

ADN LIBRE PLASMATICO COMO MARCADOR MOLECULAR EN LESIONES PRE- NEOPLASICAS DE CUELLO UTERINO Y SU ASOCIACION CON VPH

Mary Julieth Gonzalez Melo
Universidad del Rosario - Universidad CES
Escuela de Medicina y Ciencias de la Salud –
Facultad de Medicina
Especialización en Epidemiología.

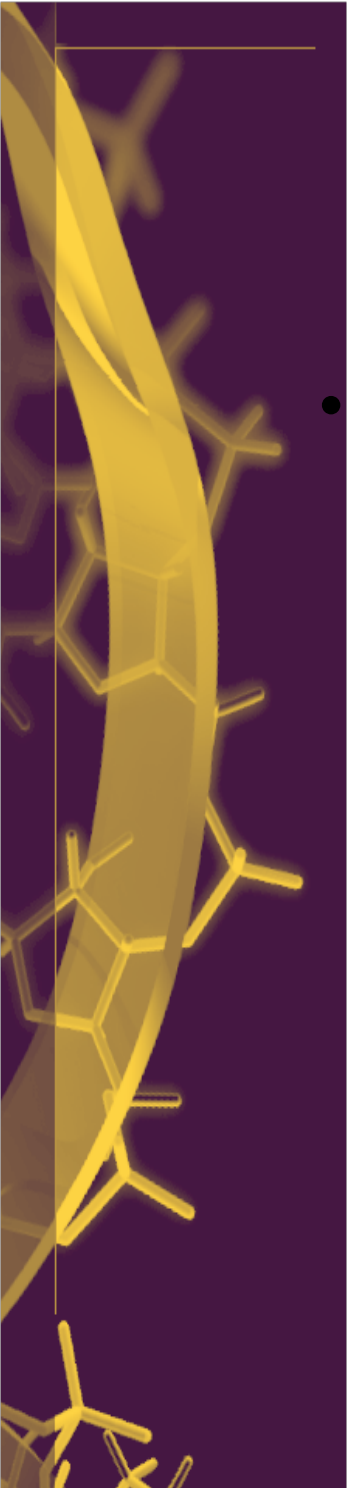
Planteamiento del problema.

El cáncer de cuello uterino es la 2da causa más frecuente de cáncer en mujeres, incidencia 26.1 por 100000 habitantes.

A pesar de los avances recientes a la fecha no se ha encontrado un marcador molecular que esté significativamente asociado con la progresión de esta enfermedad.

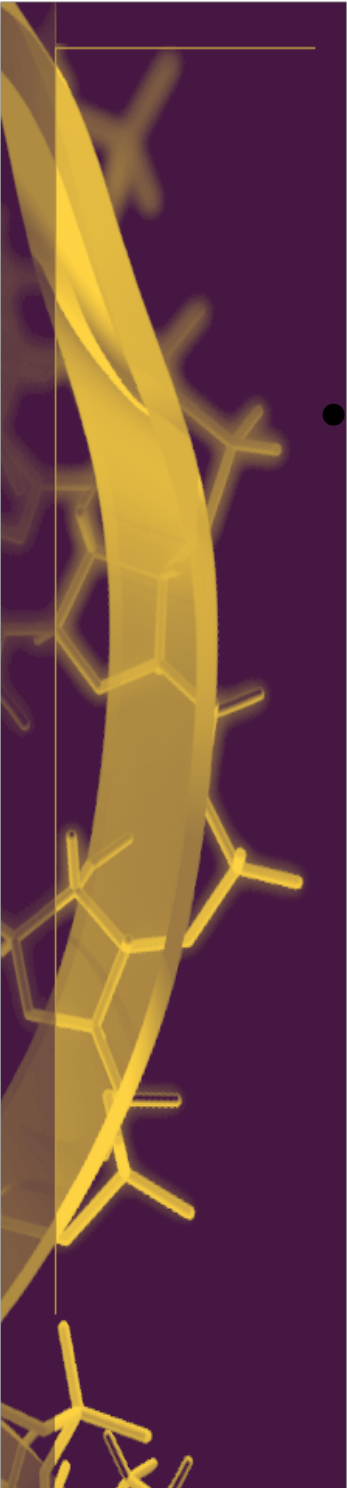
El ADN libre no han sido evaluado en lesiones pre cancerosas de cuello uterino ni tampoco se a estudiado su asociación con el serotipo de VPH.





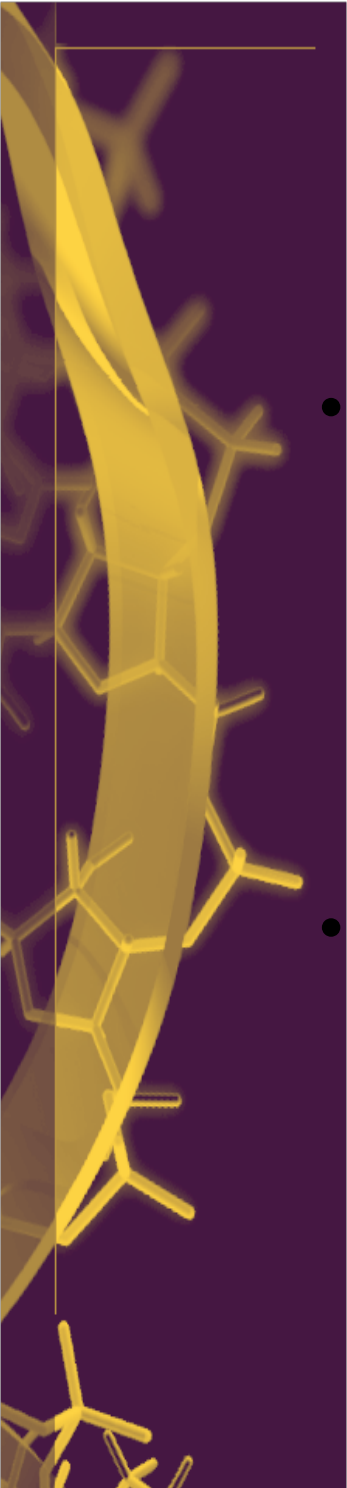
Justificación.

- El cáncer de cuello uterino es el segundo en frecuencia en mujeres de todo el mundo. Cada año hay aproximadamente 437.000 casos nuevos de cáncer invasivo y más de 200.000 muertes, 79% de las cuales ocurren en países en desarrollo. Las tasas de incidencia varían ampliamente de acuerdo con la distribución geográfica, con las mayores tasas en África, Latinoamérica y algunas poblaciones de Asia. En Colombia, la incidencia de cáncer cervical es alta (26.1 por 100.000) y el cáncer de cuello uterino es, también, la principal causa de mortalidad por cáncer en mujeres en edad reproductiva.



Justificación.

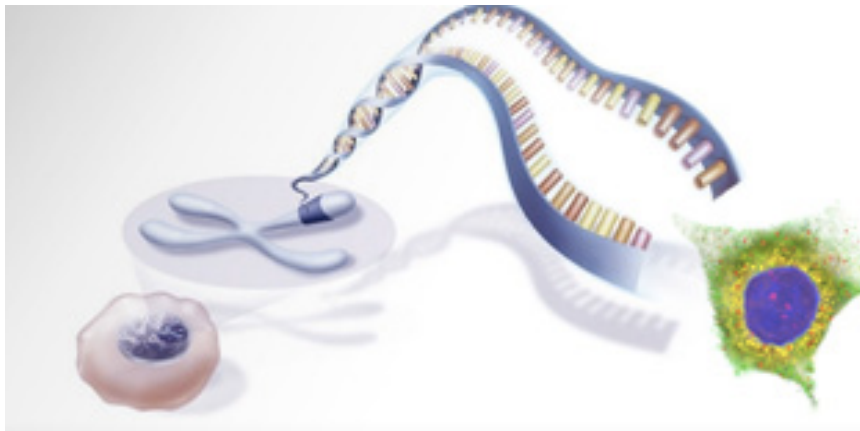
- El virus del papiloma humano (VPH) es el principal factor de riesgo asociado con el desarrollo de lesiones cervicales de alto grado y cáncer de cuello uterino. Algunos estudios de cohorte sugieren que cerca de 10 a 20% de las mujeres infectadas por VPH eventualmente progresarán a lesiones intraepiteliales de alto grado. Las infecciones por VPH son detectadas en el 6.2 de cada 100 mujeres por año.



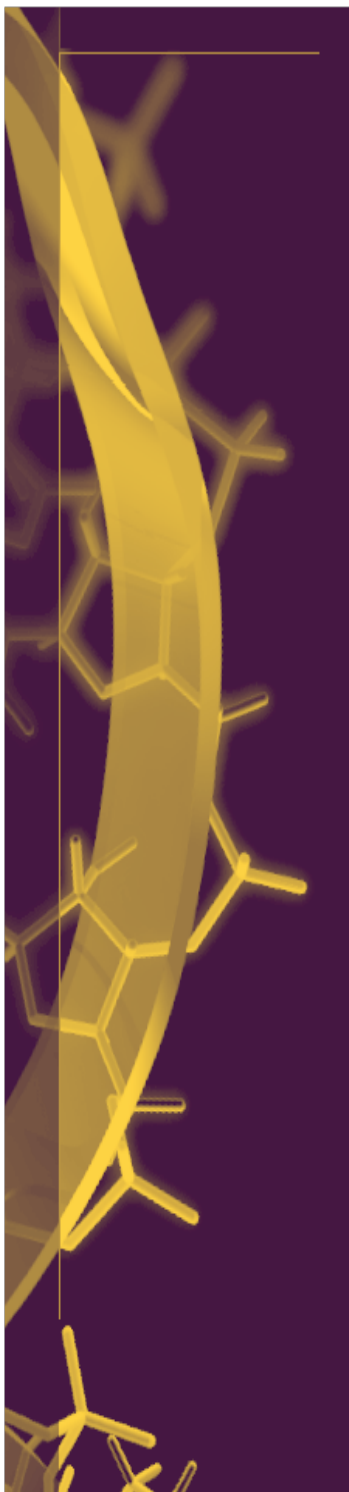
Justificación.

- La organización panamericana de la salud ha reconocido la importancia de desarrollar programas rentables de prevención de cáncer de cuello uterino, que incluyan exámenes de detección, tratamiento y seguimiento.
- En Colombia, la poca efectividad de las acciones preventivas y las exigencias para los programas de citología han llevado a la necesaria discusión sobre la búsqueda de nuevas alternativas para el control del cáncer de cuello uterino.

La evaluación y detección de marcadores moleculares tumorales ofrecen una alternativa en detección y seguimiento en lesiones pre-cancerosas y cáncer cervical, es por eso que en este estudio se quiso evaluar al ADN libre en plasma como un marcador molecular de lesiones intraepiteliales de cuello uterino



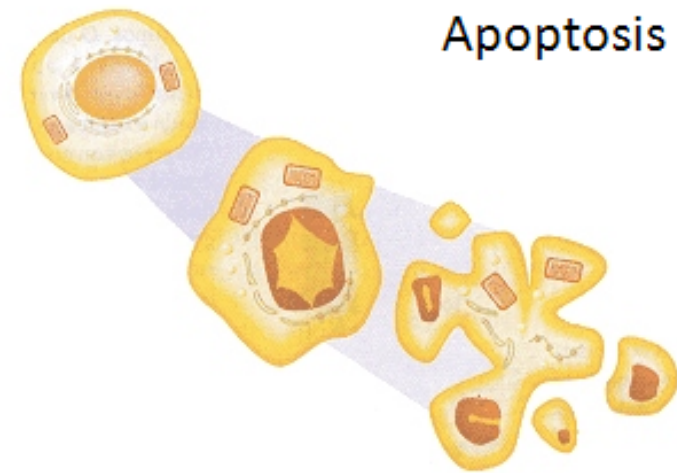
MARCO CONCEPTUAL.



Origen del ADN libre.



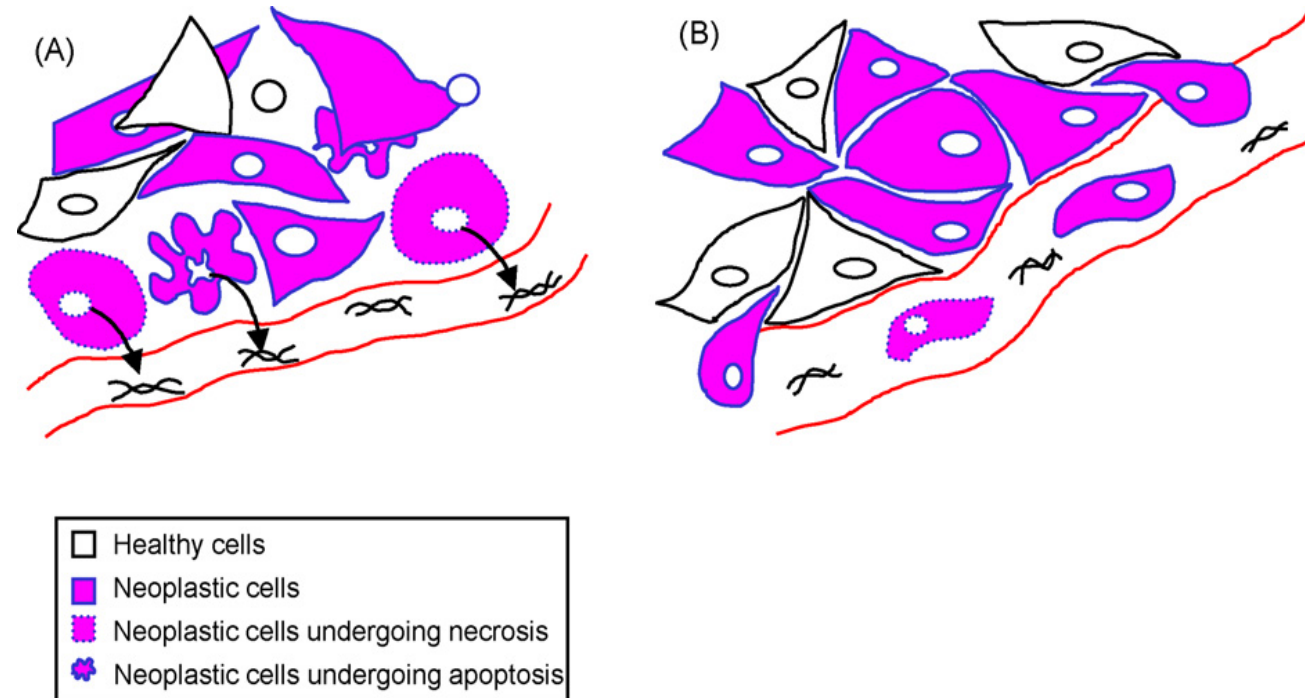
Proceso no programado.
Productos celulares tóxicos.
ADN 10000 pb.



