

“Hallazgos Citológicos de Muestras Cervicales y su Relación con los tipos moleculares del virus del Papiloma Humano”

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE NICARAGUA
UNAN- LEON
FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS
DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA



HALLAZGOS CITOLOGICOS DE MUESTRAS CERVICALES EN UNA POBLACIÓN DE MUJERES Y SU RELACIÓN CON LOS TIPOS MOLECULARES DEL VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO (VPH) EN LA CIUDAD DE LEON, NICARAGUA, DURANTE EL PERÍODO DE ABRIL 2009 – ABRIL 2010.

AUTOR: Dra. Liliet Pacheco Chévez.

Médico y Cirujano

Residente de Patología

Tutores: Dra. Emérita Berrios.

Profesor Titular Departamento Patología.

Dr. Félix Espinoza.

Profesor Titular Departamento Microbiología.

León, Nicaragua Marzo 2012.

Resumen.

En la actualidad a pesar de contar con métodos de diagnósticos que ayudan a detectar de forma temprana el cáncer cervical este sigue siendo un problema de salud pública significativo en América Latina y el Caribe. El Virus del Papiloma Humano es el agente causal primario del cáncer cervical, encontrándose que en el 95 % de los casos, como una infección previa, esta a su vez es la infección de transmisión sexual más frecuente. El objetivo de este trabajo fue determinar las diferentes alteraciones cervicovaginales mediante citología y relacionarlas con los diferentes genotipos del Virus del Papiloma Humano. Se estudiaron 457 mujeres del municipio de León en el período comprendido Abril 2009- Abril 2010 a las que se les tomaron muestras cervicales para evaluación citológica y la determinación de Virus de Papiloma Humano mediante técnicas de Reacción en Cadena de la Polimerasa e Hibridización. Se encontró que la frecuencia de infección por diferentes tipos de VPH en las participantes fue de 26%, esta se presento en edades tempranas, el 67% ocurrió en menores de 39 años. Se identificaron 24 tipos diferentes de VPH dentro de los tipos de alto riesgo que se identificaron con mayor frecuencia fueron: 16, 31, 33, 52, 51. El genotipo de VPH que se encontro con mayor frecuencia fue el tipo 16 con 11.4%, seguido del 31 y el 52 con un 9%. Se encontraron infecciones mixtas por dos o mas tipos de virus del papiloma humano en un 20.8% de los casos. Los hallazgos citológicos encontrados con mayor frecuencia fueron las Atipia de células escamosas y las lesiones bajo grado en las cuales se encontro una mayor proporción de asociación con virus de papiloma humano de alto riesgo.

“Hallazgos Citológicos de Muestras Cervicales y su Relación con los tipos moleculares del virus del Papiloma Humano”

GLOSARIO DE TERMINOS

ADN: Acido Desoxiribonucleasa.

AR: Alto Riesgo

ASCUS: Atipia de células escamosas de origen indeterminado.

BR: Bajo Riesgo

E: Temprana

ETS: Enfermedad de Transmisión Sexual.

FDA: Agencia de control de Drogas y Alimentos

HEODRA: Hospital Escuela Dr. Oscar Danilo Rosales Argüello.

L: Tardía

LIE: Lesión Intraepitelial.

LIEAG: Lesión Intraepitelial de Alto Grado.

LIEBG: Lesión Intraepitelial de Bajo Grado

NC: No Codificante

NIC: Neoplasia Intraepitelial Cervical.

OMS: Organización Mundial de la Salud

PAP: Papanicolaou.

VIH: Virus de Inmunodeficiencia Humana

VPH: Virus del Papiloma Humano.

INDICE

Índice.....	1
Introducción.....	2
Antecedentes.....	4
Justificación.....	6
Planteamiento del problema.....	7
Objetivos.....	8
Marco Teórico.....	9
Diseño Metodológico.....	22
Operacionalización de Variables.....	25
Resultados.....	28
Discusión de Resultados.....	37
Conclusiones.....	41
Recomendaciones.....	42
Referencias Bibliográficas.....	43
Anexos.....	48

INTRODUCCIÓN

“Hallazgos Citológicos de Muestras Cervicales y su Relación con los tipos moleculares del virus del Papiloma Humano”

En la actualidad a pesar de contar con métodos de diagnósticos que ayudan a detectar de forma temprana el cáncer cervical este sigue siendo un problema de salud pública significativo en América Latina y el Caribe, esta enfermedad mata alrededor de 200.000 mujeres cada año^{1,2}. A nivel mundial, el cáncer cervical tiende a afectar desproporcionadamente a las mujeres de bajo recursos la mayoría en países en vías de desarrollo. Se ha estimado que solamente un 5 por ciento de mujeres en estos países se han examinado adecuadamente para detectar displasia cervical a diferencia mujeres en países desarrollados donde esta cifra alcanza un 40 a 50 por ciento^{1,2}.

