar las muestras obtenidas de células del cuello uterino:

a.- Citología convencional: Consiste en esparcir la muestra directamente sobre portaobjetos de vidrio para microscopio. Esta muestra se envía al laboratorio. Durante aproximadamente 50 años, se manejaron las muestras de citología cervical de esta forma. Este método funciona bastante bien y es relativamente económico; sin embargo, tiene algunas desventajas. Una de ellas es que las células frotadas en la placa a veces quedan apiladas unas sobre otras, con lo que es difícil ver las que quedan en el fondo de la pila. Además, glóbulos blancos, aumento de la mucosidad, de células de hongos o de bacterias a causa de infección o inflamación, pueden esconder a las células del cuello uterino.

Otro problema con este método consiste en que las células se pueden secar si las placas no son tratadas con un preservante inmediatamente. Esto puede dificultar el que se determine si algo anda mal con las células. Si no se pueden ver bien las células del cuello uterino, la prueba es menos precisa y puede que sea necesario repetirla. Actualmente, la citología convencional no se usa con frecuencia en países desarrollados como los Estados Unidos.

b.- Citología en medio líquido: Consiste en colocar la muestra de las células del cuello uterino en un líquido preservativo especial y luego enviarlas al laboratorio. Los especialistas distribuyen algunas de las células contenidas en el líquido sobre las placas de vidrio para examinarlas al microscopio. El líquido ayuda a eliminar algunas mucosidades, bacterias, levaduras y células sanguíneas que hay en la muestra. Además, permite que las células se esparzan con más uniformidad en la placa y evita que se sequen y se deformen. A las células que están en el líquido se les puede realizar también una prueba de VIH. El uso de las pruebas basadas en líquido puede reducir la probabilidad de que la prueba de Papanicolaou sea repetida, pero no parece encontrar más precánceres que la prueba de Papanicolaou regular. Esta prueba en medio líquido tiene más probabilidades de determinar cambios celulares que no son de origen precanceroso pero que necesitarán ser controlados más a fondo, lo que conduce a pruebas innecesarias. Este método es más costoso que la prueba de Papanicolaou usual.

PAP hecho en casa, Autónoma.

Las autoridades han procurado encontrar maneras para que más mujeres se hagan las pruebas de detección del cáncer cervical. Una opción ha consistido en la utilización de métodos que permitirían a las mujeres obtener muestras de células del cuello uterino en sus casas. En esta prueba la mujer obtendría ella misma células del cuello uterino al insertarse en la vagina un aplicador de plástico pequeño moviéndolo alrededor del cuello uterino. Estas células se colocarían en un recipiente especial para preservarlas. Las mujeres de países más pobres han utilizado este método para detectar enfermedades de transmisión sexual, y también ha sido útil

para detectar infecciones con el VPH. Sin embargo, hasta el momento no se ha aprobado ninguna prueba de Papanicolaou casera para países desarrollados como los Estados Unidos o en otros de Latinoamérica, incluido Chile.

Informe de resultados del Papanicolaou.

El sistema utilizado más ampliamente para describir los resultados de la prueba de Papanicolaou es el Sistema Bethesda 2001 (TBS), (Berek, J. 2002). Existen tres categorías principales, algunas de las cuales se dividen en sub-categorías:

- Negativo para lesiones intraepiteliales o cáncer.
- Anomalías de las células epiteliales.
- Otras neoplasias malignas.

Colposcopia.

Si la paciente presenta ciertos síntomas que sugieren la presencia de un cáncer, o el Papanicolaou muestra células anormales, será necesario realizarle una colposcopia. En este procedimiento, se usará el colposcopio para examinar el cuello uterino. El colposcopio es un instrumento con lentes de aumento muy parecidos a los de los binoculares. Aunque permanece fuera del cuerpo de la mujer, el colposcopio permite observar de cerca y claramente la superficie del cuello uterino. Por lo general, se aplicará al cuello uterino una solución diluida de ácido acético para que sea más fácil ver cualquier área anormal.

La colposcopia por sí sola no causa dolor ni efectos secundarios, y puede llevarse a cabo sin peligro incluso durante el embarazo. Al igual que el Papanicolaou, se realiza pocas veces durante el periodo menstrual. Si se observa un área anormal en el cuello uterino, se efectúa una biopsia. Para esto, se extirpa un pequeño fragmento de tejido del área que luce anormal. La muestra se envía a examinar. Esta biopsia es la única manera de determinar si un área anormal es un precáncer, un cáncer o ninguno de los dos.

Biopsias cervicales.

Existen varios tipos de biopsias que se utilizan para diagnosticar un cáncer o un precáncer de cuello uterino. Si la biopsia puede extirpar completamente todo el tejido anormal, puede que este sea el único tratamiento necesario. En otros casos, se requiere un tratamiento adicional del cáncer o del precáncer:

- Biopsia colposcópica en la cual, se examina primero el cuello uterino con un colposcopio para detectar áreas anormales. Se utilizan pinzas de biopsia para extirpar una pequeña sección (de aproximadamente 1/8 de pulgada) del área anormal en la superficie del cuello uterino. El procedimiento de biopsia puede causar dolor de calambres leve o dolor de breve duración y es posible que presente posteriormente un ligero sangrado. Algunas veces, se usa un anestésico local para anestesiarse el cuello uterino antes de la biopsia.

- Curetaje endocervical (raspado endocervical): algunas veces, la zona de transformación (el área en riesgo de infección con VPH y precáncer) no se puede ver con el colposcopio. En esa situación, se tiene que hacer algo distinto para examinar el área y determinar si hay cáncer. Esto significa hacer un raspado en el endocérvix al insertar un instrumento estrecho (la cureta) en el canal endocervical (el conducto entre la parte externa del cuello uterino y la parte interna del útero). La cureta se usa para raspar el interior del canal y extraer algo de tejido que luego se envía al laboratorio para un examen. Después de este procedimiento, las pacientes pueden sentir retorcijones y también pueden presentar algo de sangrado. Por lo general, este procedimiento se lleva a cabo durante el mismo tiempo que la biopsia colposcópica.
- Para las biopsias cónicas se utilizan comúnmente dos métodos: el procedimiento de escisión electroquirúrgica con asa (LEEP; o también conocido como escisión con asa grande de la zona de transformación o LLETZ) y la biopsia cónica con bisturí frío.
- Procedimiento de escisión electroquirúrgica con asa (LEEP o LLETZ): con este método, se extirpa el tejido con un asa de alambre delgado que se calienta mediante corriente eléctrica y que sirve como escalpelo. Para este procedimiento se emplea anestesia local, y puede llevarse a cabo en forma ambulatoria.
- Biopsia cónica con bisturí frío: este método utiliza un bisturí quirúrgico o un láser en lugar de un alambre calentado para extirpar el tejido. Requiere anestesia general, pero no es necesario más de un día de hospitalización.
- Biopsia cónica: en este procedimiento, también conocido como conización, se extrae del cuello uterino un fragmento de tejido en forma de cono. La base del cono está constituida por el exocérvix (la parte externa del cuello uterino), y la punta o ápice del cono está formada por el canal endocervical. La zona de transformación (el límite entre el exocérvix y el endocérvix) está contenida dentro del cono. Esta es el área del cuello uterino donde es más probable que se origine un cáncer o un precáncer. La biopsia cónica se puede usar como tratamiento para extirpar por completo muchos precánceres, así como tumores cancerosos en etapas muy tempranas.