Proceso programado.
Cuerpos apoptóticos.
ADN 200 pb.

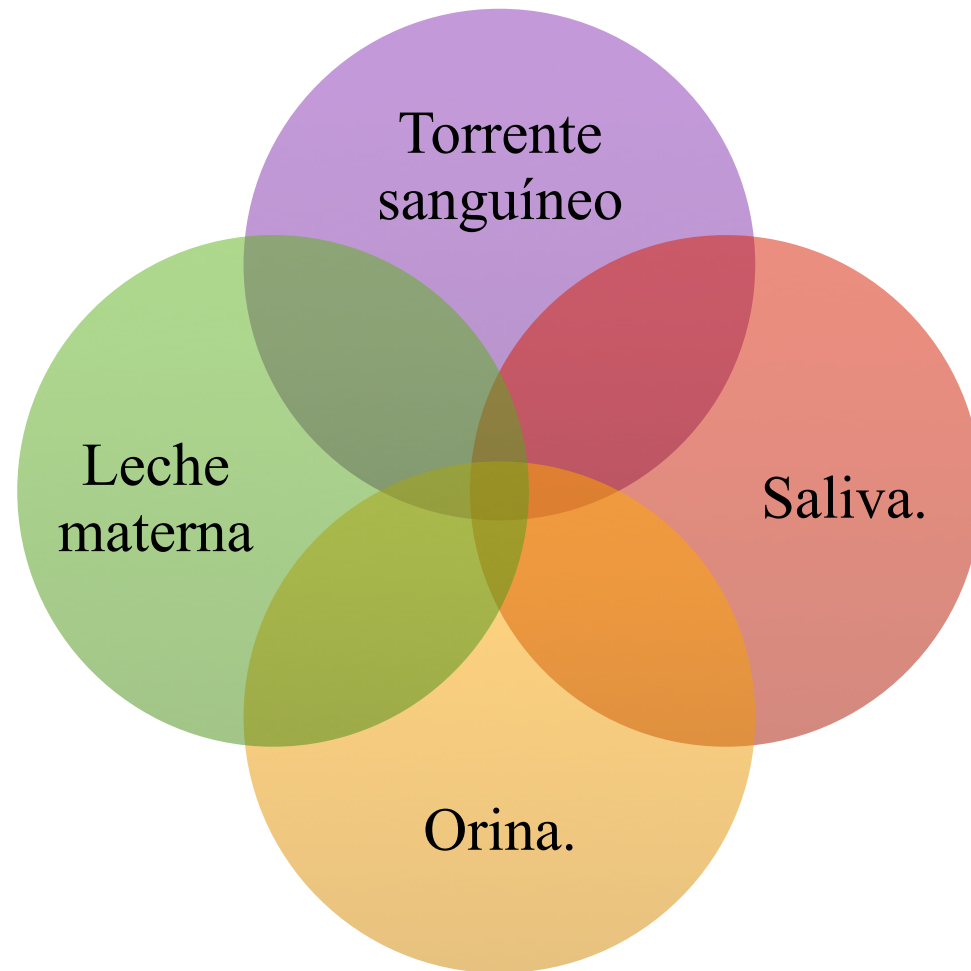
Gormally *et al.*, 2006.

Mecanismos de liberación del ADN.

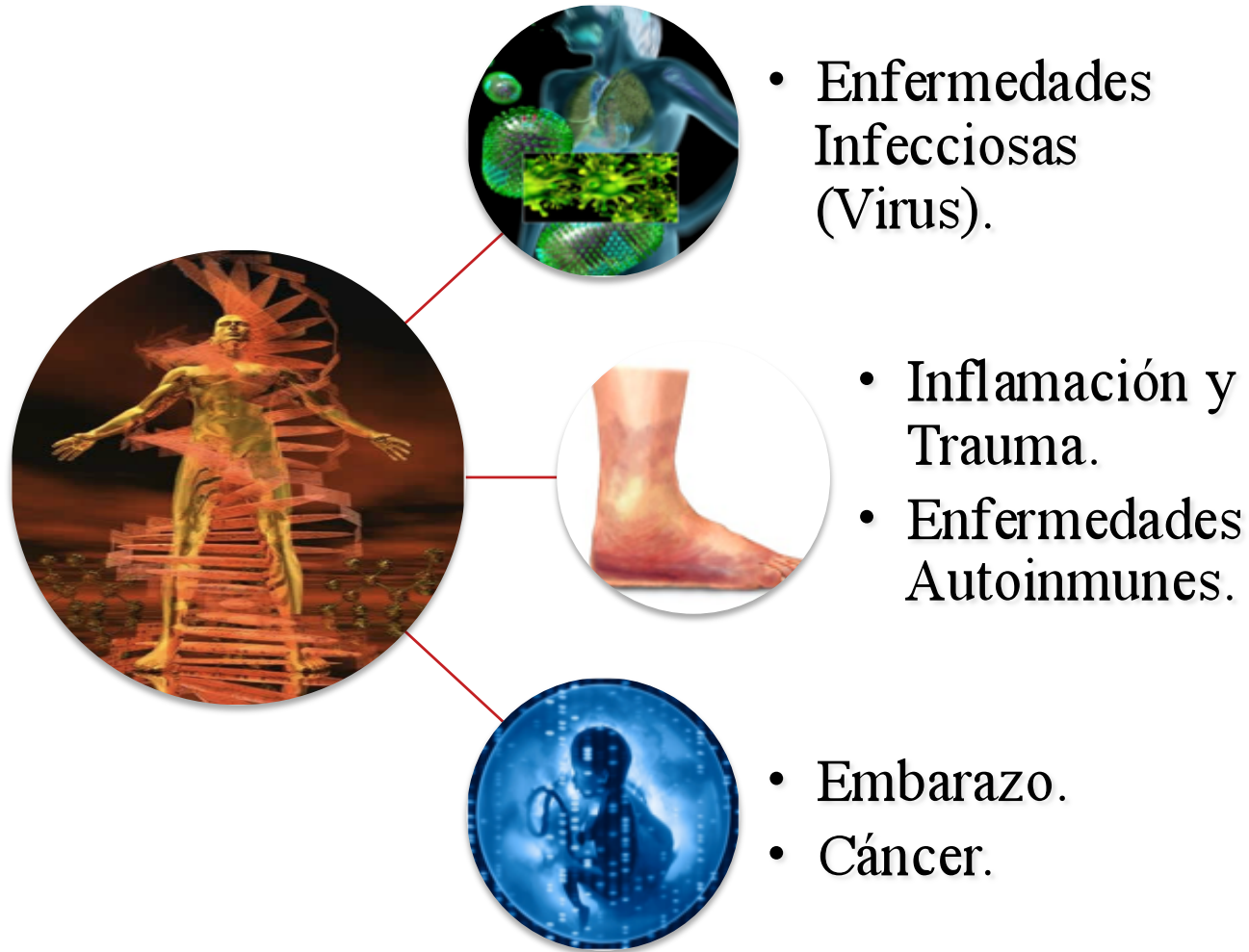


Gormally *et al.*, 2006.

Fuentes de ADN libre.



Factores que alteran la concentración de ADN libre.

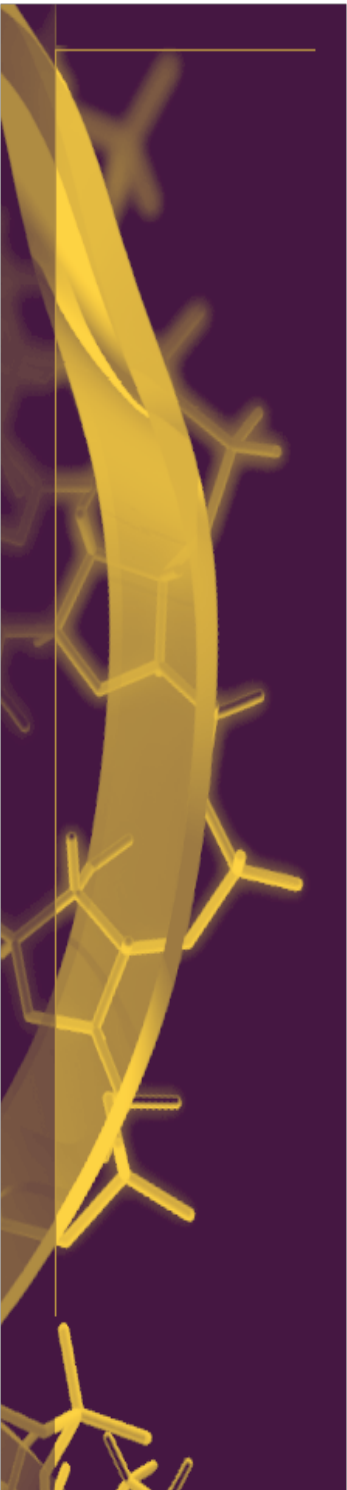
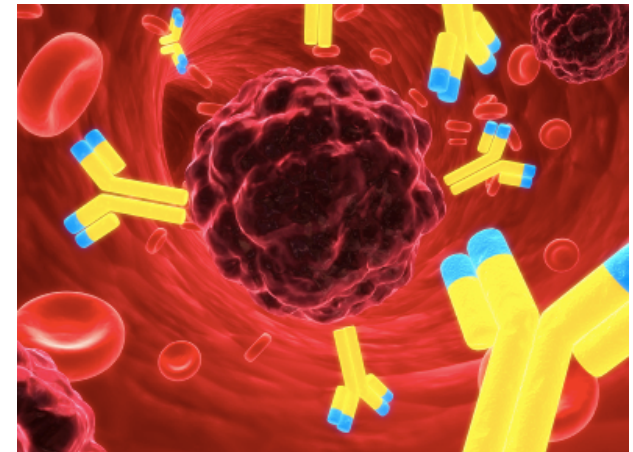


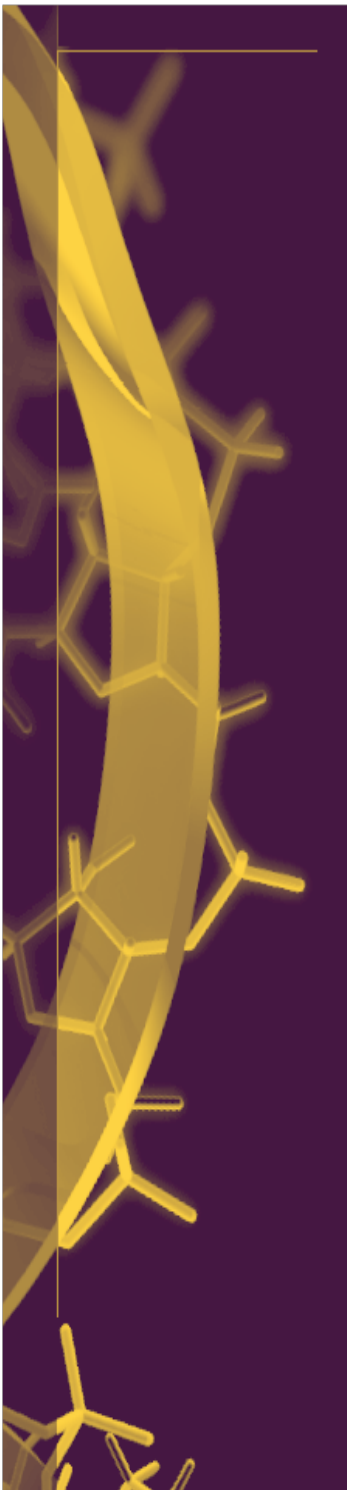
Cáncer.

Incremento en la concentración de ADN libre en cáncer de seno, próstata, pulmón y cervical entre otros

↑pacientes con metástasis

↓pacientes tratados con radioterapia.