La población de mujeres de edad avanzada crece rápidamente en América Latina lo que significa un riesgo mayor de padecer cáncer cervical si estas no son examinadas adecuadamente³.

De acuerdo a la estadísticas de la Organización Mundial de la Salud (OMS). América Central reporta uno de los índices más altos de muerte por cáncer cervical en el mundo³. Nicaragua tiene la tasa más alta en América Central (61.1 por 100,000 habitantes) y la segunda más alta en América latina, solo superado por Haití. Los demás países de Centro América no son la excepción, Honduras registra 37/100.000 casos de cáncer cervical a nivel hospitalario. En Guatemala, el cáncer cervical representa el 40% de todos los cánceres en ambos sexos y el 60% de todos los tipos de cáncer en mujeres^{5,6}. En Panamá, 31.2 por 100.000 habitantes de nuevos casos de cáncer cervical fueron reportados en el año 2000⁴. En todos estos países, el cáncer cervical es la principal causa de muerte en mujeres en edades de 30-60 años de edad³.

El Virus del Papiloma Humano (VPH) es el agente causal primario del cáncer cervical y otros factores de riesgo comúnmente aceptados, incluyendo: historia de Enfermedad de Transmisión Sexual (ETS) historia de múltiples compañeros sexuales, uso de anticonceptivos, uso de drogas etc^{7,8}. El VPH infecta la célula del cérvix y causa lentamente los cambios celulares (displasia) que pueden dar lugar a un cáncer. Estos cambios celulares pueden ser relativamente lentos y en su gran mayoría tienden a involucionar, pero la infección puede provocar cambios

“Hallazgos Citológicos de Muestras Cervicales y su Relación con los tipos moleculares del virus del Papiloma Humano”

celulares más profundos pueden provocar lesiones más graves denominadas displasias severas que pueden progresar a cáncer. La etapa in situ del cáncer cervical puede ser tratada, esta puede progresar a enfermedad invasora, la enfermedad puede tomar hasta 20 años después de la infección de VPH para convertirse finalmente en lo que conocemos como cáncer cervical invasivo^{7,8}.

En los países desarrollados se logra curar el 80% de los casos de cáncer cervical que se detectan, pero en los países en desarrollo el 80% de los casos son ya incurables en el momento de su detección. Este es el enorme problema de los países en desarrollo, que ha obligado a muchos gobiernos a declarar el Cáncer Cervical como un problema prioritario de salud pública³.

Los estudios virológicos han demostrado que cerca del 70% de casos de cáncer cervical están relacionados con infecciones de VPH 16 y VPH18 llamados virus de alto riesgo (AR). Un 15% se relaciona con otros tipos (VPH 6, 11) llamados de Bajo Riesgo (BR). Para prevenir el cáncer cervical, se hace necesaria la implementación de programas de detección temprana de la infección por VPH y la aplicación de vacunas ya comercializadas contra el VPH³.

Pretendemos relacionar los hallazgos citológicos y el VPH detectado a través de la caracterización de los diferentes genotipos por medio de PCR e Hibridización.⁹

10

ANTECEDENTES

A nivel mundial se han realizado un sin número de trabajos sobre el virus de papiloma humano y su relación con el cáncer cervicouterino, sin embargo los expertos consideran que nunca es suficiente lo que se estudie sobre este tema.

La historia sobre la patología cervical podemos dividirlas en dos grandes períodos¹¹: El período en el cual el diagnóstico de la patología cervical se basaba en tres pilares fundamentales: la citología como método de rastreo, la colposcopia como instrumento que dirige la biopsia y la Anatomía Patológica como diagnóstico definitivo.

La gran difusión de esta metodología de detección y el aumento de los centros dedicados al diagnóstico de la patología preneoplásica del cuello uterino, trajo como consecuencia la disminución del carcinoma invasor, fundamentalmente en los países occidentales donde se logró disminuir los índices de mortalidad por carcinoma invasor a un tercio de lo que eran hace 50 años. Pese a esta disminución, existen países como el nuestro donde el cáncer de cuello uterino representa actualmente más de la mitad de todos los carcinomas de la mujer³.

El segundo período, inicia a principios de los años 80 con la aparición de infecciones del virus del Herpes Simple y el Virus del Papiloma Humano (VPH) como infecciones pre-oncogénicas de relevancia. Ya en este período a la metodología exploratoria clásica se le agregan los estudios de inmunohistoquímica y tipificación viral.

En 1976 Zur Hausen en Europa, por primera vez sugirió una asociación entre el virus de VPH y los carcinomas ano genitales¹¹.

En México González Loza y col realizaron un estudio de los factores de riesgo para desarrollar la infección por VPH en 1603 mujeres donde se obtuvieron los siguientes diagnósticos: 1447 normales, 52 atipias celulares, 77 presentaban displasias leves, 427 presentaban displasias moderadas a severa. Para conocer los genotipos de VPH en los diferentes grupos, se utilizó la técnica de reacción de cadena de polimerasa (PCR). Los resultados demuestran claramente, el incremento en la frecuencia de VPH al haber cambios celulares y progresar la lesión¹¹.