La importancia de las pruebas para detectar el cáncer de cuello uterino.

El objetivo de las pruebas para detectar el cáncer de cuello uterino es encontrar cambios de las células del cuello y cánceres cervicales tempranos, antes de que empiecen a causar síntomas. Estas pruebas pretenden efectuar una detección temprana de modo que el tratamiento a aplicar garantice una mayor efectividad. Claramente estas pruebas de detección pueden detectar cambios anormales de las células del cuello uterino

(precánceres) para que puedan ser tratados antes de que tengan la oportunidad de convertirse en un cáncer cervical.

El cáncer de cuello uterino podría ser prevenido o detectado temprano al hacer regularmente las pruebas de Papanicolaou (algunas veces combinadas con una prueba del virus de papiloma humano). Si se detecta temprano, el cáncer de cuello uterino es uno de los cánceres que se puede tratar con más éxito. En los Estados Unidos, la tasa de mortalidad del cáncer de cuello uterino declinó casi un 70% entre 1955 y 1992, debido en gran parte a la eficacia de la prueba de Papanicolaou. En años recientes, las tasas de mortalidad del cáncer de cuello uterino han estado estables.

A pesar de los beneficios reconocidos de las pruebas de detección del cáncer de cuello uterino, no todas las mujeres las aprovechan. Aproximadamente la mitad de los cánceres de cuello uterino diagnosticados en los Estados Unidos se encuentran en mujeres que nunca se habían hecho pruebas para detectar esta enfermedad. Otro 10% de los cánceres se encuentran en mujeres que no se han hecho las pruebas en los últimos 5 años. En particular, las mujeres de edad avanzada, aquellas sin seguro médico y las mujeres que inmigraron recientemente tienen menos probabilidad de hacerse regularmente las pruebas de detección del cáncer de cuello uterino.

Las muertes causadas por el cáncer de cuello uterino son mayores en las poblaciones de los países donde las mujeres no se hacen rutinariamente las pruebas de detección de este cáncer. De hecho, el cáncer de cuello uterino es la causa principal de muerte por cáncer en las mujeres de muchos países en vías de desarrollo. Estas mujeres por lo general son diagnosticadas con cánceres en etapas tardías, en vez de precánceres o cánceres en etapas tempranas.

Metodología

Tipo de Diseño

Se propone un estudio prospectivo de diseño exploratorio, de un grupo de 400 mujeres sanas para cáncer de cuello uterino de la Región de Cajamarca, Perú, con resultados de PAP – (negativo) si existiera, que hayan iniciado su actividad sexual. Se les tomará una muestra de epitelio del cérvix en medio líquido y se someterá esta muestra a las técnicas de citología normal (PAP) y de biología molecular de detección de presencia de material genético del VPH de los tipos 16, 18, 31, 33 y 45.

Con esta evidencia se determinará la prevalencia de infestación por VPH oncogénico en la población en estudio.

Adicionalmente, a las mujeres incorporadas en el estudio, se les realizará una encuesta de factores de riesgo asociado, de tal manera de poder establecer una correlación entre la presencia de material genético viral de alto riesgo, alteraciones epiteliales en la citología y los factores de riesgo particulares (Anexo 1).

Universo y Muestra

El universo corresponde a 400 mujeres adultas sanas con inicio de actividad sexual y, si hubiese previo, con resultados de PAP negativo (-).

El procedimiento adoptado para calcular el número a muestrear fue:

Procedimiento probabilístico de selección:

- Muestreo probabilístico aleatorio simple

$$n = \frac{Z^2 \times p \times q \times N}{E^2 \times [N - 1] + Z^2 \times p \times q}$$

Donde:

n = número de unidades de análisis (muestra)

N = tamaño de la población (universo)

Z = nivel de confianza

E = error máximo admisible

p = probabilidad de éxito (probabilidad con la que se presenta el fenómeno)

q = probabilidad de fracaso (probabilidad con la que no se presente el fenómeno)

De lo anterior, el número de unidades de análisis que serán incluidas en la muestra en la presente investigación, serán determinadas mediante las siguientes disposiciones: intervalo de confianza del 95%, margen de

error máximo admisible 5%, aplicando el procedimiento de muestreo probabilístico aleatorio simple:

Población femenina total del distrito de Cajamarca 762.700

Total de la población en estudio 63.691

Datos obtenidos Ministerios de Salud del Perú (MINSA) 2017.

Reemplazando en la fórmula tenemos:

$$n = \frac{0.25 \times 63691}{(63691-1) (0.05)^2/2^2 + 0.25}$$

$$n = \frac{15922.75}{(63690) (0.0025) /4 + 0.25}$$

$$n = \frac{15922.75}{40.05625}$$

$$n = 400 (397,509)$$

Las pacientes y sus muestras serán obtenidas en mujeres voluntarias del Departamento de Cajamarca, distrito de Cajamarca, Zona norte del Perú.

Todas las mujeres enroladas en el estudio firmarán un consentimiento informado y completarán guiadamente una encuesta de riesgo asociado particular (Anexo 2).

Las participantes incluidas en el estudio serán debidamente identificadas a través del consentimiento informado. Se reemplazarán los nombres de cada una por un número correlativo en la encuesta de riesgo asociado, que deberán responder de manera personal, con el fin de resguardar la identidad y privacidad de cada persona, acorde a las recomendaciones de estudios internacionales.

Criterios de Inclusión

- Género: Mujeres
- Que hayan iniciado actividad sexual
- Que consientan en participar en estudio
- Sin antecedentes conocidos de infección por VPH

Criterios de exclusión

- Mujeres con resultados de PAP (+)
- Pacientes con CaCu certificado con biopsia por colposcopia
- Mujeres con sangrado vaginal
- Mujeres con infecciones genitales activas.
- Trabajadoras sexuales.

Estructura de los Datos

Unidad de Análisis (U.A.)

Mujeres que hayan iniciado actividad sexual y cuestionario de riesgo asociado.

Variable (V)

- Determinación mediante técnicas de biología molecular de presencia DNA viral de alto riesgo de CaCu, factores de riesgo asociado (nivel sociocultural, tipo de alimentación, tabaquismo, inmunosupresión, edad inicio actividad sexual, número de parejas que ha tenido, número de embarazos a término, edad del primer embarazo a término, método anticonceptivo utilizado, tiempo de uso del método anticonceptivo, edad de menarquia, historia de infecciones genito urinaria, antecedentes familiares de cáncer Cérvico uterino, Índice de Masa Corporal).

Valor (R)

- Se determina presencia de material genético viral de las cepas 16, 18, 31, 33 y 45.

- No se determina presencia de material viral de las cepas 16, 18, 31, 33 y 45.

- Presencia o ausencia de los factores de riesgo asociado

Indicador (I)

Detección de presencia de genoma viral con alta relación con CaCu, VPH 16, 18, 31, 33 y 45.