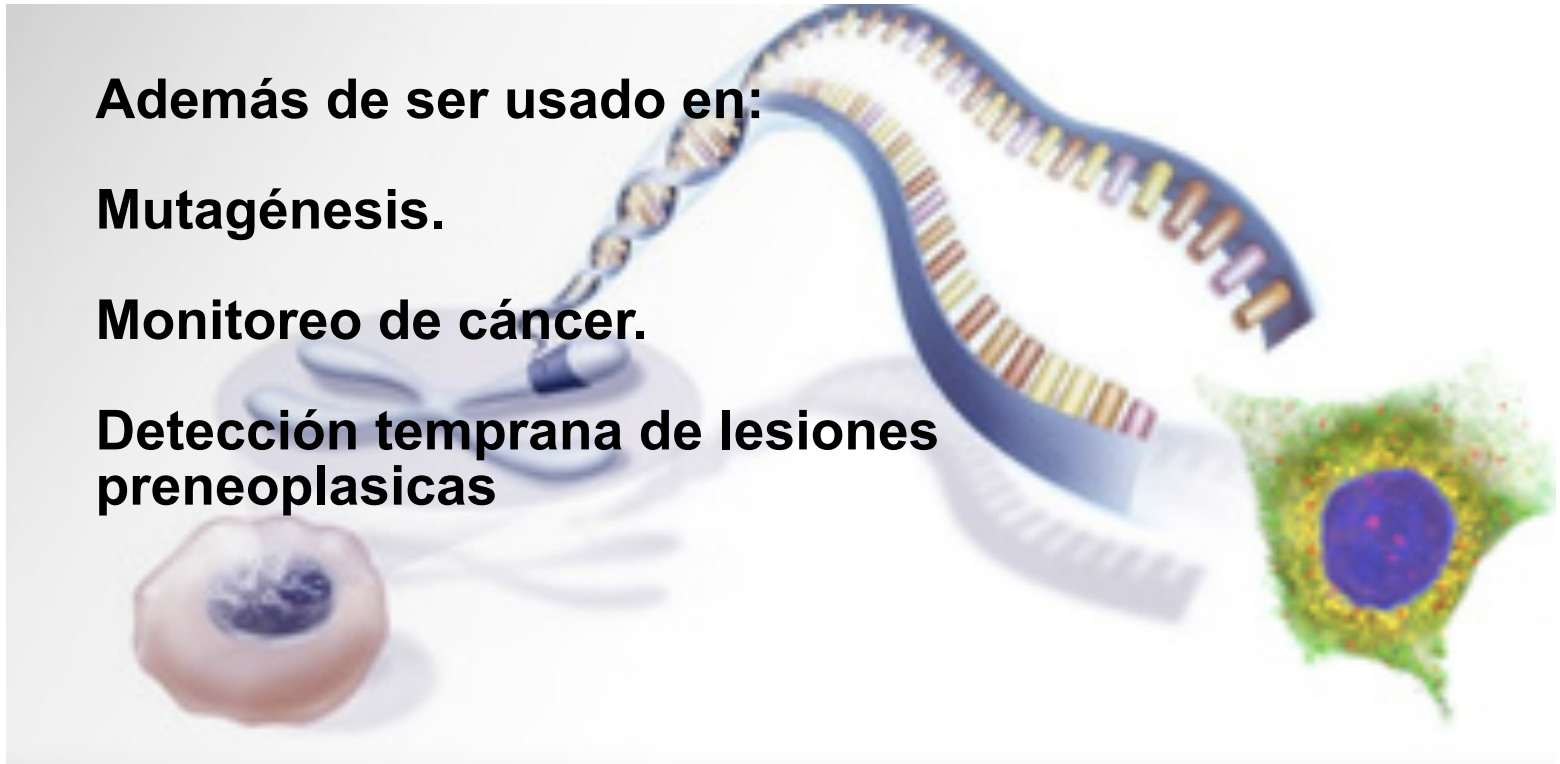


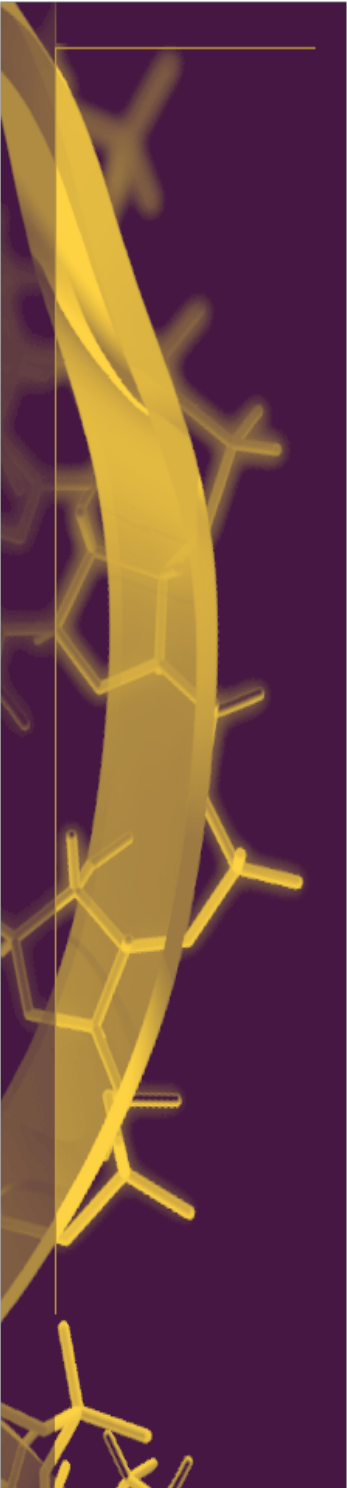
Además de ser usado en:

Mutagénesis.

Monitoreo de cáncer.

**Detección temprana de lesiones
preneoplásicas**

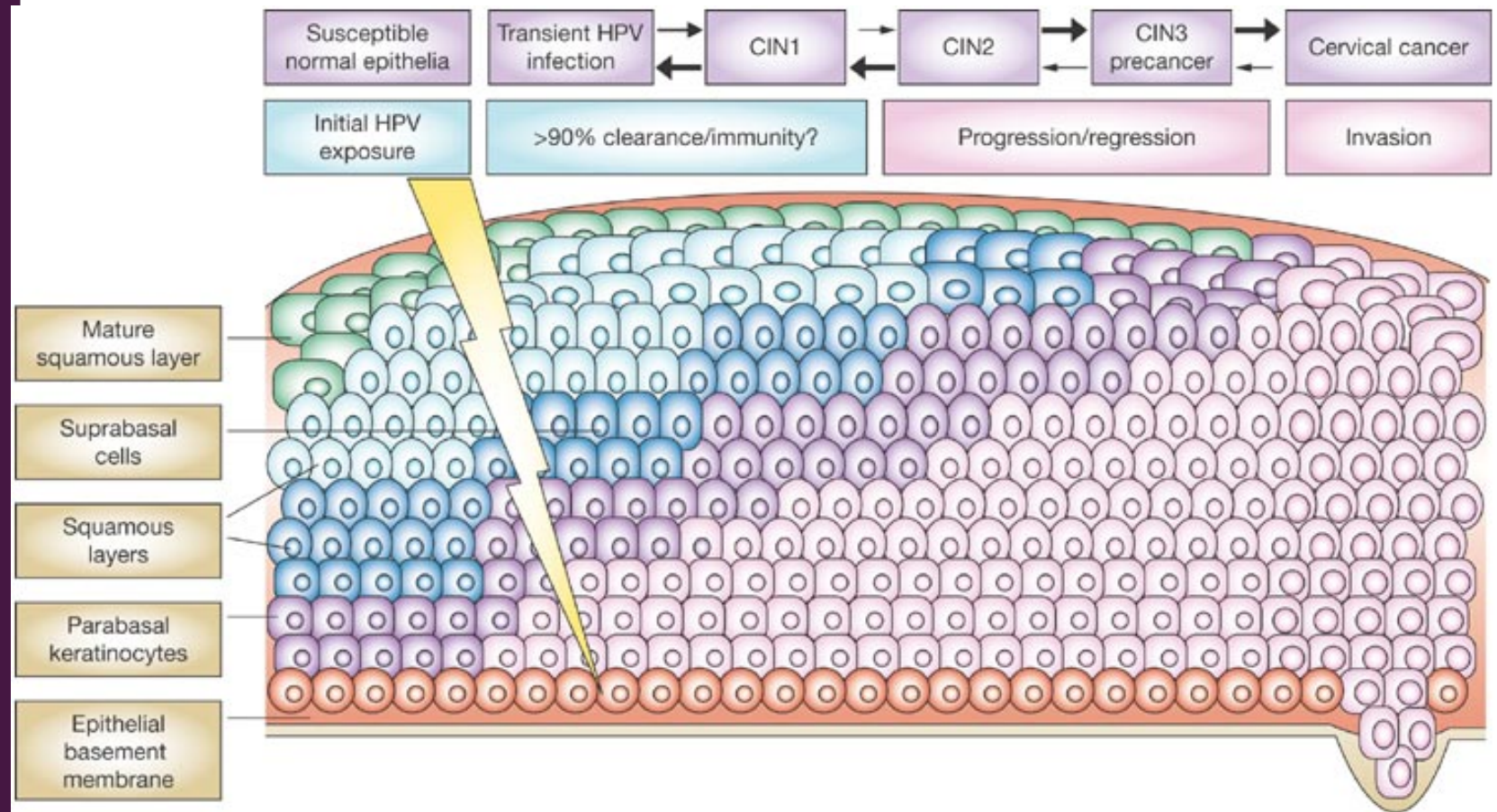




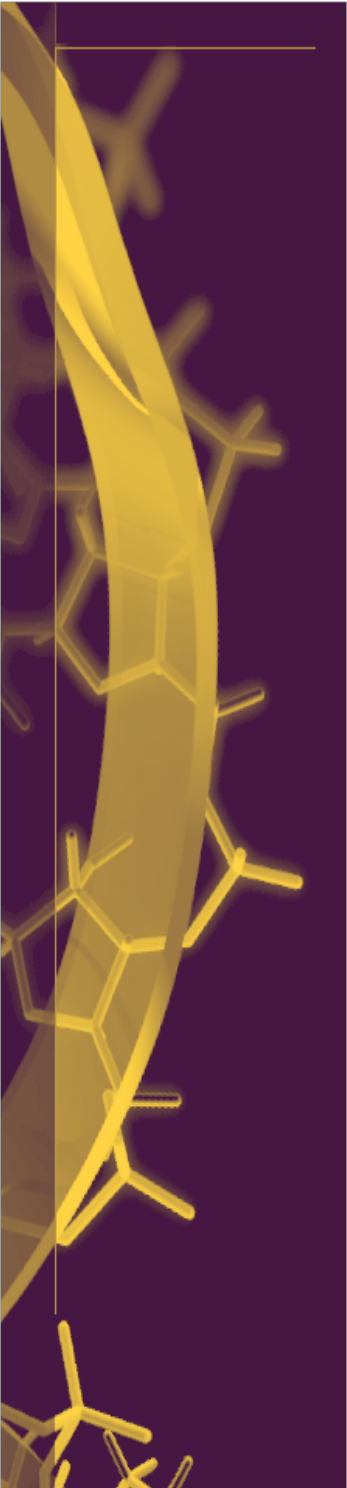
Cáncer de Cuello Uterino.

El cáncer cervical o de cérvix uterino es el segundo tipo de cáncer más común en mujeres, y en países en vías de desarrollo es el más frecuente, diagnosticándose más de 400.000 casos nuevos cada año. La edad media de aparición es de 45 años.

Cáncer de Cuello Uterino.



Alonso P, cáncer cérvico uterino diagnostico, prevención y control, 2^{da} ed. Madrid: Panamericana, 2005: Vol.1.p.385.



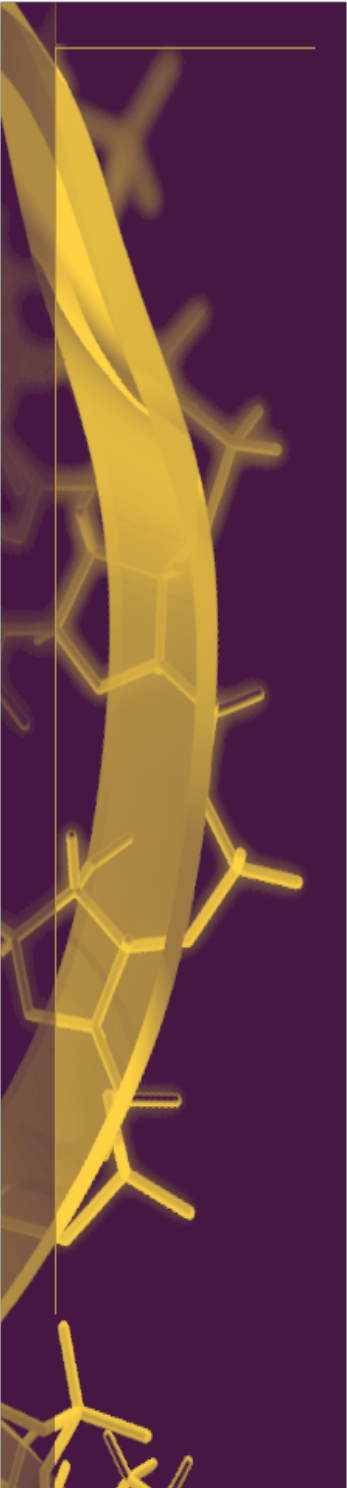
Factores de Riesgo Cáncer de Cuello Uterino.

- Múltiples compañeros sexuales presentes o pasados
- Edad temprana en la primera relación sexual
- Elevado número de partos
- Infección persistente con un VPH de alto riesgo (como VPH 16 o 18)
- Infección por VHS tipo II y otras ITSs (como marcadores de promiscuidad sexual)
- Uso de anticonceptivos orales

Pregunta de investigación.