En España Cañadas M. P y Col estudiaron 166 muestras cervicales por medio de tres técnicas de Biología Molecular (PCR-EIA, PCR LBH y HC2) en las que se reconoció el ADN de VPH en 24.7%- 29.5% de acuerdo con el ensayo. Los

“Hallazgos Citológicos de Muestras Cervicales y su Relación con los tipos moleculares del virus del Papiloma Humano”

resultados demostraron que la prevalencia de los tipos de alto riesgo oncogénico así como de las lesiones fue similar en los tres ensayos. El VPH16 fue el tipo más identificado. La concordancia de identificación de VPH 16 fue 70.6% y para el VPH 18 de 88%. Se realizó un estudio citológico diagnosticándose solo 10 casos como Neoplasia Intraepitelial Cervical I (NIC I) se identificaron tipos de alto riesgo oncogénico en 70% de estos métodos por PCR y en 80% por HC2¹².

También en España Ordi Jaume estudio 1004 muestras de secreción cervical referida por citología cervical con PCR y captura de híbridos el cual demostró que estas técnicas detectan cantidades mínimas de DNA viral y aumentan la sensibilidad de los métodos de cribado clásico, al poner de manifiesto algunas lesiones de alto grado no detectada por citología¹³.

En el año 2003 en Chile Angélica Melo y col. realizaron un estudio de detección de VPH de 175 muestras por medio de PCR en el que se detectó en 81%(142/175) de las muestras VPH, en 40% de los casos histológicamente normales. Se encontró 88% de casos positivos en lesiones de bajo grado, 89% en lesiones de alto grado y 93.5% de los carcinomas invasores lo que demostró la utilidad de la técnica para diagnosticar el VPH en infecciones subclínicas y la presencia del VPH en reportes citológicos anormales¹⁴.

En nuestro país se han realizado estudios como el de la Damaris Illescas y col cuyo fin era tipificar mediante técnicas de biología molecular al virus del papiloma humano en pacientes con lesiones de alto y bajo grado en mujeres del departamento de León, Nicaragua.¹⁵

Damaris Argueta¹⁶, cuyo fin fue determinar la evolución de las pacientes que habían sido diagnosticadas con infección por el Virus del Papiloma Humano mediante citología convencional, en la que se encontró que un 24% con diagnósticos citológicos de Lesiones Intraepiteliales de bajo y alto grado progresaron a cáncer cervical.

Otro estudio relacionado fue el de Boanerges Méndez Rojas ¹⁷, cuyo fin fue determinar la frecuencia del condiloma cervicouterino en los diagnósticos realizados en el departamento de Patología en el HEODRA, para conocer la eficacia del método citológico en relación al histológico en el diagnóstico del mismo, así como la relación de esta entidad con lesiones pre malignas y malignas.

Existen un sin número de estudios tanto a nivel mundial como nacional relacionados con el VPH, pero ninguno a nivel local que demuestre los genotipos circulantes por medio de técnicas de Biología Molecular ni su relación con los diferentes hallazgos cito patológicos.

JUSTIFICACIÓN

La Organización Mundial de la Salud estima que el cáncer cervical es la primera causa de muerte en países en vías de desarrollo y que cada año mueren 270 mil mujeres por esta causa en todo el mundo. Para el 2020 se espera que sean diagnosticados un millón de nuevos casos de cáncer cervical^{2,3}.

El Ministerio de salud de Nicaragua indica que el cáncer cervical es la primera causa de muerte en mujeres entre las edades de 30 a 69 años; cada año mueren aproximadamente 300 mujeres por esta enfermedad³.

Debido a la falta de soporte económico para la instauración de métodos diagnósticos adecuados se desconoce los serotipos de VPH circulantes en mujeres asintomáticas y su asociación con: displasia cervical o cáncer cervical de la población femenina nicaragüense.

La detección del VPH mediante técnicas citopatológicas ha sido por muchos años la piedra angular para el diagnóstico del VPH sin embargo en la actualidad se cuenta con técnicas de diagnóstico como Biología molecular para detectar y caracterizar el VPH. Los hallazgos citológicos y su relación con los tipos detectados mediante pruebas moleculares permitirán contar con información de base para determinar el impacto que pueden tener proyectos de prevención como Programas de Vacunación a mediano plazo.

“Hallazgos Citológicos de Muestras Cervicales y su Relación con los tipos moleculares del virus del Papiloma Humano”

Planteamiento del problema

¿Cuáles son los principales hallazgos citológicos y su relación con los genotipos circulantes del Virus de Papiloma Humano diagnosticados mediante Hibridización y PCR en una población de mujeres de la ciudad de León?