Operacionalización de variables	Cuestionario			
Variable	Definición Conceptual	Dimensiones	Definición Operacional	Indicador
Socio Demográfica	Estudio estadístico de una colectividad humana	Edad	Tiempo transcurrido desde el nacimiento hasta el momento de la encuesta	Edad en años cumplidos mayor a 18 años menor a 30 años
		Estado Civil	Clase o condición a la cual está sujeta la vida de cada uno	Soltera Casada Separada/Divorciada Viuda
		Nivel de Escolaridad	Tiempo asistido a un centro de enseñanza	Sin escolaridad Primaria Secundaria Superior
		Actividad Económica	Se dedica a alguna actividad remunerada	No Si Tipo
		Núcleo Familiar	Con quien vive la encuestada	Sola Padres Hermanos Pareja Esposo Otro
		Nivel Socioeconómico	Servicios Básicos con los que cuenta	Agua potable Energía eléctrica Alcantarillado Teléfono fijo Recolección Basura
Higiénico Alimentarios	Estudio de hábitos higiénicos alimenticios	Tabáquico	Paciente consume cigarrillos	NO Si Cantidad de cigarrillos/día
		Consumo de frutas/verduras	Nivel de Aporte de fibra y vitaminas	No consume N° de porciones/semana 1; 2; 3; 4; 5 o más
		IMC	Relación entre Peso y Talla	Peso en Kg. (Kilogramos) Talla en m. (metros)

				Artritis
				Lupus
				Enfermedad de Crohn
		Situaciones Inmunesupresoras	Padece o ha sufrido alguna de las siguientes afecciones a la salud	Asma
				VIH / SIDA
				Inmuno deficiencia Congénita
				Cáncer de cualquier tipo
				Transplantes
				Infección del tracto Urinario
			Inicio de Actividad Sexual	Edad en años de inicio de juegos
			Inicio de relaciones Sexuales	Edad en años de inicio acto sexual
			Número de Parejas sexuales	una dos o tres cuatro o cinco seis o siete ocho o más
		Actividad Sexual y otros antecedentes	Número de embarazos a término	Uno Dos o tres Cuatro o cinco Seis o más
			Edad del Primer Embarazo de Terminación	Edad en años
			Tipo de método anticonceptivo y tiempo de uso o de abandono	Naturales Orales Parches Inyectables DIU geles Ligadura Vasectomía Otro
			Edad de Menarquía	Edad medida en años
			Cáncer de cualquier tipo en familia	No Sí Tipo Parentesco
	Antecedentes familiares de riesgo asociado	Presencia de cáncer en el entorno familiar	Cáncer Cervicouterino en familia directa	No Sí Parentesco

Figura Nº 1: Operacionalización de variables del Cuestionario de Caracterización de Riesgo Relativo de las pacientes.

Fuentes e Instrumentos que utilizar:

Los datos por recoger serán de primera fuente, recopilados en forma directa, de manera estructurada, participante, de manera individual y de campo.

Los instrumentos para obtener los datos serán de dos tipos:

- Muestras de citología exfoliativa del cérvix en medio líquido, que serán utilizadas para
 - Observación en microscopia óptica normal (técnica del PAP).
 - Análisis de presencia de material genético viral.
- Encuestas de factores de riesgo asociadas a cada paciente, mediante un cuestionario estructurado, de pregunta cerrada, de respuesta múltiple e individual. Esta encuesta fue diseñada y piloteada en una muestra semejante realizándose algunos ajustes. De igual manera fue validada por expertos en el área de cáncer ginecológico.

Detalle en el Procedimiento de Recolección de Datos:

- A. Se establecerá una coordinación con los responsables del área de Salud en cada lugar de muestreo.
- B. La incorporación de las usuarias que han iniciado actividad sexual será a través de su participación voluntaria, teniendo en cuenta los criterios de elegibilidad y exclusión establecidos.
- C. Se procederá a recolectar información en los centros de toma de muestras, donde además se les realizará charla informativa del estudio, se firmará consentimiento informado y las participantes serán guiadas para responder cuestionario de riesgo relativo asociado.
- D. Una vez aceptada la participación en el estudio y respondido el cuestionario de riesgo asociado, se procederá a la toma de muestra del cuello uterino en medio líquido.

Plan de Análisis

Los datos recogidos serán analizados con programa SPSS Statistics 21 (IBM Company). El análisis estadístico se realizará como análisis multivariante para determinar si existe asociación (significación estadística) entre el hecho de padecer la infección por VPH y los factores de riesgo seleccionados mediante el estadígrafo chi-cuadrado de independencia (X^2). Para estimar el riesgo relativo de padecer la enfermedad asociada con los factores de riesgo, se calculó la razón de productos cruzados (RPC) u odds ratio (OR) y su intervalo de confianza al 95 %, mediante una tabla de contingencia de múltiples entradas.

Sistematización

Se llevará a cabo una sistematización mixta, es decir, informática y manual. El armado de la base de datos (estadísticos) para la modelización multivariada de los datos primarios provenientes de la aplicación de encuesta de riesgo asociado y resultados PAP y determinación presencia de cepas VPH en las muestras tomadas a cada mujer. Estos datos serán consignados en planillas de registro digital en programa Excel.

Se procederá con la carga de información a una base de datos única (matriz), utilizando cuando corresponda, celdas en columnas y filas, respectivamente.

Tipo de Análisis

Se trabajará con la utilización de programa específico: Statistical Package for Social Sciences (SPSS), en su versión 21 actualizada y licencia vigente.

En el análisis estadístico se utilizará estadística descriptiva, como medidas de posición (media) y de dispersión (desviación estándar) y las diferencias significativas con T de Student. Se utilizará el test chi cuadrado de Pearson para comparar variables categóricas. El nivel de significancia que se ha considerado es $p < 0,05$

Presentación de la Información – Resultados

Como se mencionó anteriormente, se utilizará el programa estadístico SPSS, y con ello, los datos y resultados obtenidos, se presentarán mediante la elaboración de tablas, cuadros, gráficos de barras, gráfico de líneas, gráfico circular, gráfico de área, gráfico de dispersión, según corresponda.

Para responder a la pregunta de investigación, se analizará la variable presencia de cepas de alto riesgo de VPH y encuesta de riesgo relativo asociado a cada participante aplicando la prueba estadística: Mann-Whitney y Kruskal-Wallis.

Para responder a la hipótesis, se utilizará la prueba estadística chi cuadrado y ANOVA, tomando la variable presencia de cepas de alto riesgo de VPH y encuesta de riesgo relativo asociado a cada participante

Para dar cumplimiento al objetivo general, se realizará la prueba estadística de posición y dispersión.

Para dar cumplimiento del objetivo específico número uno y dos, se realizará la prueba estadística descriptiva, analizando la presencia de material genético de VPH.

Luego, para dar cumplimiento del objetivo específico número tres, se realizará estadística descriptiva y presencia de anormalidad citológica detectada en las muestras recogidas.

Finalmente, para dar cumplimiento del objetivo específico número cuatro, se realizará la prueba estadística descriptiva, analizando las variables presencia de VPH, anormalidades citológicas y cuestionario de riesgo relativo con pruebas estadísticas coeficiente de correlación de Spearman y Pearson.

JUSTIFICACIÓN DE LOS MÉTODOS ESTADÍSTICOS

La estadística descriptiva permite registrar los datos en tablas y representarlos en gráficos. Permite, además, calcular los parámetros estadísticos, como medidas de centralización (media, mediana, moda), posición (cuartiles, deciles y percentiles) y dispersión (rango, desviación media, varianza desviación típica), que describen el conjunto estudiado.