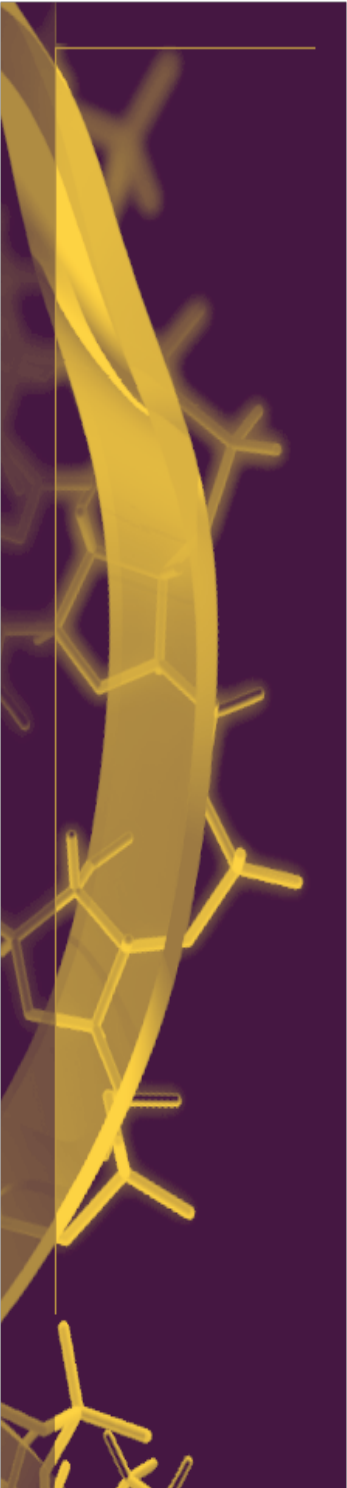


- ¿Es la concentración ADN libre en plasma un marcador molecular para el pronóstico de lesiones pre-neoplásicas de cuello uterino?
- ¿Existe una asociación entre la concentración de ADN libre y el serotipo de VPH?



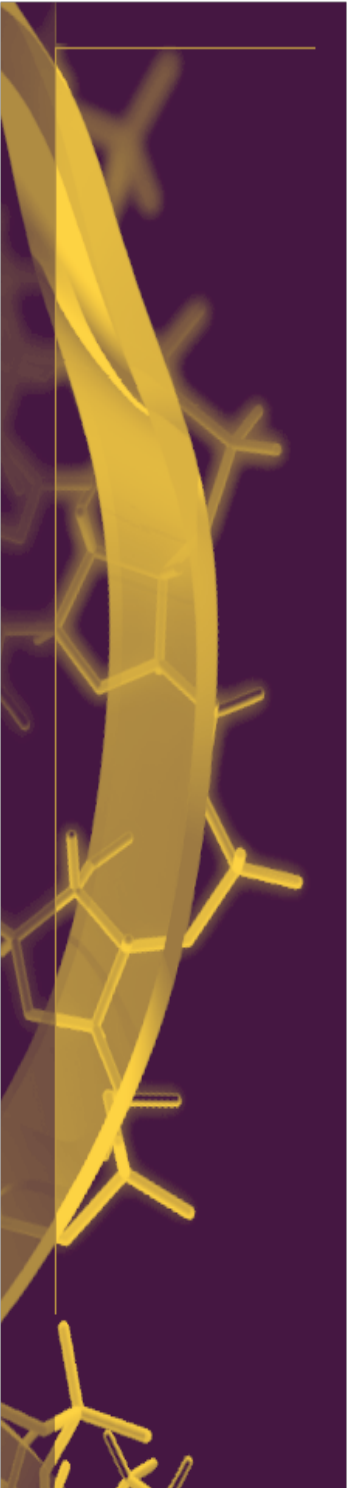
Propósito.

Dada la relevancia del cáncer de cuello uterino en nuestro país es importante apuntar hacia el desarrollo de programas rentables de prevención de cancer de cuello uterino apoyados de las nuevas tecnologías con el fin de superar las técnicas de prevención existentes es por ello que propósito del presente estudio apunta a proponer el ADN libre en plasma como marcador molecular pronóstico de lesiones precancerosas de cuello uterino.



OBJETIVO GENERAL.

Establecer la asociación entre la concentración de ADN libre y el grado de neoplasia cervical y evaluar su posible asociación con el serotipo de VPH en la población de mujeres del presente estudio.



Objetivos específicos.

- Establecer la asociación de la concentración de ADN libre medidos en plasma con las etapas progresivas del cáncer cervical.
- Determinar la asociación del tipo viral con la concentración de ADN libre.
- Determinar las asociaciones entre ADN libre plasmático y las características socio demográficas de las mujeres objetivo del estudio

METODOLOGÍA.

DISEÑO

TIPO DE ESTUDIO: Corte transversal de prevalencia analítica.



POBLACION DE ESTUDIO

Esta constituida por 92 mujeres que asistieron a procedimiento de colposcopia por alteraciones citológicas de cualquiera de las entidades participantes en el presente estudio (Clínica Teletón, Hospital de Engativa, Hospital San Ignacio, Hospital Militar y Javesalud).



MARCO MUESTRAL

No se realiza cálculo de tamaño de muestra por tratarse de un muestreo no probabilístico (M.N.P.) realizado por criterio de los investigadores se incluían de manera como iban llegando.

MARCO MUESTRAL

La muestra esta constituida por 92 mujeres con edades comprendidas entre los 18 y 60 años, de cualquier régimen, con lesiones preneoplasicas de cuello uterino determinadas por reporte citológico revisado por patólogo, con un tiempo de toma no mayor a 3 meses en el momento de ser incluida en el estudio.

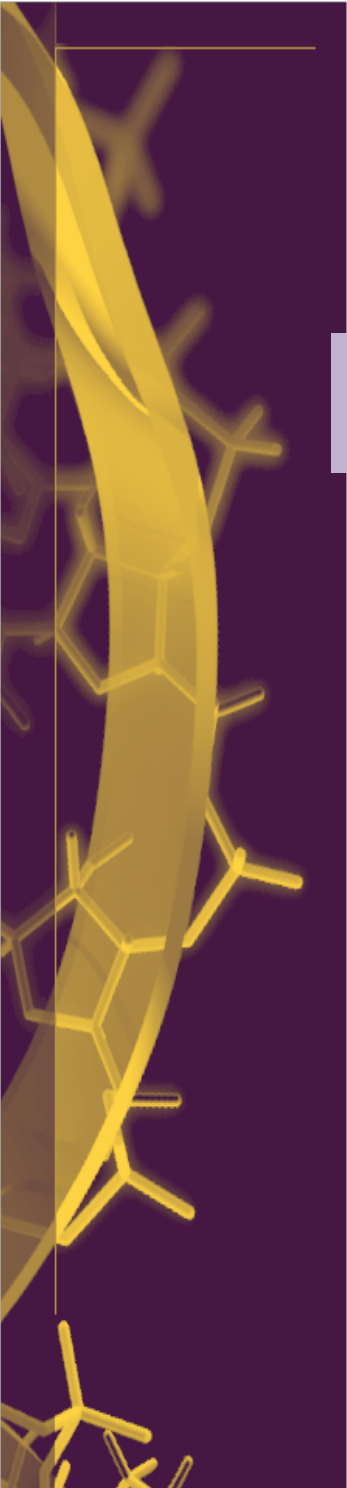


Las unidades en el marco muestral fueron seleccionadas de forma consecutiva, con registro alfa numérico ascendente con la siguientes codificación CO-001... CO-002 ... y así sucesivamente.



RECOLECCION DATOS

Los datos fueron obtenidos mediante fuentes primarias dadas por las pacientes, los reportes citológicos, colposcópicos, de biopsia y los análisis en laboratorio. Los cuales fueron tomados en la misma consulta.

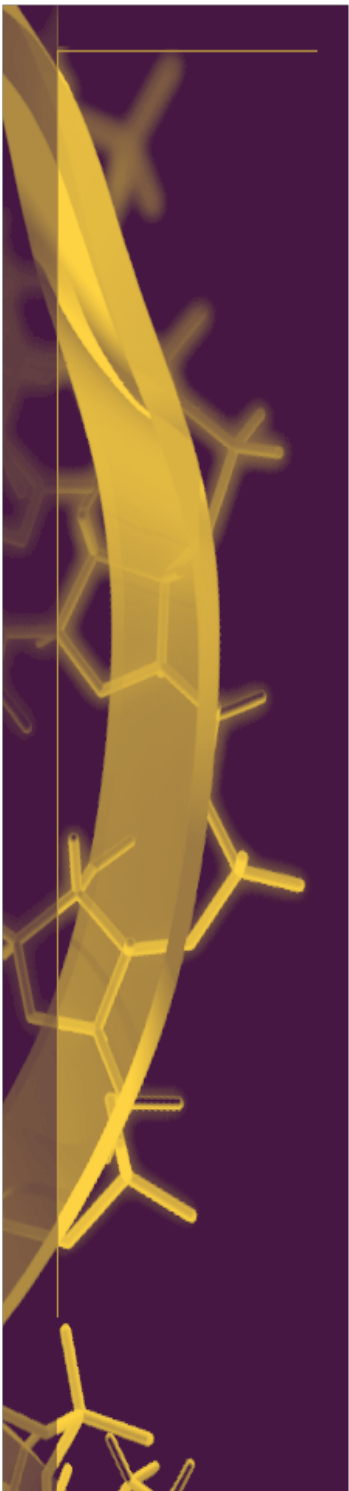


CRITERIOS DE INCLUSION

- Mujeres 18-60 años con lesión precancerosa de cuello uterino.
- Diagnóstico patológico confirmado
- Acepten participar en el estudio, el procedimiento de venopunción, la cuantificación de ADN, serotipificación de VPH y la evaluación de reportes de citología, colposcopia y biopsia

CRITERIOS DE EXCLUSION

- Tratamiento previo para cualquier tipo de lesión pre neoplasia de cuello uterino.
- Embarazo verificado durante consulta ginecológica.
- Diagnóstico de otro tipo de cáncer sin importar el tiempo de evolución
- Limitación mental



VARIABLES

Variable	Nombre	Indicador	Codificación/ Unidad de medida	Naturaleza y Nivel de medición
Grado de Lesión Preneoplásica.	Lesión preneoplásica	Lesión Intraepitelial de Alto grado.	LIEAG	
		Lesión Intraepitelial de Bajo grado	LIEBG	Cualitativa Ordinal.
		Sin Lesión Intraepitelial	SIN LIE	
Concentración de ADN	ADN Libre	Valor de concentración de ADN	ng/μl	Cuantitativa de razón.
Serotipo VPH. Son 45 variables	VPH	Presencia o ausencia de c7U de los 45 serotipos de VPH	1: presente 0: ausente	Nominal Dicotómica
Edad	Edad del paciente	Edad	Edad en años cumplidos	Cuantitativa Razón.
Estrato Socio Económico	Estrato socioeconómico de la vivienda del paciente	Estrato	1 a 6	Cualitativa ordinal

Variable	Nombre	Indicador	Codificación/ Unidad de medida	Naturaleza y Nivel de medición
Antecedentes Familiares	Antecedente de cáncer en la familia	Presencia o ausencia de Cáncer en familiares	1. Si 0 .No	Nominal Dicotómica
Edad de Inicio de actividad sexual.	Inicio sexual	Edad inicio de relaciones sexuales.	Edad en Años	Cuantitativa de razón.
Número compañeros sexuales	Nº de compañeros	Compañeros sexuales en la vida	1. 1 a 2 2. 3 a 4 3. 5 a 6 4. más de 7	Cualitativa ordinal
Uso de Anticonceptivos	Anticonceptivos	ACO's	1. Sí 0. No	Nominal Dicotómica
Número de Embarazos	Cantidad de embarazos	Embarazos	Número	Cuantitativa de razón.
Primiparidad	Edad al Primer parto	Edad en años del primer Parto	Edad en años	Cuantitativa de razón.

Variable	Nombre	Indicador	Codificación/ Unidad de medida	Naturaleza y Nivel de medición
Citologías Previas	Citologias Realizadas Anteriormente	Presencia o ausencia de citologias previas	1. Si 0.No	Nominal Dicotómica

Fuentes de información



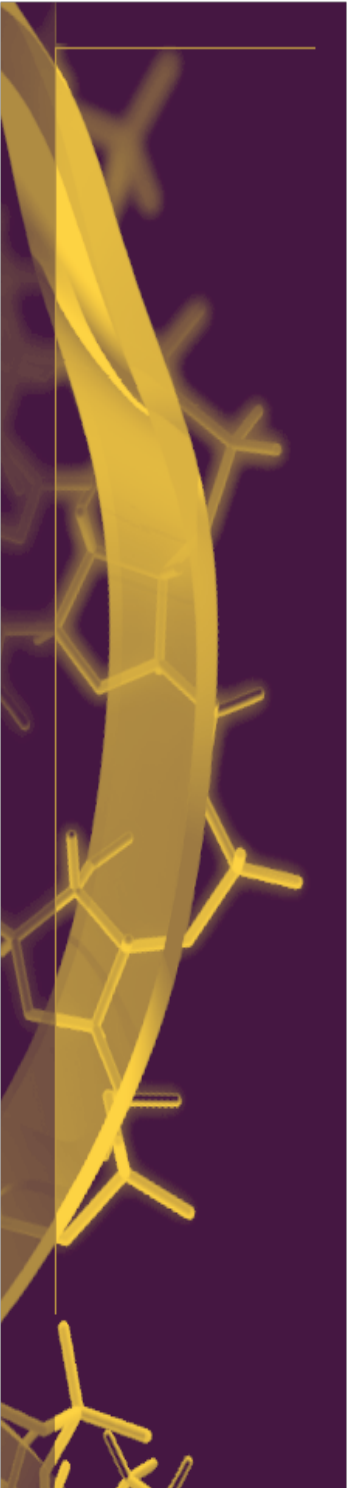
Historia
clínica

Encuesta

Resultado de
Biopsia.