“Hallazgos Citológicos de Muestras Cervicales y su Relación con los tipos moleculares del virus del Papiloma Humano”

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL:

Determinar las diferentes alteraciones cervicovaginales mediante citología y relacionarlas con los diferentes genotipos del Virus del Papiloma Humano.

OBJETIVOS ESPECIFICOS:

1. Conocer las características socio demográficas de la población estudiada.
2. Describir características clínicas y factores de riesgo encontrados en el grupo de estudio.
3. Determinar anomalías citológicas, factores de riesgo y características clínicas en pacientes infectadas y no infectadas por el Virus del Papiloma Humano.
4. Enumerar los genotipos encontrados con mayor frecuencia.
5. Relacionar los genotipos encontrados con anomalías citológicas, alteraciones clínicas y factores de riesgo.

MARCO TEÓRICO

El cáncer de cuello uterino es la principal causa de muerte en países de vías de desarrollo. El VPH ha sido identificado como el factor etiológico fundamental en el desarrollo del cáncer del cuello uterino.^{1,2}

El interés por el Virus de Papiloma Humano (VPH), surgió desde muchos siglos atrás, las verrugas cutáneas fueron reportadas desde el primer siglo a.c. En 1891 Payne reconoció que las verrugas cutáneas se podían transmitir. En 1901 Heidingsfeld describió la transmisión de los condilomas acuminados a través del contacto sexual. En 1907 Ciuffo estableció la etiología viral de las verrugas humanas. El primer virus de papiloma fue aislado por R. Shope en conejos en 1933.¹⁹

En 1949, Strauss y Cols. aislaron el agente responsable de las verrugas, el virus de papiloma humano el cual desde este momento ha sido reconocido ampliamente como un patógeno humano.

Por muchos años el perfil epidemiológico de las mujeres con cáncer cervical ha sido reconocido como parte de un proceso de transmisión sexual y varios gérmenes se han implicado sin establecerse una asociación de causa efecto de manera definida. Hacia los años 1956 Koss y Durfee encontraron cambios celulares en análisis citológicos que denominaron coilocitos. Meissels encontró asociación entre coilocitos y VPH. Zur Hausen en los años ochenta fue el primero en sugerir una asociación entre VPH y cáncer cervical. El desarrollo de los métodos diagnóstico ha permitido detectar la presencia de ADN del Virus del Papiloma Humano desde la década de los ochenta, lo que hizo posible establecer el rol etiológico definitivo del VPH en el cáncer cervical¹⁸.

Los virus del papiloma se encuentran en muchas especies de vertebrados y en el ser humano. La infección por el virus puede asociarse a lesiones benignas y malignas¹⁸.

El VPH pertenece a la familia de los Papovaviridae que comprenden un grupo de virus no envueltos con simetría icosaédrica que contiene 72 capsómeros de ADN pequeño y un genoma formado por una molécula de ADN con 8,000 pares de bases, que inducen verrugas o papilomas en el ser humano. Infechan la piel y las membranas mucosas de humanos así como de variedad de animales. Se han identificados más de 100 diferentes tipos de VPH algunos tipos pueden causar condilomas mientras otros dan lugar a infecciones subclínicas resultando en lesiones pre cancerosas¹⁹.

“Hallazgos Citológicos de Muestras Cervicales y su Relación con los tipos moleculares del virus del Papiloma Humano”

El genoma del VPH se compone de un ADN de doble hebra circular. La información genética se encuentra sólo en una hebra. Contiene tres regiones: tardía (L), temprana (E) y no codificante (NC). La región L que constituye casi el 40% del genoma codifica dos proteínas de la cápside L1 mayor y L2 menor. La primera constituye más del 95% de ella y se conserva en gran parte en diferentes tipos de VPH. L2 constituye menos del 5% de la cápside, porciones de ella de 210 aminoácidos a partir del extremo N y 30 desde el extremo C, también se conservan mucho. La región E corresponde a 45% del genoma codifica hasta 8 proteínas. La región no codificante (llamada reguladora de corriente ascendente o región de control larga) contiene secuencias reguladoras y el origen de la replicación del ADN.^{18,30}

Los genes E se denominan tempranos de E1 a E8, pero sólo E1, E2, E4, E6 y E7 se encuentran en todos los VPH estudiados hasta la fecha. Las proteínas E1 y E2 participan en los pasos tempranos de la replicación viral, los cuadros de lectura abierta de E2 codifican proteínas que actúan como reguladoras de la transcripción viral. La proteína E4 se expresa en etapa tardía del ciclo de crecimiento del virus y al parecer participa en su maduración. Así su asignación dentro de los productos tempranos de genes es incorrecta, a pesar de su presencia en la región E. Los genes E5 independientemente pueden causar transformación tumorigénica in vitro, generalmente secundaria a modificación de factores de crecimiento. Los cuadros de la lectura E6 y E7 del VPH codifican las oncoproteínas virales, indispensables para la transformación celular y la conservación de dicho estado, y son las únicas proteínas del VPH constitutivamente expresadas en las células transformadas. La regulación ascendente de E6 y E7 es una característica constante del cáncer asociado a VPH.^{18, 30}