La prueba de Mann - Whitney es útil para buscar diferencia de una variable ordinal (Ejemplo: número de parejas que ha tenido) en las categorías de una variable en escala nominal cuando es dicotómica.

Ahora bien, la prueba de Kruskal - Wallis permite buscar diferencia de una variable ordinal (Ejemplo: número de embarazos a término) en las categorías de una variable en escala ordinal o en escala nominal cuando esta es politómica.

La correlación de Spearman permite identificar el grado de correlación entre dos variables cuando al menos una de ellas está expresada como mínimo en escala ordinal, además de establecer la existencia o ausencia de asociación.

CONFLICTO DE INTERESES:

El investigador participante hace constar que no existen conflictos de interés en la realización de este estudio.

Carta Gantt Proyecto de Tesis: Inicio agosto 2017 Término Julio 2018

Diagrama de Gantt

Matriz donde se ubican actividades, tiempo programado para realizarlas.

PROYECTO		
UNIDAD DE TIEMPO	meses	
FECHA DE INICIO	01-09-2015	

ACTIVIDAD	NOMBRE	DURACION	ACTIVIDAD PRECEDENTE	INICIO	FINALIZACION	ESTADO
A	Revisión estado del arte	3 meses		sep.-15	31-dic-15	Finalizado
B	Pre-Proyecto	2 meses		Nov. 15	Dic.15	Finalizado
C	Proyecto	1 mes		Ene 16	Ene. 16	Finalizado
D	Recolección de datos	8 meses	A	agosto-17	30-marzo-18	Finalizado
E	Tabulación datos	11 meses	A	sept-17	30-marzo-18	Finalizado
F	Análisis estadísticos datos	1 mes	B y C	30-marzo 2018	30-mayo-18	Iniciado
G	elaboración informe	2 meses	D, E y F	01-junio-18	31-agosto-18	Iniciado

Anexo N° 1

Encuesta de caracterización de riesgo relativo de cada mujer enrolada en estudio

ENCUESTA FACTORES DE RIESGO CaCu									
<p>La presente encuesta tiene como propósito obtener información para el trabajo de investigación conocimientos sobre prevención de Cáncer uterino y Virus del papiloma humano. La información obtenida es confidencial. ¡¡Le agradecemos su valiosa colaboración!!</p> <p>PROYECTO: "PREVENCIÓN DE CÁNCER UTERINO Y VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO"</p>									
DATOS INFORMATIVOS:					Fecha, Viña del Mar				
N° Participante					Encuestador				
1.- ¿Qué edad tiene?									
menos de 18	<input type="checkbox"/>	18 años	<input type="checkbox"/>	19 años	<input type="checkbox"/>	20 años	<input type="checkbox"/>	21 años	<input type="checkbox"/>
21 años	<input type="checkbox"/>	22 años	<input type="checkbox"/>	23 años	<input type="checkbox"/>	24 años	<input type="checkbox"/>	25 años	<input type="checkbox"/>
2.- ¿Cuál es su nivel de escolaridad hasta el momento?									
Primaria	<input type="checkbox"/>	Secundaria	<input type="checkbox"/>	Superior	<input type="checkbox"/>	Otro	<input type="checkbox"/>		
3.- ¿Cuál es su estado civil?									
Soltera	<input type="checkbox"/>	Casada	<input type="checkbox"/>	Divorciada	<input type="checkbox"/>	Viuda	<input type="checkbox"/>	Otro	<input type="checkbox"/>
4.- ¿Trabaja usted?									
SI	<input type="checkbox"/>	NO	<input type="checkbox"/>						
¿En qué?									
5.- ¿En el núcleo familiar, con quien vive?									
Padres	<input type="checkbox"/>	Familiares directos	<input type="checkbox"/>	Familiares Indirectos	<input type="checkbox"/>	Solo	<input type="checkbox"/>		
Pareja	<input type="checkbox"/>	Otro	<input type="checkbox"/>						
6.- ¿Con qué servicios básicos cuenta? Haga una equis (x) en el que posea.									
Agua	<input type="checkbox"/>	Luz	<input type="checkbox"/>	Infraestructura sanitaria	<input type="checkbox"/>	Teléfono	<input type="checkbox"/>		
Servicios de recolección de basura <input type="checkbox"/>									
7.- ¿Sabe lo que es el Cáncer uterino, detalle en pocas palabras?									
8.- ¿Fuma usted?									
NO	<input type="checkbox"/>	SI	<input type="checkbox"/>	si la respuesta es si...					
¿Cuántos cigarrillos diarios? <input type="checkbox"/>									
9.- ¿Ha tenido tratamiento por algún tipo de cáncer?									
NO	<input type="checkbox"/>	SI	<input type="checkbox"/>	¿Qué tratamiento?					

10.- ¿Tiene alguna de estas enfermedades? Si la respuesta es sí, ¿con qué tratamiento?

Artritis	<input type="checkbox"/>	Tratamiento	<input type="text"/>
Lupus	<input type="checkbox"/>	Tratamiento	<input type="text"/>
Enfermedad de Crohn	<input type="checkbox"/>	Tratamiento	<input type="text"/>
Asma	<input type="checkbox"/>	Tratamiento	<input type="text"/>
VIH / SIDA	<input type="checkbox"/>	Tratamiento	<input type="text"/>

11.- ¿padece usted de Inmunodeficiencia congénita?, no es VIH (SIDA) SI NO

12.- ¿Ha recibido trasplantes? SI NO

13.- ¿A qué edad inicio su actividad sexual, juegos, tocaciones? (Expresado en años).

14.- ¿A qué edad tuvo su primer contacto íntimo (relaciones sexuales)? (Expresado en años).

15.- ¿Cuál es el número de parejas sexuales que usted ha tenido? (Número total a la fecha).
1 pareja de 2 a 3 parejas de 4 a 5 parejas de 6 a 7 parejas 8 o más

16.- ¿Qué número de embarazos a término ha tenido? (Donde se halla producido nacimiento).
ninguno 1 2 o 3 4 o 5 6 o más

17.- Si ha tenido embarazos de término, ¿a qué edad sucedió el primero? (Expresado en años).

18.- ¿Qué tipo de método anticonceptivo ha usado o usa en la actualidad?

Naturales Orales Inyectables Parches Geles

Vasectomía Ligadura Otros

¿Por cuánto tiempo lo ha utilizado?

¿Cuándo lo dejó de utilizar?

19.- ¿A qué edad tuvo la menarquía (primera menstruación)? (Expresado en años).

20.- ¿En algún momento ha presentado algún tipo de infección genito urinaria (cistitis, pielonefritis u otra)?
NO SI

Si sabe, ¿de qué tipo?

21.- ¿En las cuatro últimas generaciones de su familia ha existido algún tipo de cáncer? (Desde las tataras abuelas).
NO SI cuál?

22.- ¿Su madre o abuela, tuvo o tiene cáncer uterino?
NO SI

23.- En cuanto a su alimentación: ¿Cuántas veces a la semana como frutas y/o verduras?
1 vez 2 veces 3 veces 4 veces 5 o más veces

24.- ¿Cuál es su peso? kg. ¿Cuál es su talla (altura)? m.