Resultado
cuantificación
y tipificación.

La recolección de la información estuvo a cargo de Médicos ginecólogos y profesionales capacitados para la realización de las pruebas de laboratorio. Estas fuentes de información fueron tomadas en el mismo momento



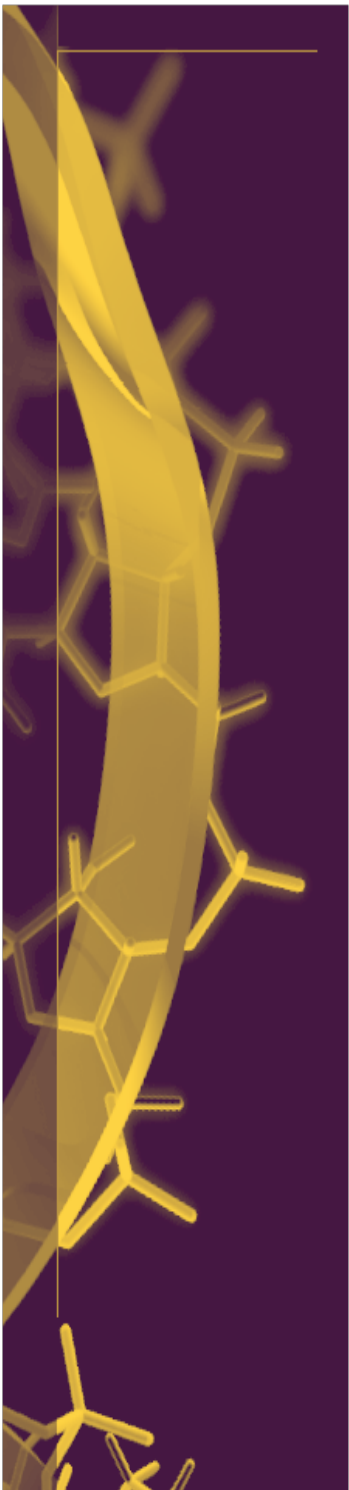
Calidad del dato y control de sesgos.

Sesgos de información: Encuesta diseñada y revisada por grupo de investigación.

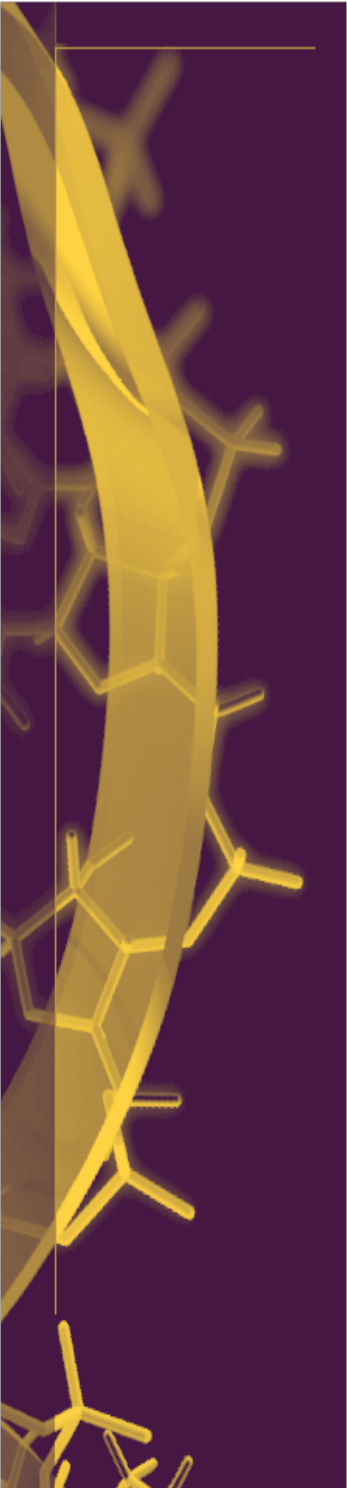
Capacitación de los responsables de la recolección y codificación de la información

las pruebas de laboratorio fueron realizadas en condiciones controladas, estandarizadas y siguiendo los protocolos establecidos con anterioridad desde el punto de vista preanalítico , analítico y post analítico.

Sesgo de selección: se controló con la selección de diferentes instituciones hospitalarias a las que acuden las pacientes para control cito - colposcópico.

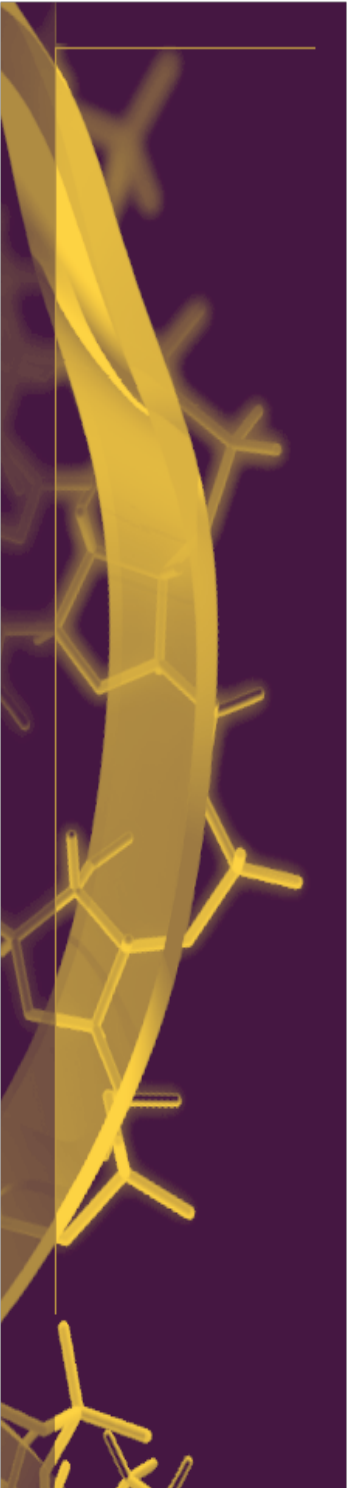


- **Sesgo de confusión:** En el estudio están incluidos aquellos factores que han sido identificados en la literatura como posibles factores de riesgo de desarrollo de cáncer de cuello uterino y factores asociados con el incremento de ADN libre.
 - **Embarazo**
 - **Enfermedades Autoinmunes**



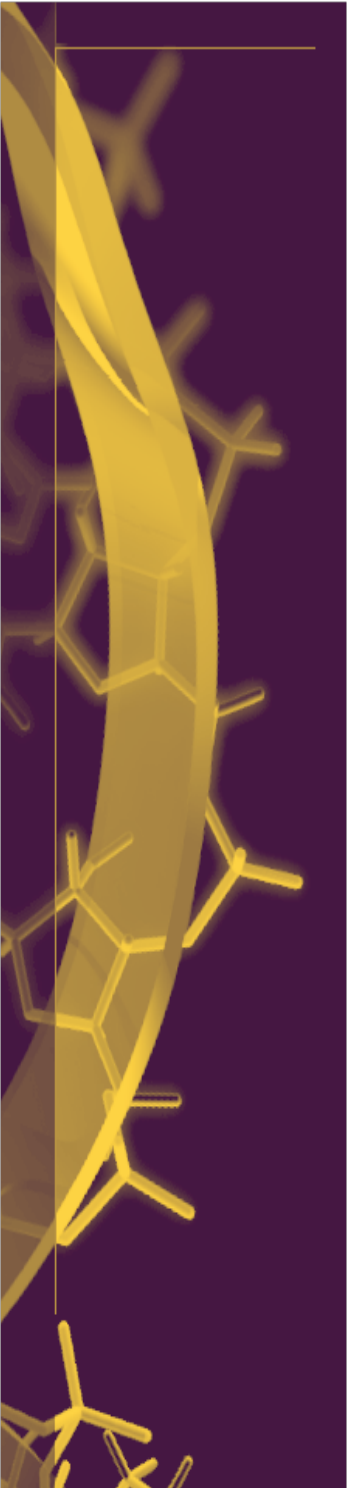
Plan de análisis.

- El análisis de los datos se realizó mediante el software SPSS 19.0.
- En primer lugar se realizó un análisis descriptivo de todas la variables socio demográficas, antecedentes clínicos y ginecobstétricos.
- Para determinar si existen diferencias significativas en la concentración de ADN libre por grado de neoplasia cervical se probaron los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas por medio de una prueba de Shapiro Wilk y una prueba de Bartlet, y para establecer si existen diferencias se realizó una prueba no paramétrica de analisis de varianza Kruskal Wallis, se utilizó un valor de $p=0,05$, todas estas pruebas se corrieron mediante el software SPSS.



Plan de análisis.

- Para explorar la posible la asociación de las variables sociodemográficas con la concentración de ADN libre e realizaron en primer lugar pruebas de normalidad y homogeneidad de varianza, pero partiendo del hecho que esta no se cumplía se realizaron pruebas de Mann Withnney y Kruskal Wallis según la variable, esto se realizó en el software SPSS Vr. 19.
- Para establecer la posible asociación entre en el serotipo de VPH y la concentración de ADN libre por grado de neoplasia cervical se realizó una prueba de Mann Withnney mediante el software SPSS Vr. 19.



Aspectos éticos

Investigación con riesgo mínimo, de acuerdo con lo establecido en el artículo 11 de la Resolución número 008430 de 1993³⁴ (“normas científicas, técnicas, y administrativas para la investigación en salud”) de la República de Colombia expedida por el Ministerio de Salud y tal como dicta en el Título II, capítulo 1, artículo 11.

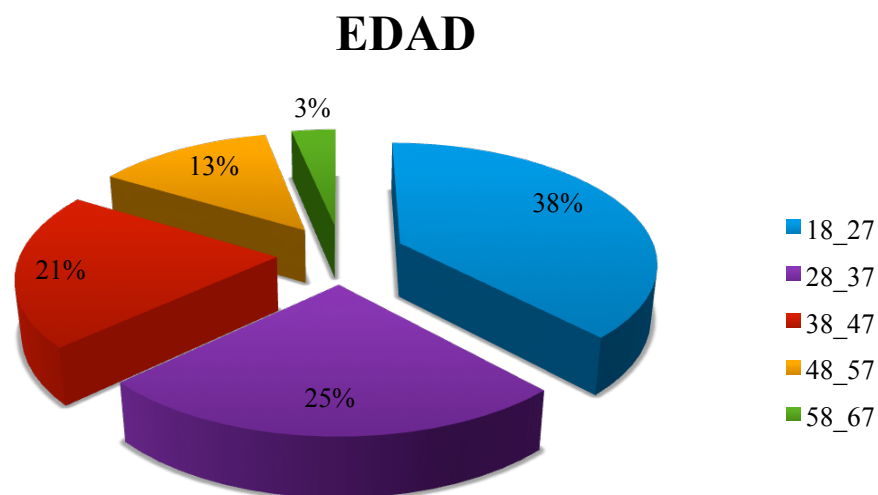
El estudio sigue los lineamientos jurídicos y éticos del país y también aquellos contemplados en la última modificación (59ª Asamblea General, Seúl, Corea, octubre 2008)³⁵ de la declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial (“principios éticos para la investigación que involucra sujetos humanos”).

Estudio aprobado en los Comités de Ética en Investigación de la Universidad de la Sabana y la Universidad Nacional.

Resultados.



Descripción de la población.