De acuerdo al tiempo en que los genes virales se expresan, son designados como tempranos o tardíos. Los genes tempranos (E1, E2, E4, E5, E6, E7) son regulatorios no estructurales y están relacionados con el control de la replicación del ADN viral y la expresión genética del virus.^{18, 30}

Los genes tardíos L1 y L2 se expresan en las fases finales de la infección y codifican proteínas estructurales relacionadas con el ensamblaje de las partículas virales (proteínas de la cápside). La transcripción de estos genes parece estar mediadas por reguladores celulares de la transcripción, producidos sólo cuando la célula escamosa se diferencia (célula intermedia y superficial), lo que explica su baja concentración en Lesión Intraepitelial (LIE) de alto grado o carcinomas invasivos.

“Hallazgos Citológicos de Muestras Cervicales y su Relación con los tipos moleculares del virus del Papiloma Humano”

El conocimiento que se tiene del Virus de Papiloma Humano no es por técnicas virológicas usuales sino por técnicas de Biología molecular. La secuencia genómica de muchos tipos se conoce del ciclo de vida del virus.^{18,30}

Existen diversos tipos llamados genotipos porque su clasificación se basa en las secuencias de nucleótidos del genoma. Dichas secuencias de los genes L1, E6 y E7 de cualquier tipo distintivo deben tener menos del 90% de identidad con otro tipo. Los nuevos virus aislados con una homología aislada entre el 90 y 98% con un tipo ya conocido se considera variante del tipo relacionado. Se han identificado más de 100 genotipos de VPH hasta la fecha. Con base en su tropismo se dividen en mucosos y cutáneos¹⁹.

Hay más de 30 tipos mucosos que pueden dividirse en de bajo riesgo y de alto riesgo. Esta designación se basa en la frecuencia de detección de los tipos en lesiones malignas. La Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC) clasificaron la infección por VPH como tipos humanos carcinógenos 16,18 potencialmente carcinógenos 31,33 y posiblemente carcinógenos otros tipos VPH (excepto 6 y 11). Se han encontrado otros tipos de alto riesgo como el 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58,59 y68. El resto de tipos genitales 6, 11,42 a 44 son considerados como de bajo riesgo oncogénico.^{18, 19}

El virus entra al organismo a través de pequeños cortes o abrasiones en piel o mucosas. El virus debe llegar a la capa basal del epitelio o a células de metaplasia escamosa inmadura. Por diversos factores la infección puede permanecer latente o volverse activa. La infección latente es aquella en la que existe una infección viral sin la replicación del virus, el ADN viral permanece en el núcleo como una molécula libre, circular denominada episoma. Los efectos citopáticos del virus no están presentes en las células.^{18, 19, 20,21}

En la infección productiva la replicación del ADN viral ocurre de manera independiente al ADN cromosomal, lo que produce una gran carga genética del virus y a la formación de viriones. Este proceso se lleva a cabo en las células superficiales, estimulado por los factores transcripcionales específicos de diferenciación celular y su relación con la maduración epitelial, con la producción de keratina y otras proteínas de la envoltura como la involucrina, terminando con la producción de proteínas de la cápside y el ensamblaje de nuevas partículas virales. Estas células muestran cambios citopáticos característicos de la infección por VPH y pueden ser detectadas por citología y tiene un período de incubación de tres semanas a ocho meses, aunque puede durar años.^{18, 19, 20,21}

“Hallazgos Citológicos de Muestras Cervicales y su Relación con los tipos moleculares del virus del Papiloma Humano”

El inicio de la replicación se presenta en el estrato basal del epitelio, pero la replicación de partículas virales completas solo ocurre en el estrato superficial, cuando la célula deja de dividirse y pasa a la diferenciación final, lo que implica una conexión entre la diferenciación celular y la conexión genómica viral.

La integración del ADN viral al genoma celular es de extraordinaria importancia para el desarrollo de las células tumorales. Puede haber integración en la región E1/E2 del genoma. La división del E2 produce su inactivación. La pérdida de la función E2 permite el refuerzo de los productos E6 y E7, que lleva a la inactivación de las proteínas celulares p53 (factor regulador importante en la proliferación celular) y pRb (gen de susceptibilidad al retinoblastoma) y algunos sucesos posteriores (se estimula la replicación de la célula en ausencia de una progresión normal de G1 a S del ciclo celular). Sin embargo, la integración del ADN viral no es una condición sinecuanon para la aparición del cáncer cervicouterino, ya que la integración no solo se encontró en cáncer cervicouterino sino también en lesiones de neoplasia intraepitelial cervical III. Por otro lado un porcentaje significativo de biopsias de cáncer cervical se han encontrado ADN episómico viral. Por la falla de los mecanismos de control celular producidos por actividad de E6 y E7 no se impide el crecimiento celular, ni se repara el daño del ADN. Las células transformadas pierden la capacidad de expresar proteínas de la cápside del virión y por tanto no son permisibles para la producción del virus.^{18,19}