GRACIAS POR SU VALIOSA INFORMACIÓN

Anexo N° 2

CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA EL PROCEDIMIENTO DE CITOLOGIA EXFOLIATIVA DEL CUELLO UTERINO (PAPANICOLAU)

De la Investigación "Programa de prevención del Cáncer Cérvicouterino. Screening y diagnóstico genético-molecular del virus del Papiloma Humano de alto riesgo en población femenina de la Región Norte del Perú."

2.- INFORMACIÓN GENERAL

Este Formulario de Consentimiento Informado se dirige a mujeres asintomáticas, que son voluntarias y que se les invita a participar en la investigación "Programa de prevención del Cáncer Cérvicouterino. Screening y diagnóstico genético-molecular del virus del Papiloma Humano de alto riesgo en población femenina de la Región Norte del Perú."

Investigador Principal Lic. Luis Eduardo Costa Santos
Organización Universidad Viña del Mar
Patrocinador Universidad Viña del Mar

En primer lugar, un saludo cordial. Mi nombre es Luis Eduardo Costa Santos, trabajo para Ciencias Básicas de la Universidad de Viña del Mar, y con un grupo de docentes estamos investigando sobre la enfermedad Cáncer Cérvico Uterino, que es muy común en este país. Es en este marco que le invito a participar de esta investigación. No tiene que decidir hoy si participar o no.

Puede que haya algunas palabras que no entienda. Por favor, no dude en preguntar todo aquello que le merezca duda, de tal manera de poder explicarle. Si tiene preguntas más tarde, puede preguntarme o a otro de os investigadores miembros del equipo, para lo cual contará con la posibilidad de correo electrónico y/o de manera presencial de los encuestadores

*El correo electrónico del investigador principal es: **lcosta@uvm.cl** y la dirección física para contactarlo es Luis Eduardo Costa Santos, coordinador área Biología, Ciencias Básicas, Universidad Viña del Mar, Chile, Agua Santa 7055, Viña del Mar, Teléfono (56) 32 2462762*

Su participación en esta investigación es totalmente voluntaria. Usted puede elegir participar o no hacerlo. Usted puede cambiar de idea más tarde y dejar de participar aun cuando haya aceptado antes.

No se le dará ningún dinero o regalos por tomar parte en esta investigación.

Si usted participa en esta investigación, tendrá el beneficio de contar con un examen de gran importancia para detectar lesiones precursoras del cáncer del cuello uterino, cuya detección precoz y oportuno tratamiento, permiten la curación de ellas con casi un 100 % de eficacia y por lo tanto evitar la progresión a una enfermedad potencialmente fatal.

La información que recojamos por este proyecto de investigación se mantendrá confidencial. La información acerca de usted que se recogerá durante la investigación será resguardada y nadie, sino los investigadores, tendrán acceso a verla. Cualquier información acerca de usted tendrá un número en vez de su nombre. Solo los investigadores sabrán cuál es su número que corresponde a su nombre y se mantendrá la información bajo llave. No será compartida ni entregada a nadie.

Puede dejar de participar en la investigación en cualquier momento que desee sin perder sus derechos.

1.- IDENTIFICACIÓN DEL PACIENTE/ REPRESENTANTE LEGAL

Doña

Nombre:.....Apellidos.....
de.....años, DNI

Don /Doña

Nombre:Apellidos.....
de..... años, en calidad de.....

(Representante Legal, familiar o cuidador responsable)

2.- INFORMACIÓN GENERAL

- Se me ha indicado que se procederá a la realización de una citología exfoliativa del cuello uterino, también denominado examen de Papanicolau.
- La citología del cuello uterino tiene por finalidad obtener material citológico para la pesquisa de lesiones precursoras del cáncer del cuello uterino.
- Entiendo que el examen de Papanicolau implica un examen ginecológico y una toma de muestra que puede causar molestias menores.
- Una vez realizado el procedimiento, el paciente puede hacer sus actividades normales.
- El material obtenido será procesado y analizado en un laboratorio y analizado por profesionales especialistas en este tipo de exámenes.
- Sólo una vez que la muestra ha sido procesada y examinada, se podrá establecer si hay material suficiente para diagnóstico. Si esto no ocurre, se puede repetir el procedimiento en algunas semanas.
- Si existiese cualquier molestia mayor a lo esperado u otra complicación, el paciente debe avisar de inmediato a su médico para control.
- El informe del análisis tarda aproximadamente 10 días y puedo retirarlo en el mismo laboratorio.
- En este procedimiento no se administran fármacos.
- La muestra obtenida puede resultar benigna, premaligna, maligna, indeterminada o insuficiente.
- Ningún médico puede asegurar completo éxito y ausencia de complicaciones, sin embargo, estas son poco habituales e incluyen dolor de escasa intensidad y ocasionalmente algún sangramiento.

3.- DECLARO

Que, se ha garantizado mi derecho a realizar las preguntas acerca de mi condición de voluntario en la investigación, así como de los riesgos inherentes al procedimiento indicado, con lo cual dispongo de toda la información necesaria para dar mi consentimiento informado. Comprendo que se emplearán todos los esfuerzos materiales y humanos disponibles para que el procedimiento sea exitoso y sin complicaciones, pero que no se me puede garantizar un resultado específico, como en todo acto médico.

Y en estas condiciones, y para los efectos de lo establecido la Ley N°26.842, que regula los derechos y deberes que tienen las personas en relación con las acciones vinculadas a su atención de salud.

4.- CONSIENTO que se me realice el procedimiento de PAPANICOLAU.....

En Cajamarca.....de..... del 201.....

Identificación del investigador (nombre y 2 apellidos)

.....

Firma investigador.....

Firma Paciente.....DNI.....

Firma Representante LegalDNI.....

5.- RECHAZO que se me realice el procedimiento de PAPANICOLAU.....

He sido informado por el Investigador Sr. del procedimiento de PAPANICOLAU, así como de los beneficios y riesgos que se esperan de su aplicación e igualmente de las consecuencias que se derivarán de su no realización.

He comprendido toda la información que se me ha proporcionado y mis dudas han sido resueltas, **declarando mi negativa** para que se me practique el procedimiento de examen de PAPANICOLAU, asumiendo todas las complicaciones que de esta decisión puedan derivarse.

En Cajamarcade..... del 201.....

Identificación del investigador (nombre y 2 apellidos)

.....

Firma investigador.....

Firma Paciente.....DNI.....

Firma Representante LegalDNI.....

6.- REVOCACION

Por el presente acto expreso mi voluntad de **Revocar el Consentimiento**, para que se efectúe el procedimiento de PAPANICOLAU.

Me han sido explicados en detalle y lenguaje comprensible los riesgos y perjuicios que dicha decisión implica para mi salud actual y futura.

En Cajamarcade..... del 201.....

Identificación del investigador (nombre y 2 apellidos)

.....

Firma Investigador.....

Firma Paciente.....DNI.....

Firma Representante LegalDNI.....

He leído con exactitud o he sido testigo de la lectura exacta del documento de consentimiento informado para el potencial participante y el individuo ha tenido la oportunidad de hacer preguntas. Confirmando que el individuo ha dado consentimiento libremente.

Nombre del Investigador _____

Firma del Investigador _____

Fecha _____
Día/mes/año

**Ha sido proporcionada al participante una copia de este documento de
Consentimiento
Informado** _____ (iniciales del investigador/asistente).