PROMEDIO: 34

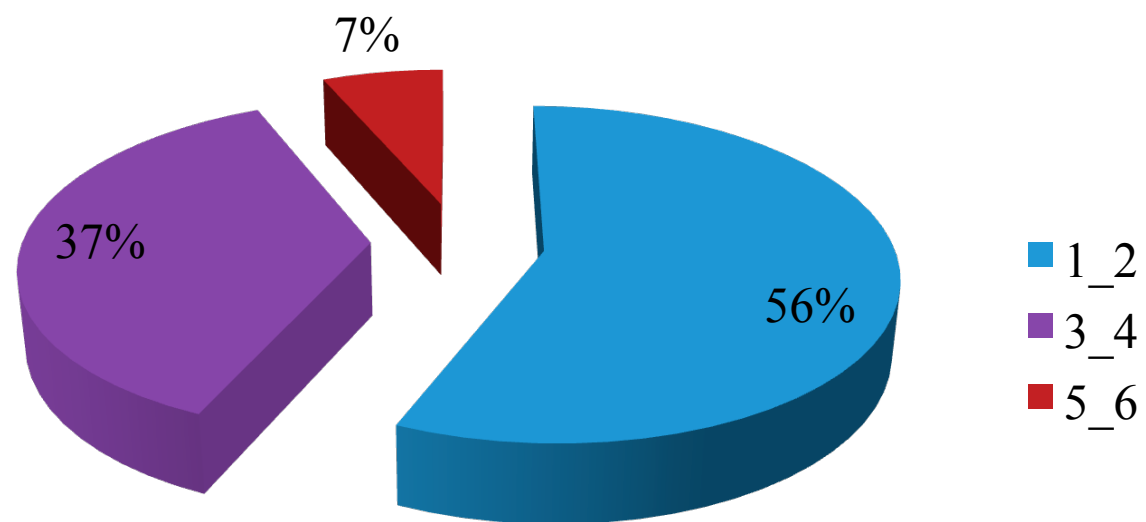
años

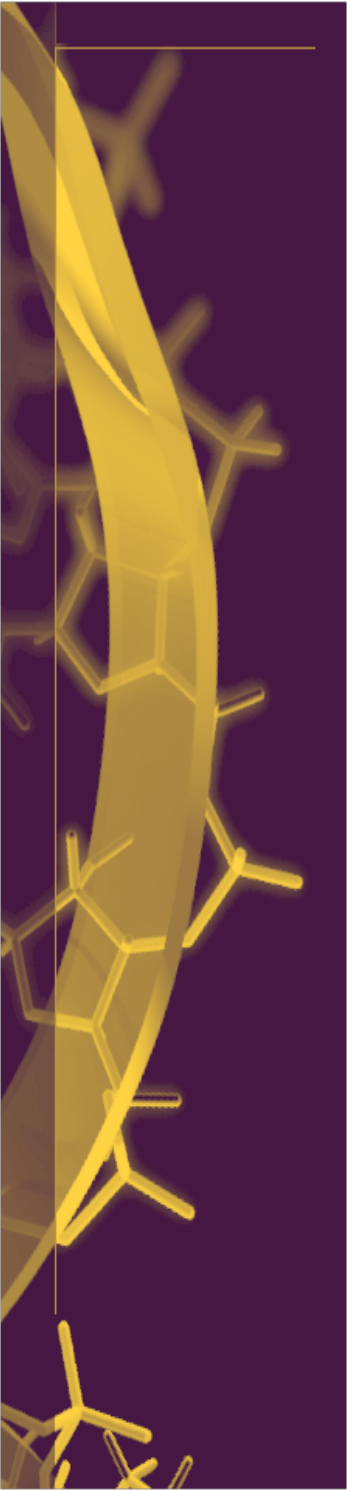
s: 11 años

MAX: 61 años

MIN: 18 años

ESTRATO





ANTECEDENTES CLINICOS.

Antecedentes familiar con cáncer	
SI	28%
NO	72%
Medicación 15 últimos días	
SI	23%
NO	77%
Anticonceptivos	
SI	52%
NO	48%
ETS	
SI	7%
NO	93%

Todas estas variables fueron tomadas de lo que las pacientes declararon durante la encuesta.

ANTECEDENTES GINECOOBSTETRICOS

NUMERO	EMBARAZOS	ABORTOS	HIJOS
0	12	(76%)70	14
1	18	17	20
2	(25%)23	3	(33%)30
3	(25%)23	2	20
4	10	0	4
5	3	0	3
6	1	0	0
7	0	0	0
8	2	0	1

PRIMER PARTO
PROMEDIO:17 AÑOS
δ: 8 AÑOS

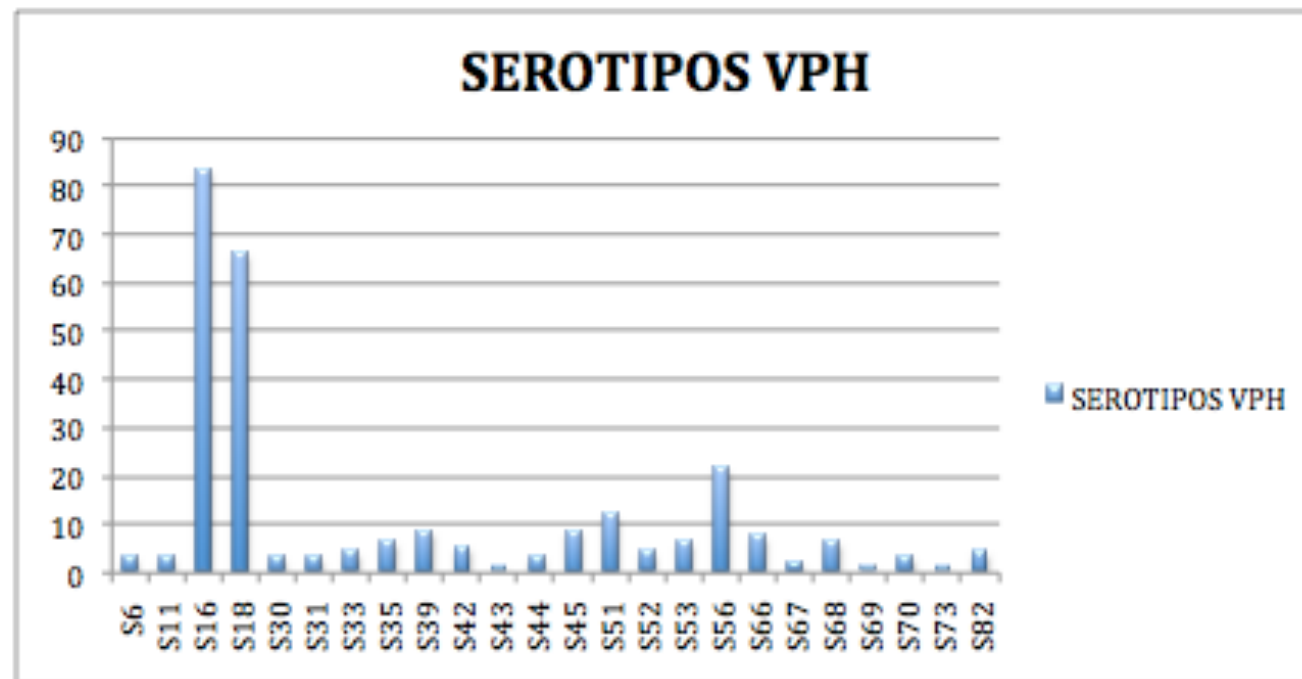
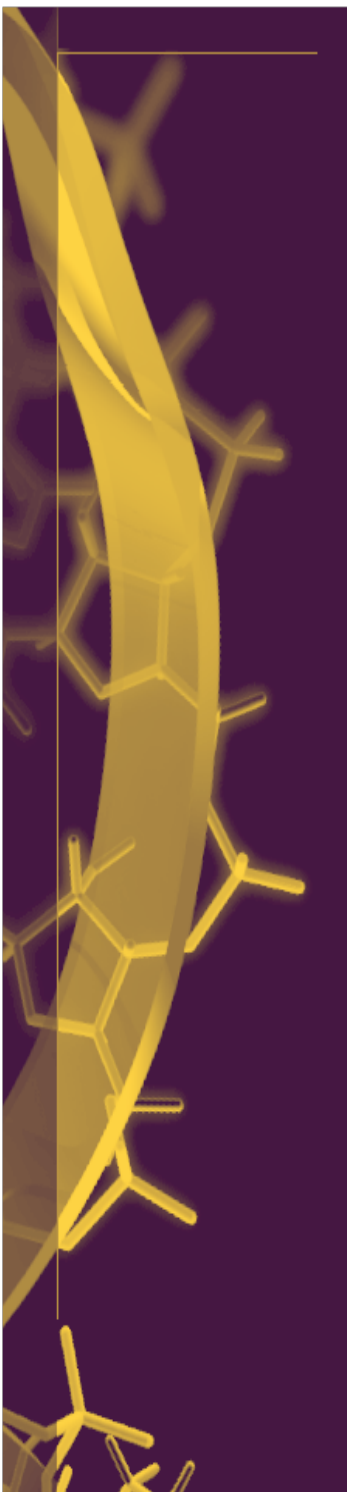
83% manifiestan no haber
presentado
Infección vaginal

Diagnóstico citológico, colposcópico e histopatológico.

RESULTADO	CITOLOGÍA
NEGATIVA	0
ASC-US	21
LIEBG	54
LIEAG	17
TOTAL	92

RESULTADO	COLPOSCOPIA
NEGATIVA	18
ASC-US	0
LIEBG	54
LIEAG	20
TOTAL	92

RESULTADO	BIOPSIA
NEGATIVA	28
ASC-US	0
LIEBG	38
LIEAG	26
TOTAL	92



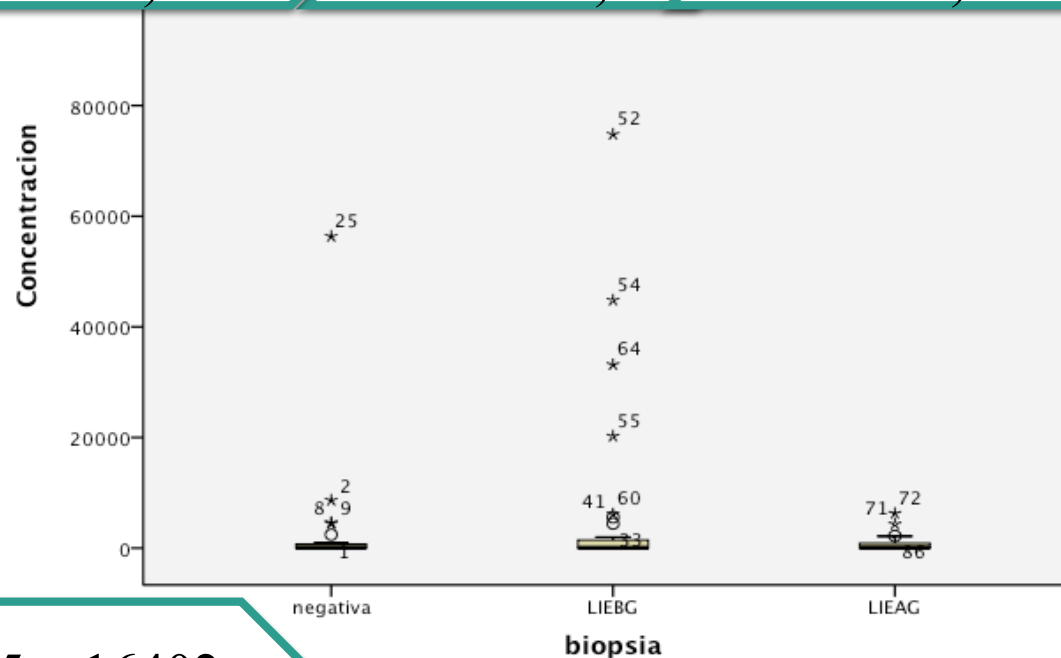
Se puede observar en el grafico de barras que dentro de la población de estudio los serotipos 16, 18 y 56 son los que se presentan con mayor frecuencia.

CONCENTRACIÓN DE ADN LIBRE Y SU ASOCIACIÓN CON ETAPAS PRECANCEROSAS DE CUELLO UTERINO

7024.7 ±
24107.5 ng/
μl (media ±
DS)

5188.7 ±
14876.5 ng/
μl (media ±
DS)

830.3 ±
1515.508 ng/
μl (media ±
DS)



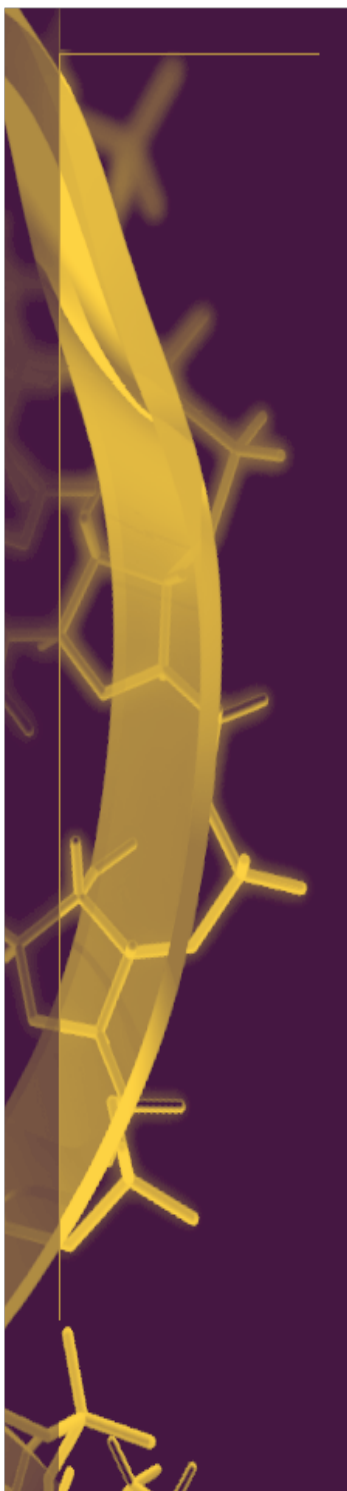
4515 ± 16402
ng/ μl (media
± DS)

(p;0.99, gl;2 alfa 0.05)