Se ha encontrado que E6 y E7 son activamente transcritos en el cáncer cervical, lo que sugiere que requiere expresión permanente y no regulada, de estos genes para mantener el fenotipo transformado. In vitro se ha observado que al inhibir las funciones de E6/E7 las células transformadas vuelven a la normalidad.¹⁹

Las proteínas E6 y E7 trabajan de forma aparente en gran coordinación, potenciando ambas sus respectivas funciones, puesto que son constantes y necesarias en el mantenimiento del fenotipo oncogénico, constituye el blanco más importante de las futuras estrategias terapéuticas basadas en el uso de vacunas^{19,20}.

Historia Natural de la Infección por el VPH

Como consecuencia de su transmisión sexual, la infección por VPH constituye una de las enfermedades de transmisión sexual más frecuente pues en general la mayoría de las mujeres y de los hombres sexualmente activos han estado expuestos a estos virus en algún momento de su vida, lo que tiene gran importancia sobre todo si se considera la asociación que existe entre la infección por algún VPH y la aparición de carcinomas genitales. Las áreas más susceptibles

“Hallazgos Citológicos de Muestras Cervicales y su Relación con los tipos moleculares del virus del Papiloma Humano”

para la infección son: el cuello uterino en su zona de transformación (zona de transición) y la línea pectínea del canal anal.

Pueden identificarse grupos de alta prevalencia como poblaciones de reclusos asociado al consumo de drogas, prostitutas y en los grupos infectados por el VIH (Virus de Inmunodeficiencia Humana Adquirida).

La prevalencia del ADN del VPH está asociada con la edad; siendo la prevalencia más alta en edades inmediatas al inicio de relaciones sexuales correspondiendo al patrón de comportamiento sexual de la comunidad. En las poblaciones liberales donde el número de compañeros sexuales distintos y ocasionales es elevado, la prevalencia puede ser tan elevada como del 30-40% en grupos de edad de 15-25 años. Existe una disminución muy marcada en edades intermedias (25-40 años) la detección viral se estabiliza a niveles entre el 3 y el 10%, esta fracción prevalente se interpreta como medida indirecta del grupo de mujeres portadoras crónicas de la infección viral siendo este el grupo de alto riesgo para la progresión neoplásica.

La resolución espontánea de la infección parece ofrecer un cierto grado de protección frente a la reinfección por el mismo tipo de VPH. Los determinantes para la progresión dependen del tipo viral, la persistencia de la infección en exámenes repetidos y de manera probable la carga viral por unidad celular. La infección por VIH constituye un factor de riesgo para la infección y progresión neoplásica, en particular en los periodos que cursan con inmunosupresión. Factores ambientales adicionales para la progresión de la enfermedad son el uso prolongado de anticonceptivos orales, alta paridad y el tabaquismo. Factores posibles es la infección mixta por otras enfermedades de transmisión sexual en particular Chlamydia trachomatis y por el virus del Herpes simple tipo 2.¹⁹

Hasta hoy se han identificado más de cien tipos de VPH según sus diferencias en la secuencia de DNA. De ellos alrededor de 40 pueden infectar la región ano genital. De acuerdo con el riesgo oncogénico, la clasificación de los VPH no está definida totalmente, pero para Muñoz y Cols. son de bajo riesgo los VPH 11, 40, 42, 43,44,54,61,70,72,81 y CP6108; y de alto riesgo los VPH 16,18,31,33,35,39,45,51,52,56,58,59,68,73 y 82. Los tipos 26,53 y 66 deben considerarse probables carcinógenos. La infección por VPH de bajo riesgo, sobre todo por los VPH 6 y 11, produce lesiones ano genitales benignas o infecciones subclínicas que suelen ser transitorias y casi siempre se resuelven, pero las de alto riesgo se asocian con displasias y carcinomas cervicales, y se ha comunicado que las infecciones persistentes por los tipos 16 y 18 se relacionan con el desarrollo de cáncer de cuello uterino.

“Hallazgos Citológicos de Muestras Cervicales y su Relación con los tipos moleculares del virus del Papiloma Humano”

La duración media estimada de infecciones por virus de alto riesgo es de 8-12 meses. Las infecciones por VPH 16 y 18 tienden a persistir por periodos prolongados de 16-24 meses^{21, 22}.

Infecciones de VPH y riesgo de Cáncer de Cuello Uterino.