Referencias

Adam E, Kaufman RH, Adler-Storthz K, et al. A prospective study of association of herpes simplex virus and human papillomavirus infection with cervical neoplasia in women exposed to diethylstilbestrol in utero. *Int J Cancer* 1985; 35(1): 19–26.

American Cancer Society. *Cancer Facts & Figures 2014*. Atlanta, Ga: American Cancer Society; 2014.

American Cancer Society. *Cancer Prevention & Early Detection Facts & Figures 2010*. Atlanta, Ga. American Cancer Society 2010.

American Cancer Society. Detailed Guide: Cervical Cancer. Accessed at <http://www.cancer.org/Cancer/CervicalCancer/DetailedGuide/index> on March 28, 2013.

American College of Obstetricians and Gynecologists. ACOG Practice Bulletin N° 99: management of abnormal cervical cytology and histology. *Obstet Gynecol* 2008.

Análisis de la Situación del Cáncer en el Perú. Dirección General de Epidemiología, Ministerio de Salud, Perú 2013.

Apgar BS, Zoschnick L, Wright TC "The 2001 Bethesda System terminology". *Am Fam Physician* November 2003; 68 (10): 1992–8.

Appleby P, Beral V, Berrington de González A, Colin D, Franceschi S, Goodhill A, Green J, Peto J, Plummer M, Sweetland S. International Collaboration of Epidemiological Studies of Cervical Cancer. Cervical cancer and hormonal contraceptives: collaborative reanalysis of individual data for 16,573 women with cervical cancer and 35,509 women without cervical cancer from 24 epidemiological studies. *Lancet*. 2007; 370(9599): 1609–1621.

Armenteros-Espino E, Larrea-Armenteros M, Pescoso-Domínguez S, Gutiérrez-Castro R, Romeu-Escobar M. Factores de riesgo de neoplasias intraepiteliales cervicales. *Revista Finlay [revista en Internet]*. 2016 [citado 2016 Oct 18]; 6(3).

Ault KA, Future II study group. Effect of prophylactic human papillomavirus L1 virus-likeparticle vaccine on risk of cervical intraepithelial neoplasia grade 2, grade 3, and adenocarcinoma in situ: a combined analysis of four randomised clinical trials. *Lancet*. 2007; 369(9576): 1861–1868.

Badano I, Pedrozo R W, Ruíz D L S, Galuppo J A, Picconi M A, Campos R H and Liotta D J. Human papillomavirus (VPH) detection and Papanicolaou cytology in low-resource women in Posadas city, Misiones, Argentina. *Revista Argentina de Microbiología* 2010, 43(4), 263–267.

Berek, J. Simplification of the New Bethesda 2001 Classification System. *Am J Obstet Gynecol* 2002. Volume 188, Number 3: S2 – S5.

Bosch FX, Lorincz A, Muñoz NC, Meijer JLM, Shah KV. The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer. *J Clin Pathol.* 2002; 55:244-65.

Boshart M, Gissmann L, Ikenberg H, Kleinheinz A, Scheurlen W, zur Hausen H. A new type of papillomavirus DNA, its presence in genital cancer biopsies and in cell lines derived from cervical cancer. *The EMBO Journal* 1984; 3(5):1151–1157.

Bolaños-Díaz R, Tejada R A, Beltrán J, Escobedo-Palza S. Evaluación costo-efectividad de dos alternativas de vacunación para el virus del papiloma humano en la prevención del cáncer cervical uterino. *Revista peruana de Medicina experimental y Salud Pública* 2016 Vol 33 (3).

Bruni L, Diaz M, Barrionuevo-Rosas L, Herrero R, Bray F, Bosch FX, de Sanjosé S, Castellsagué X. Global estimates of human papillomavirus vaccination coverage by region and income level: a pooled analysis. *Lancet Glob Health.* 2016; 4(7): e 453-63. a

Bruni L, Barrionuevo-Rosas L, Albero G, Aldea M, Serrano B, Valencia S, Brotons M, Mena M, Cosano R, Muñoz J, Bosch FX, de Sanjosé S, Castellsagué X. ICO Information Centre on HPV and Cancer (HPV Information Centre). Human Papillomavirus and Related Diseases in Peru. Summary Report 2016-02- 26. Data Accessed September 2016. b

Castellsagué X, Bosch FX, Muñoz N, Meijer CJ, et al. Male circumcision, penile human papilloma virus infection, and cervical cancer in female partners. *N Engl J Med.* 2002 Apr 1; 346(15): 1105–1112.

Castellsagué X et al. Intrauterine device use, cervical infection with human papillomavirus, and risk of cervical cancer: a pooled analysis of 26 epidemiological studies. *The Lancet Oncology* Oct 2011, v 12, N° 11: 1023 – 1031.

Castro M et al. Epidemiología del Cáncer del Cuello Uterino: Estado del arte. *Rev. Colombiana de Obstetricia y Ginecología* 2006; v.57, nº3. Bogotá.

Centers for Disease Control and Prevention (CDC). FDA licensure of bivalent human papillomavirus vaccine (VPH2, Cervarix) for use in females and updated VPH vaccination recommendations from the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2010 May 28; 59(20): 626–629. Erratum in: *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2010 Sep 17; 59(36): 1184.

Clifford GM, Gallus S, Herrero R, Muñoz N, Snijders PJ, Vaccarella S, Anh PT, Ferreccio C, Hieu NT, Matos E, Molano M, Rajkumar R, Ronco G, de Sanjosé S, Shin HR, Sukvirach S, Thomas JO, Tunsakul S, Meijer CJ, Franceschi S; IARC HPV Prevalence Surveys Study Group. Worldwide distribution of human papillomavirus types in cytologically normal women in the International Agency for Research on Cancer HPV prevalence surveys: a pooled analysis. *Lancet*. 2005; 366(9490):991-8.

Cuzick J, Clavel C, Petry K-U, Meijer Chris JLM, Hoyer H, Ratnam S, Szarewski A, Birembaut P, Kulasingam S, Sasieni P and Iftner T. Overview of the European and North American studies on VPH testing in primary cervical cancer screening. *Int. J. Cancer* 2006: 119, 1095–1101.

Deluca G D, Alonso J M, Lucero R H, Schelover E, Cozzoli A. Genotipos ano genitales de VPH en una comunidad aborigen de la Provincia de Formosa. Hospital de Formosa, 2003.

De Villiers EM, Lavergne D, Chang F, Syrjanen K, Tos P, Cintorino M et al. An interlaboratory study to determine the presence of human Papillomavirus DNA esophageal carcinoma from China. *Int J Cancer* 1999; 81:225-228.

Eifel PJ, Berek JS, Markman, M. Cancer of the cervix, vagina, and vulva. In: DeVita VT, Hellman S, Rosenberg SA, eds. *Cancer: Principles and Practice of Oncology*. 8th. ed. Philadelphia, Pa: Lippincott Williams & Wilkins 2008: 1496–1543.

Ferlay J, Bray F, Pisani P, Parkin DM, International Agency for Research on Cancer (IARC). *GLOBOCAN 2002: cancer incidence, mortality and prevalence worldwide*. (2.0) Lyon, France: International Agency for Research on Cancer 2004.

Fica A. Prevención del cáncer cérvico-uterino en Chile. Mucha vacuna y poco Papanicolau. *Rev. chil. Infectol* 2014. vol.31 no.2.