EXPLORACIÓN DE LA ASOCIACIÓN DEL SEROTIPO VIRAL Y LA CONCENTRACIÓN DE ADN LIBRE

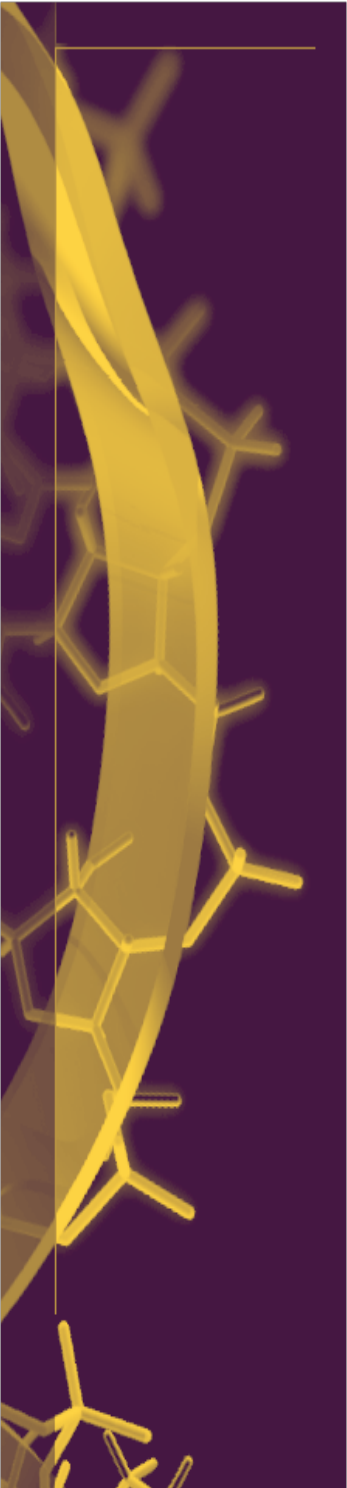
SEROTIPO		M	χ	δ	MAX	MIN	NORMALIDAD	MAN WITHNEY
6	NO	50	4548.7	16672.2	117373	0	0.000	0.219
	SI	4347	3541	3210.7	6272	4	0.581*	
11	NO	50	4579.9	16671	117373	0	0.000	0.160
	SI	2210	2615.6	2801.6	5598	39	0.769*	
16	NO	287	13147.4	32174.5	117373	0	0.000	0.235
	SI	41	2834.4	10672.2	74803	0	0.000	
18	NO	287	6021.13	16551.1	74803	0	0.000	0.083
	SI	33	3750.95	16411.4	117373	0	0.000	
30	NO	50	4639.92	16664.6	117373	0	0.000	0.799
	SI	72	836.67	1386.3	2437	1	0.049	
31	NO	50	4642.3	16664.3	117373	0	0.000	0.650
	SI	83	766	1251.1	2210	5	0.060*	
33	NO	68.5	4713.3	16748.6	117373	0	0.000	0.165
	SI	0.50	173	345.3	691	0	0.001	
35	NO	40.5	3684	15659.7	117373	0	0.000	0.090
	SI	4527	16434.1	23358.7	56338	0	0.042	
39	NO	57.5	4221.6	16162.5	117373	0	0.000	0.895
	SI	454	7606.0	19707.6	56338	0	0.000	
42	NO	72	4772.5	16836.7	117373	0	0.000	0.103
	SI	0	50.4	81.384	187	0	0.024	
43	NO	65	4565	16487	117373	0	0.000	0.924
	SI	-	-	-	-	-	-	
44	NO	50	4149.08	16103	117373	0	0.000	0.493
	SI	1392	15398.3	25474.6	44803	0	0.052	
45	NO	57.5	4026.17	15288.7	117373	0	0.000	0.812
	SI	225.5	9658.1	26326.9	74803	0	0.000	
51	NO	40	2644.23	10541.6	74703	0	0.000	0.059
	SI	345	18298.1	36360.5	117373	0	0.000	
52	NO	68.5	4669.4	16753.4	117373	0	0.000	0.877
	SI	19	1578.7	3128.8	6272	5	0.001	
53	NO	57.5	4749.3	16936.6	117373	0	0.000	0.861
	SI	89.5	1169.8	2453.5	6149	0	0.000	

* variables que presentaron normalidad



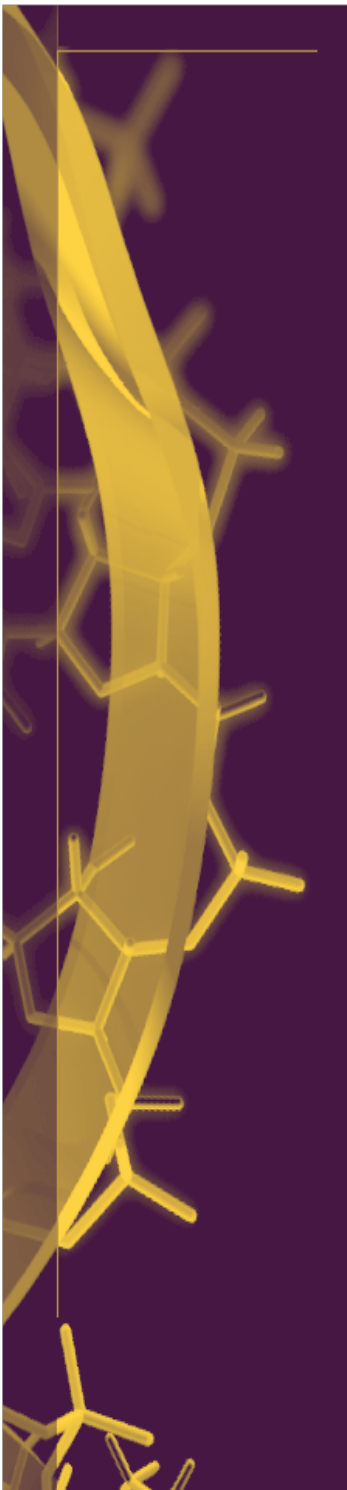
56	NO	68.5	3999.6	12664.9	74803	0	0.000	0.731
	SI	40.5	6374.3	26165	117373	0	0.000	
58	NO	65	4866.12	17227.6	117373	0	0.000	0.796
	SI	11	1286.11	2327.1	6149	0	0.000	
59	NO	68.5	4705.3	16750.4	117373	0	0.000	0.210
	SI	1	348.5	695.6	1392	0	0.001	
66	NO	72	4834.7	17027.5	117373	0	0.000	0.130
	SI	1	644.4	1633.7	4347	0	0.000	
67	NO	68.5	4616	16572.1	117373	0	0.000	0.059
	SI	-	-	-	-	-	-	
68	NO	40	4774.9	16940	117373	0	0.000	0.161
	SI	550.5	802.5	869.6	2210	40	0.000	
69	NO	50	4558.7	16488.6	117373	0	0.000	0.483
	SI	-	-	-	-	-	-	
70	NO	65	4652.4	16662.4	117373	0	0.000	0.550
	SI	4	465.3	802.5	1392	0	0.005	
73	NO	50	4517.7	16493.8	117373	0	0.000	0.218
	SI	-	-	-	-	-	-	
82	NO	77.5	4720.6	16746.7	117373	0	0.000	0.101
	SI	2.5	11.25	19.311	40	0	0.018	

* Corresponde a las variables que presentaron normalidad pero que al ser cruzadas con una variable que no presento normalidad se realiza prueba no parametrica



EXPLORACIÓN DE VARIABLES SOCIODEMOGRÁFICAS CON LA CONCENTRACIÓN DE ADN

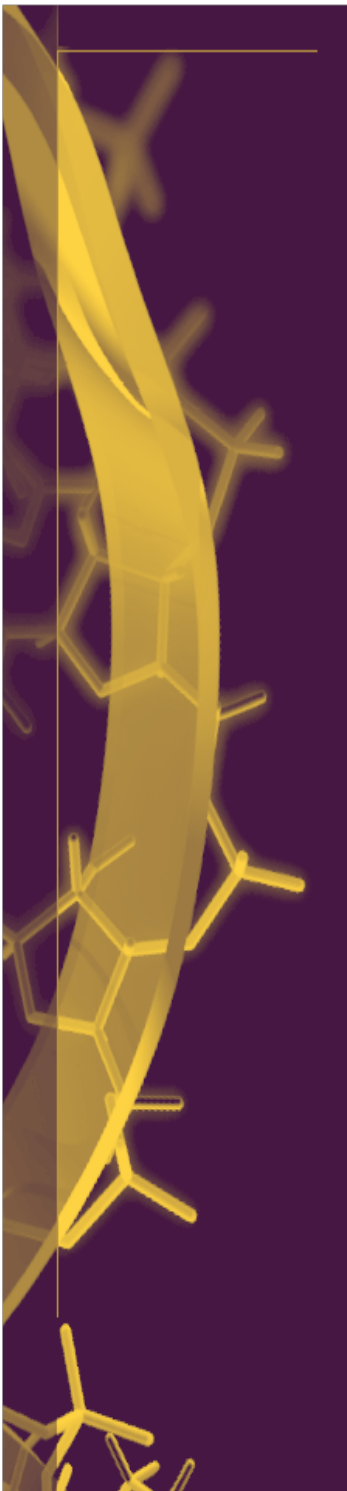
CONCENTRACIÓN DE ADN ng/μl			
Grupo de edad	Mediana	Normalidad	Kruskal Wallis
18-27	224	0.000	0.031
28-37	5	0.000	
38-47	160	0.000	
48-57	74	0.000	
58-67	1	0.000	



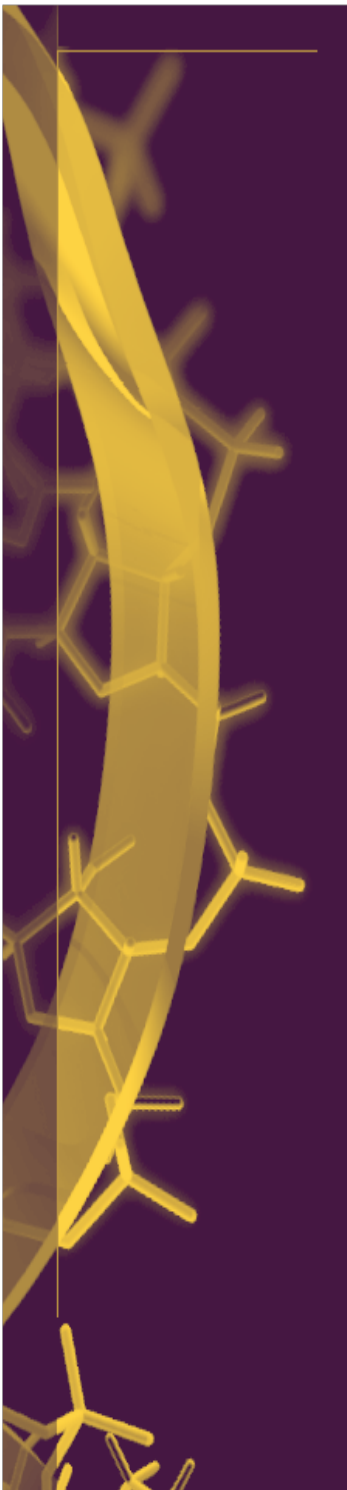
CONCENTRACIÓN DE ADN ng/μl			
Estrato	Mediana	Normalidad	Kruskal Wallis
1_2	68.5	0.000	0.261
3_4	40.0	0.000	
5_6	5309.5	0.000	

Antecedentes			
Familiar con	CONCENTRACIÓN DE ADN ng/μl		
cáncer	Mediana	Normalidad	Mann Withnney
SI	77.5	0.000	0.979
NO	26.5	0.000	

CONCENTRACIÓN DE ADN ng/μl			
Medicamentos	Mediana	Normalidad	Mann Withnney
SI	26.5	0.000	0.929
NO	77.5	0.000	



CONCENTRACIÓN DE ADN ng/μl			
Nº compañeros	Mediana	Normalidad	Kruskal Wallis
1_2	33.0	0.000	0.087
3_4	95.0	0.000	
5_6	1392.0	0.000	
mas 7	28543.5	0.173	



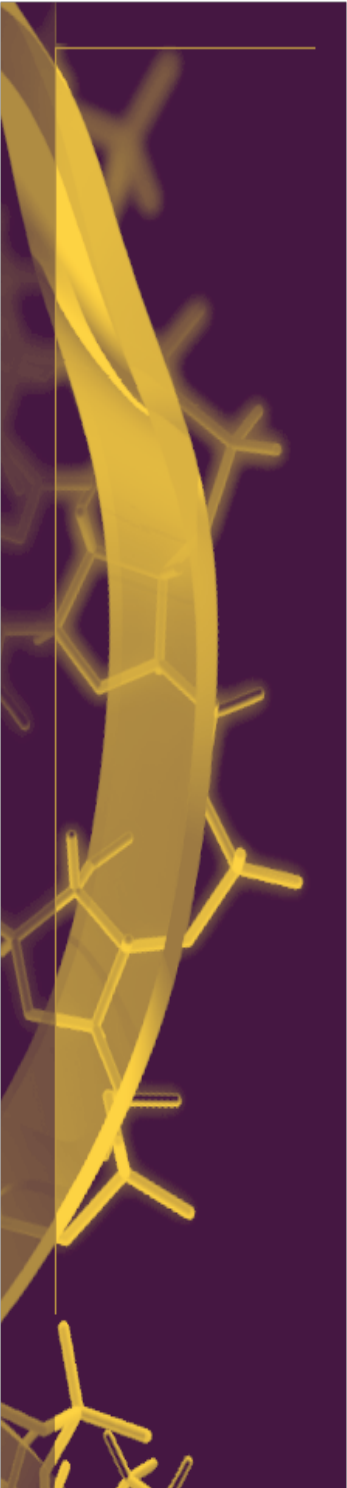
CONCENTRACIÓN DE ADN ng/μl			
Anticonceptivos	Mediana	Normalidad	Mann Withnney
SI	66.5	0.000	0.603
NO	52.5	0.000	

CONCENTRACIÓN DE ADN ng/μl			
ETS	Mediana	Normalidad	Mann Withnney
SI	9.5	0.021	0.339
NO	74	0.000	

Infección	CONCENTRACIÓN DE ADN ng/μl		
Vagina	Mediana	Normalidad	Mann Withnney
SI	6	0.000	0.151
NO	87	0.000	