Los estudios epidemiológicos y clínicos han incorporado técnicas de Biología Molecular que detectan determinados tipos oncogénicos o de alto riesgo de VPH en un 100% de los cánceres cervicales cuando la técnica es adecuada y la tecnología de detección viral es de alta sensibilidad. El ADN viral se detecta en la mayoría (70-90%) de las lesiones precursoras o LIEAG(Lesión Intraepitelial de Alto Grado) y en menor proporción (50-70%) en LIEBG(Lesión Intraepitelial de Bajo Grado). Las LIEAG(Lesión Intraepitelial de Alto Grado) incluyen a las llamadas Neoplasias Cervicales Intraepiteliales II o NIC II (displasia moderada) y CIN (Displasia grave o Carcinoma in situ). Las LIEBG(Lesión Intraepitelial de Bajo Grado) incluyen cambios citológicos e histológicos compatibles con la infección de VPH y NIC I o displasia leve, estas lesiones en su mayoría son provocadas por infecciones de VPH de bajo riesgo y que raramente van a progresar. En las clasificaciones citológicas de Bethesda se definió una categoría de lesiones citológicas de naturaleza incierta (ASCUS y AGUS- células escamosas de naturaleza incierta) en la que la detección del VPH es cercana del 50% en lectura citológica experta.^{19,20}

Las asociaciones observadas de infección por VPH y cáncer de cuello uterino están entre las más fuertes, existiendo un consentimiento creciente en clasificarlas como causa necesaria²¹.

Métodos de Prevención.

En 2006, la *Food and Drug Administration* (FDA) de los Estados Unidos aprobó Gardasil®, una vacuna que es muy efectiva en la prevención de infecciones persistentes por los tipos 16 y 18, dos VPH de “alto riesgo” que causan la mayoría (el 70 por ciento) de los cánceres cervicales, y por los tipos 6 y 11 que causan prácticamente todas (el 90 por ciento) las verrugas genitales²³.

Gardasil, producida por Merck & Co., Inc. (Merck), se dice que es una vacuna tetravalente porque protege contra cuatro tipos de VPH: 6, 11, 16 y 18. Gardasil se administra en una serie de tres inyecciones en tejido muscular por un periodo de 6 meses.

“Hallazgos Citológicos de Muestras Cervicales y su Relación con los tipos moleculares del virus del Papiloma Humano”

Otra vacuna prometedora, Cervarix™, es producida por GlaxoSmithKline (GSK) la cual está realizando pruebas, pero todavía no ha sido aprobada por la FDA. Esta vacuna se dice bivalente porque está dirigida a dos tipos de VPH: 16 y 18. También se administra en tres dosis por un periodo de 6 meses. Los resultados iniciales demuestran que Cervarix protege también contra la infección persistente de los VPH 16 y 18.

Ambas vacunas se basan en tecnología desarrollada en parte por científicos del Instituto Nacional del Cáncer (NCI), que forma parte de los Institutos Nacionales de la Salud (NIH), otorgó la licencia de esta tecnología a dos compañías farmacéuticas, Merck y GSK, para producir las vacunas contra VPH para distribución general.

No se ha comprobado que alguna de estas dos vacunas contra VPH proporcione protección completa contra la infección persistente de otros tipos de VPH, algunos de los cuales causan cáncer cervical. Por lo tanto, alrededor del 30 por ciento de los casos de cáncer cervical y el 10 por ciento de los casos de verrugas genitales no se evitarán con estas vacunas. Además, las vacunas no evitan otras enfermedades de transmisión sexual ni tratan la infección por VPH o el cáncer cervical.

Ya que las vacunas no protegerán contra todas las infecciones que causan cáncer cervical, es importante que las mujeres que reciban la vacuna se sigan haciendo exámenes selectivos de detección de cáncer cervical, tal y como se recomienda para las mujeres que no hayan sido vacunadas.

Las vacunas contra VPH funcionan como otras vacunas que protegen contra una infección viral. Los investigadores supusieron que los componentes de superficie únicos a los VPH podrían crear una respuesta de anticuerpos capaz de proteger al cuerpo contra la infección y que estos componentes podrían usarse para formar la base de una vacuna. Estos componentes de superficie pueden actuar entre sí para formar partículas semejantes a virus (*virus-like particles, VLP*) que no son infecciosas y que estimulan el sistema inmunitario para que produzca anticuerpos que puedan impedir que los papilomavirus completos infecten las células. Se cree que protegen principalmente al causar la producción de anticuerpos que impiden la infección y el desarrollo de cambios en las células cervicales que se ven en las pruebas de Papanicolaou y que pueden resultar en cáncer²⁴. Aunque estas vacunas previenen la infección por VPH, se desconoce si pueden ayudar a eliminar cambios existentes en las células cervicales causados por los VPH.