Flores Y N, Bishai D M, Shah K V, Lazcano-Ponce E, Lörintz A, Hernández M, Salmerón J. Risk factors for cervical cancer among VPH positive women in Mexico. *Salud Pública de México* 2008, 50(1), 49–58.

Franco E et al. Cervical cancer: epidemiology, prevention and the role of human papillomavirus infection 2001; 164(7).

Ghosh C, Baker JA, Moysich KB, et al. Dietary intakes of selected nutrients and food groups and risk of cervical cancer. *Nutr Cancer* 2008; 60(3): 331–341.

Gray RH, Serwadda D, Kong X, Makumbi F, et al. Male circumcision decreases acquisition and increases clearance of high-risk human papillomavirus in HIV-negative men: a randomized trial in Rakai, Uganda. *J Infect Dis*. 2010 May 15; 201(10): 1455–1462.

Gutiérrez C, Alarcón E. Nivel de pobreza asociado al estadio de gravedad del cáncer ginecológico. *An. Fac. med.* 2008. v.69 n.4 Lima dic.

Guía de Práctica Clínica para la Prevención y Manejo del Cáncer de Cuello Uterino, MINSA, Perú 2016.

Hatch EE, Herbst AL, Hoover RN, et al. Incidence of squamous neoplasia of the cervix and vagina in women exposed prenatally to diethylstilbestrol (United States). *Cancer Causes Control* 2001; 12(9): 837–845.

Hernandez BY, Wilkens LR, Zhu X, et al. Transmission of human papillomavirus in heterosexual couples. *Emerg Infect Dis.* 2008; 14(6): 888–894.

Hogewoning CJ, Bleeker MC, van den Brule AJ, et al. Condom use promotes regression of cervical intraepithelial neoplasia and clearance of human papillomavirus: a randomized clinical trial. *Int J Cancer* 2003; 107(5): 811–816.

Hutchinson ML, Isenstein LM, Goodman A, Hurley AA, Douglass KL, Mui KK, Patten FW, Zahniser DJ. Homogeneous sampling accounts for the increased diagnostic accuracy using the ThinPrep Processor. *Am J Clin Pathol* 1994; 101(2): 215-9.

Jaisamram U, Castellsaque X, Garland SM, Palmroth J, Del Rosario-Raymundo MR. Natural history of progression of HPV infection to cervical lesion or clearance: analysis of the control arm of the large, randomised PATRICIA study. *PLoS One.* 2013 Nov 19; 8(11): e 79260.

Jastreboff A, Cymet T. Role of human papilloma virus in the development of cervical intraepithelial neoplasia and malignancy. *Rev Postgrad Med J* 2002; 78:225-8.

Jhingran A, Eifel PJ, Wharton JT, et al. Neoplasms of the cervix. In: Kufe DW, Pollock RE, Weichselbaum RR, Bast RC, Gansler TS, Holland JF, Frei E, eds. *Cancer Medicine* 6. Hamilton, Ontario: BC Decker 2003: 1779–1808.

Jhingran A, Russel AH, Seiden MV, et al. Cancers of the cervix, vagina and vulva. In: Abeloff MD, Armitage JO, Lichter AS, et al, eds. *Clinical Oncology*. 4th ed. Philadelphia, Pa; Elsevier 2008: 1745–1765.

Johnson DG, Cress WD, Jakoi L, Nevins JR. Oncogenic capacity of the E2F1 gene. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91:12823-7.

Katki HA, Kinney WK, Fetterman B, Lorey T, Poitras NE, Cheung L, Demuth F, Schiffman M, Wacholder S, Castle PE. Cervical cancer risk for women undergoing concurrent testing for human papillomavirus and cervical cytology: a population-based study in routine clinical practice. *Lancet*

Oncol. 2011 Jul; 12(7):663-72. doi: 10.1016/S1470-2045(11)70145-0. Epub 2011 Jun 16.

Lacey JV Jr, Swanson CA, Brinton LA, et al. Obesity as a potential risk factor for adenocarcinomas and squamous cell carcinomas of the uterine cervix. *Cancer* 2003; 98(4): 814–821.

Llop Hernández A, Valdés-Dapena M y Zuazo S. *Microbiología y Parasitología Médicas*. Tomo II. Capítulo 60. Ciudad, Habana. Cuba: Editorial Ciencias Médicas, 2001. pags 79-108.

Lu B, Wu Y, Nielson CM, et al. Factors associated with acquisition and clearance of human papillomavirus infection in a cohort of US men: a prospective study. *J Infect Dis*. 2009 Feb 1; 199 (3): 362–371.

Mc. Gregor B, Byrne P, Kirgan D, Albright J, Manalo P, Hall M. Confirmation of the association of human Papillomavirus with human colon cancer. *Am J Surg*. 1993; 166:738-742.

Mandado Pérez S, Haedo Quiñones W, Gra Oramas B, Domínguez Alvarez C, Lazo del Vallín S, Elvírez Gutiérrez A. Virus del papiloma humano. Actualización y presentación de un caso de carcinoma esofágico asociado a VPH. *Rev Mex Patol. Clin*. 2003; 50:12-19.

Manos MM, Ting Y, Wright DK, Lewis AJ, Broker TR, Wolinsky SM. Use of polymerase chain reaction amplification for detection of genital papillomavirus. *Cancer Cells* 1989; 29:20–7.

Marrazzo JM, Koutsky LA, Stine KL, et al. Genital human papillomavirus infection in women who have sex with women. *J Infect Dis*. 1998 Dec; 178(6): 1604–1609.

Massad LS, Einstein MH, Huh WK, et al. 2012 Updated Consensus Guidelines for the Management of Abnormal Cervical Cancer Screening Tests and Cancer Precursors. *Journal of Lower Genital Tract Disease* 2013; 17(5): S1-S27.

Medicare.<http://www.medicare.gov/navigation/manage-your-health/preventive-services/cervical-cancerscreening.aspx> on 3/28/2013.

Guía de Práctica Clínica para la Prevención y Manejo del Cáncer de Cuello Uterino, MINSAL 2016.

MINSAL. Ministerio de Salud Chile. Guía Clínica Cáncer Cervicouterino 1. 2002.1ª Ed. Santiago. Chile.

MINSAL. Encuesta Nacional de salud Chile, 2003: Enfermedades transmisibles: Prevalencia Nacional VPH, Gobierno de Chile. Ministerio de Salud, 2004. Santiago. Chile.

MINSAL. Ministerio de Salud Chile. Guía Clínica Cáncer Cervicouterino 2. 2005.1ª Ed. Santiago. Chile.

MINSAL. Ministerio de Salud Chile. Guía Clínica Cáncer Cervicouterino 2. 2008.1ª Ed. Santiago. Chile

Munoz N, Castellsagué X, de Gonzalez AB, Gissmann L. Chapter 1: VPH in the etiology of human cancer. *Vaccine* 2006; 24(Suppl. 3):S1–S10.

Muñoz N. Human papillomavirus and cancer: the epidemiological evidence. *J Clin Virol.* 2000; 19: 1-5.

National Cancer Institute website. Cervical Cancer Prevention page. Disponible en: www.cancer.gov/cancertopics/pdq/prevention/cervical. Updated February 17, 2015.