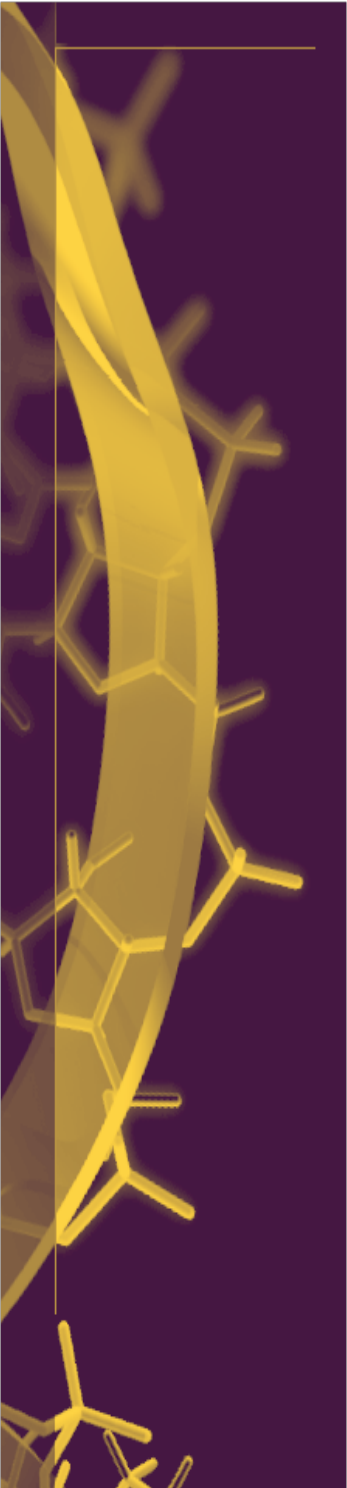
Tabla de contingencia biopsia * Compañeros						
Recuento						
		Compañeros				Total
		1a2	3a4	5a6	mas7	
biopsia	negativa	15	10	2	1	28
	LIEBG	22	10	4	2	38
	LIEAG	14	8	3	1	26
Total		51	28	9	4	92

Se observa que a mayor numero de compañeros sexuales menor es el grado de lesion.



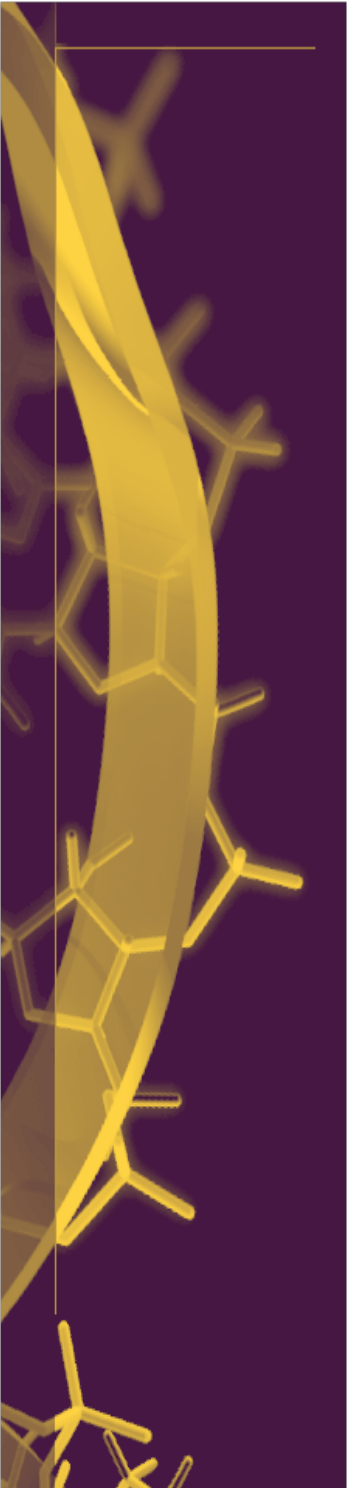
Discusión.

El comportamiento de la variable número de compañeros sexuales con la concentración de ADN libre se evidencia que esta última presenta un comportamiento exponencial, sin embargo no hay ningún reporte en la literatura que sustente esto, pero si es importante tener en cuenta esta variable para futuros estudios que quieran evaluar la concentración de ADN libre ya no en lesiones precancerosas sino en cáncer de cuello uterino, puesto que esta puede ser una variable de confusión.



Discusión.

Otro aspecto importante a resaltar es la asociación de la concentración de ADN libre con el grupo etéreo, XiaoYan Zhong y colaboradores encontraron que la concentración de ADN libre de mujeres y hombres mayores de 60 años, era más alta que en los otros grupos etéreos¹⁶ sin embargo en este estudio el grupo que presentó mayor concentración fue el de 18 a 24 años de lo que no existe algún reporte en la literatura.

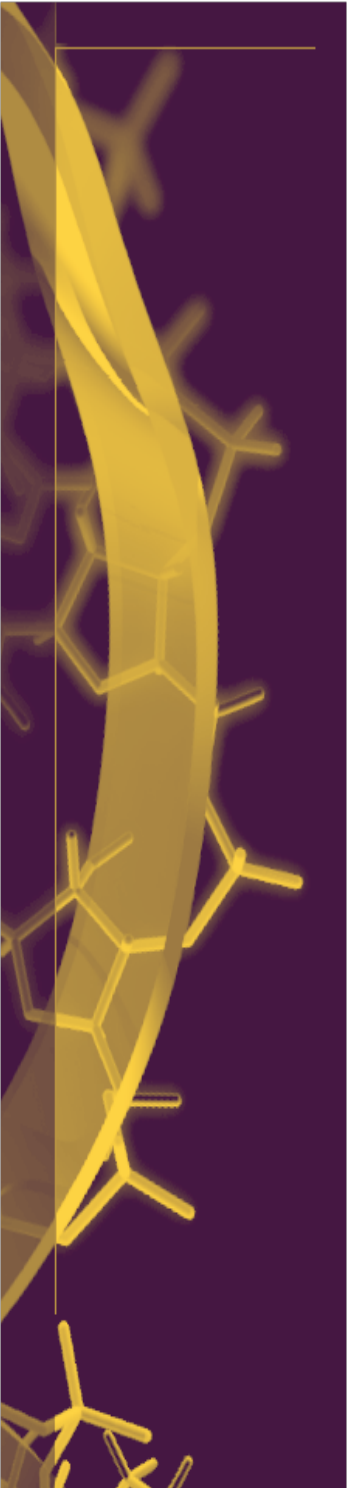


Discusión.

Magnusson y colaboradores en el 2000, reportaron que la predisposición genética representa el 27% del efecto de los factores subyacentes para el desarrollo del tumor de cuello uterino.

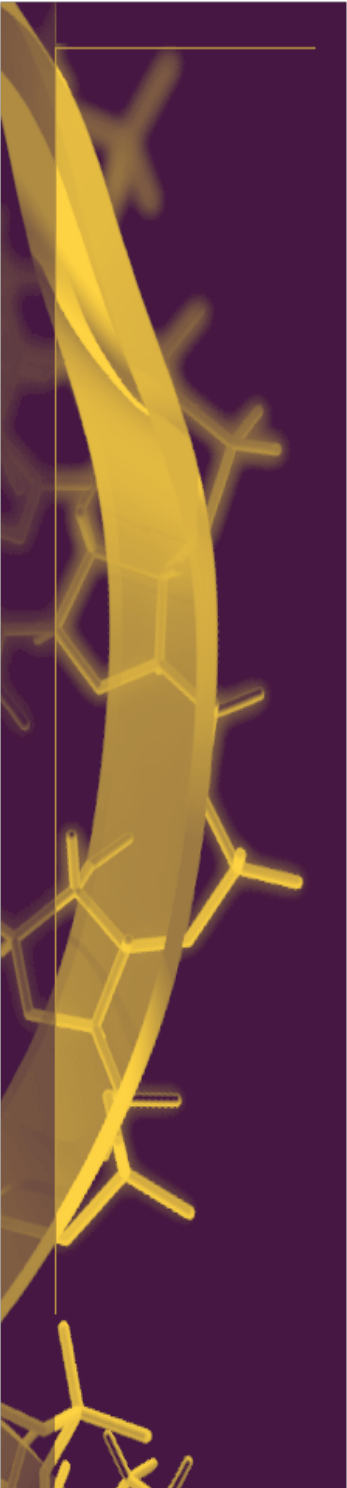
La herencia afecta la susceptibilidad a la infección por VPH, la capacidad para resolverla y el tiempo de desarrollo de la enfermedad.³⁸

Por consiguiente en este estudio evaluó si la concentración de ADN libre se encontraba asociada a el factor hereditario pero no se encontró una relación del factor hereditario con la concentración de ADN libre.



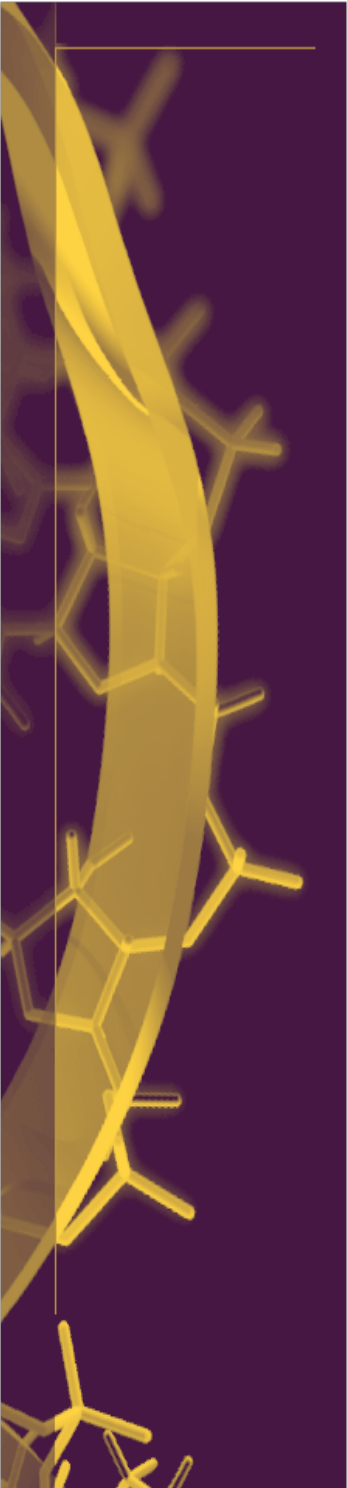
Discusión.

Los serotipos de VPH que se encontraron con mayor frecuencia en el presente estudio fueron el 16, 18 y 56 los cuales corresponden con lo reportado por Molano y colaboradores quienes reportaron en 2005 que los tipos de alto riesgo más comunes encontrados en su estudio fueron el VPH16 (16,3%), 58 (6,2%), 56 (3,6%), 18 (0,3%) y 51 (2,9%).



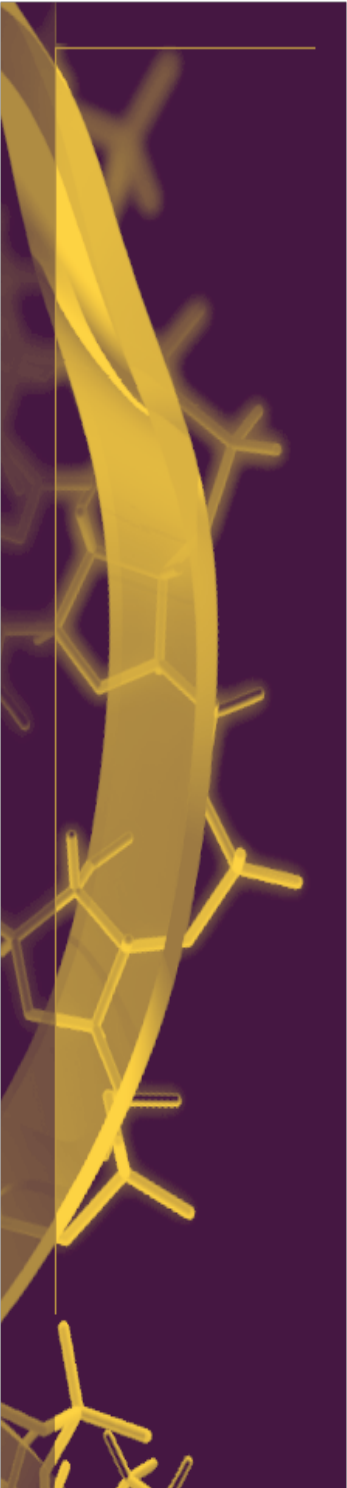
Discusión.

En el reporte presentado por Molano y colaboradores que la edad y el número de compañeros sexuales fueron los principales determinantes de la incidencia de infección por VPH, en el presente estudio estos fueron los que presentaron asociación con la concentración de ADN libre, lo cual nos permite inferir que es posible que la concentración de ADN libre puede estar relacionada con la infección por VPH y estas variables son una relación indirecta de ello.



Conclusiones.

- La concentración absoluta de ADN libre en plasma en este estudio no tiene un valor predictivo para diferenciar los tipos de lesión pre-neoplásica de cuello uterino.
- Los serotipos de VPH no presentan ninguna asociación con la concentración de ADN libre en plasma en pacientes con lesiones pre cancerosas de cuello uterino



RECOMENDACIONES

- Determinar el rango normal de ADN libre en plasma de individuos sanos en la población Bogotana.
- Realizar un estudio con un n muestral más grande incluyendo pacientes con citología normal, Cáncer cervical.
- Establecer si hay una asociación entre la concentración de ADN libre y la incidencia de infección por VPH



GRACIAS.