National Cancer Institute, State Cancer Legislative Database Program. Fact Sheet: Cervical Cancer. 2011. Accessed at <http://www.sclcd-nci.net/linkdocs/products/factsheets183>.

Nielson CM, Harris RB, Flores R, et al. Multiple-type human papillomavirus infection in male anogenital sites: prevalence and associated factors. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2009 Apr; 18(4): 1077–1083. Epub 2009 Mar 24.

Obstet Gynecol. 2012 Nov; 120(5):1222-38. doi: <http://10.1097/AOG.0b013e318277c92a>. ACOG Practice Bulletin Number 131: Screening for cervical cancer. Committee on Practice Bulletins—Gynecology.

Ortiz Serrano R, Uribe Pérez C J, Díaz Martínez, L A, Dangond Romero Y. Factores de riesgo para cáncer de cuello uterino. *Rev Colomb Obstet Ginecol.* 2004; vol.55 no.2 Bogotá Apr./June 2004.

Paavonen J, Naud P, Salmerón J, et al. Efficacy of human papillomavirus (VPH)-16/18 AS04-adjuvanted vaccine against cervical infection and precancer caused by oncogenic VPH types (PATRICIA): final analysis of a double-blind, randomised study in young women. *Lancet.* 2009 Jul 25; 374 (9686): 301–314.

Palacios V. Coordinador Prevención y Manejo Cáncer Cuello Uterino MINSA, Perú, 2018.

Panatto D, Amicizia D, Trucchi C, Casabona F, Lai P L, Bonanni P, Zotti C M. Sexual behaviour and risk factors for the acquisition of human papillomavirus infections in young people in Italy: suggestions for future vaccination policies. *BMC Public Health.* 2012, 12(1), 623. Human papillomavirus infections in young people in Italy: suggestions for future vaccination policies. *BMC Public Health*, 12(1), 623.

Papanicolau N, Traut HF. The diagnostic value of vaginal smears in carcinoma of the uterus *Am J. Obstet Ginecol* 1941; 42:193-205.

Ronco G, Cuzick J, Pierotti P, et al. Accuracy of liquid based versus conventional cytology: overall results of new technologies for cervical cancer screening: randomised controlled trial. *BMJ* 2007; 335 (7609): 28.

Saegusa M, Hashimura M, Takano Y, Ohbu M, Okayasu I. Absence of human papillomavirus genomic sequences detected by the polymerase chain reaction in oesophageal and gastric carcinomas in Japan. Department of Pathology, Kitasato University School of Medicine, Kanagawa, Japan. *Molecular Pathology* 05/1997; 50(2):101-4. DOI: 10.1136/mp.50.2.101.

Rengaswamy S, Bhagwan M N, F.R.C.P., Surendra S S, Kasturi J, Richard M, Atul M B, Sanjay H, Sylla G M, Ranjit T, Ashok K, Roshan C, Rohini K, Shubhada K, Sangeetha D, Vijay R K, Raghevendra R, Nandkumar P, and Ketayun A D, F.R.C.R. *N Engl J Med* 2009; 360:1385-1394.

Saslow D, Solomon D, Lawson H, et al. American Cancer Society, American Society for Colposcopy and Cervical Pathology, and American Society for Clinical Pathology Screening Guidelines for the Prevention and Early Detection of Cervical Cancer. [published online ahead of print March 14, 2012]. *CA Cancer J Clin.* 2012; 62(3). doi:10.3322/caac.21139.

Schiffman M, Castle PE, Jeronimo J, et al. Human papillomavirus and cervical cancer. *Lancet* 2007; 370 (9590): 890–907.

Serman, F. Cáncer Cervicouterino: Epidemiología, historia natural y rol del virus papiloma humano. *Perspectivas en prevención y tratamiento. Rev. Chilena de Obstetricia y Ginecología* 2002; 67(4):318-323.

Shah KV, Daniel RW, Simons JW, Vogelstein B. Investigation of colon cancers for human Papillomavirus genomic sequences by polimerase chain reaction. *J Surg Oncol.* 1992; 51: 5-7.

Smith JS, Muñoz N, Herrero R. Evidence for Chlamydia trachomatis as a Human papillomavirus cofactor in the etiology of invasive cervical cancer in Brazil and Philippines. *J Infect Dis.* 2002; 185:324-31.

Solomon D, Davey D, Kurman R, et al; Bethesda 2001 Workshop. The 2001 Bethesda System: Terminology for reporting results of cervical cytology. *JAMA* 2002; 287:2114–2119.

Syrjanen KJ. Histological changes identical to those of condylomatous lesions found in esophageal squamous cell carcinomas. *Arch Geschwulstforsch* 1982; 52: 283-292.

Tjalma W A, Fiander A, Reich O, Powell N, Nowakowski A M, Kirschner B, Koiss R, O'Leary J, Joura E A, Rosenlund M, Colau B, Schlederdmann D, Kukk K, Damaskou V, Repanti M, Vladareanu R, Kolomiets L, Savicheva A, Shipitsyna E, Ordi J, Molijn A, Quint W, Raillard A, Rosillon D, Collas De Souza S, Jenkins D, Holl K, for the HERACLES/SCALE Study Group. Differences in human papillomavirus type distribution in high-grade cervical intraepithelial neoplasia and invasive cervical cancer in Europe. *Int. J. Cancer* 2013; 132, 854–867.

Tobian AA, Serwadda D, Quinn TC, Kigozi G, et al. Male circumcision for the prevention of HSV-2 and VPH infections and syphilis. *N Engl J Med.* 2009 Mar 26; 360(13):1298–1309.

Tokudome S, Suzuki S, Ichikawa H, et al. Condom use promotes regression of cervical intraepithelial neoplasia and clearance of human papillomavirus: a randomized clinical trial. *Int J Cancer* 2004 Oct 20; 112(1).

Troisi R, Hatch EE, Titus-Ernstoff L, et al. Cancer risk in women prenatally exposed to diethylstilbestrol. *Int J Cancer* 2007; 121(2): 356–360.

Wikström I, Lindell M, Sanner K, Wilander E. Self-sampling and VPH testing or ordinary Pap-smear in women not regularly attending screening: a randomised study. *British journal of cancer* 2011;105 (3):337-9.

Winer RL, Lee SK, Hughes JP, et al. Genital human papillomavirus infection: incidence and risk factors in a cohort of female university students. *Am J Epidemiol.* 2003;157(3):218-226. Erratum in: *Am J Epidemiol.* 2003; 157(9):858.

Winer RL, Hughes JP, Feng Q, et al. Condom use and the risk of genital human papillomavirus infection in young women. *N Engl J Med.* 2006; 354:2645–2654.

Winkler B, Capo V, Reumann W, Ma A, La Porta R, Reilly S, Green PM, Richart RM, Crum CP. Human papillomavirus infection of the esophagus. A clinicopathologic study with demonstration of papillomavirus antigen by the immunoperoxidase technique. *Cancer* 1985; 55: 149-155.

Xu WG, Zhang LJ, Lu ZM, Li JY, Ke Y, Xu GW. Detection of human papillomavirus type 16 E6 mRNA in carcinomas of upper digestive tract. Department of Surgery, School of Clinical Oncology, Peking University, Beijing 100036, China. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi.* 2003, Nov 10; 83 (21):1910-4.