Métodos Diagnósticos del VPH

Aunque el diagnóstico de las infecciones manifiestas por el VPH resulta habitualmente clínico, la posible presencia de infecciones subclínicas, asintomáticas o latentes, así como la necesidad de determinación de la infección y del tipo VPH implicado (de alto o bajo riesgo) han hecho desarrollarse, en estos últimos años, una amplia variedad de técnicas diagnósticas. Las técnicas disponibles son:

- Diagnóstico morfológico (citología, colposcópico e histopatología).
- Métodos de inmunohistoquímica (para detección del antígeno viral en la lesión).
- Detección de secuencias genómicas del VPH (técnicas de Biología Molecular)

Citología

Historia y Sistemas de Clasificación

George N. Papanicolaou en 1924 observó células normales en una mujer con cáncer cervicouterino inexplicable, datos que fueron reportados en 1928 pero tomados con indiferencia y escepticismo, en 1943, asociado con el doctor Herbert Traut, propuso la citología exfoliativa como un método para diagnosticar cánceres ocultos, basándose en que la identificación y el tratamiento temprano de dichos carcinoma in situ disminuye la mortalidad se consideró que la citología exfoliativa de la zona de transformación como una herramienta más moderna para la prevención del cáncer; ya para 1949 se habían iniciado los estudios sistemáticos a grandes masas. Se manejaban términos como carcinoma in situ (sustitución de todas las capas por células basaloideas indiferenciadas) y diversos grados de displasia (Células basaloideas indiferenciadas en las capas basales que mostraban fracciones variables de diferenciación celular). El frotis positivo en quienes método entrañaba deficiencias y se colocó a un número importante de mujeres en la categoría de frotis positivo en quienes por aspecto clínico el cuello uterino parecía totalmente normal y por el contrario lesiones menos notables pero potencialmente invasoras fueron seguidas sólo por medio del frotis. Así fue como sus beneficios tuvieron que ser demostrados^{25, 26, 27,28}.

En 1961 durante el primer congreso internacional de citología celebrado en Viena se acuerda que los términos para designar citológicamente las tres lesiones cervicales mayores sean: Carcinoma Invasor, Carcinoma in situ y Displasia. Posteriormente la lesión displásica fue graduada en leve, moderada y severa, a las que habrían que añadir el Carcinoma in situ previamente definido. Este sistema

“Hallazgos Citológicos de Muestras Cervicales y su Relación con los tipos moleculares del virus del Papiloma Humano”

genero gran desacuerdo respecto a cuando la lesión debía ser considerada displasia grave o carcinoma in situ, por otro lado muchos clínicos asumían que el carcinoma in situ y la displasia eran dos lesiones biológicamente distintas e independientes, con distinto potencial maligno, no requiriendo tratamiento las lesiones displásicas. En 1967, Richart propuso el término Neoplasia Intraepitelial Cervical (NIC/CIN) con tres grados progresivos; combinando los términos displasia grave y carcinoma in situ en un solo grupo denominado neoplasia intraepitelial cervical (NIC) de grado III. Las displasias leves o moderadas fueron clasificadas como NIC I o II según el número de tercios del epitelio ocupados por células basaloides indiferenciadas. Pero esta nomenclatura no toma a consideración los efectos citológicos del virus del papiloma humano. Esta clasificación fue utilizada internacionalmente por más de 20 años^{26, 27,28}.

En 1988 se efectuó un taller del Instituto Nacional de Cáncer, celebrado en Bethesda Meryland, durante el cual se creó el sistema Bethesda para notificación citológica, que pretendía reducir la confusión entre los laboratorista y los clínicos por el uso de múltiples sistemas de clasificación. El aporte más importante del sistema Bethesda fue la creación de criterios estandarizados para los reportes de laboratorio que incluyó un diagnóstico descriptivo y una evaluación de calidad del espécimen. En 1991 se llevó a cabo el segundo taller para modificar el sistema basándose en las experiencias de la clínica y el laboratorio desde su implementación^{25, 26, 27,28}.

Recientemente en el 2001, se actualizó la terminología del Sistema Bethesda III usando nueva tecnología y los resultados de las últimas investigaciones científicas, de esta manera las lesiones escamosas pre malignas quedan en tres categorías: Células escamosas atípicas (ASCUS), lesiones Intraepiteliales escamosas de bajo grado (LIEBG) y lesiones Intraepiteliales escamosas de alto grado (LIEAG). Los cambios celulares relacionados con el VPH (es decir coilocitos y NIC I) se incorporan dentro de la categoría LIEBG por que la evolución natural, la distribución de los diversos tipos de VPH y los aspectos citológicos de ambas lesiones son los mismos²⁵.

Recolección de la muestra y sensibilidad de la prueba.

Para obtener una buena muestra se recomienda seguir las pautas del Council of Scientific Affaire de la American Medical Asociation. La muestra del exocérvix se recolecta mejor con espátula de Ayre con punta, hisopo humedecido, aspiración endocervical o bien cepillo endocervical. Es aconsejable que se tome primero la muestra de exocérvix y luego se recolecte cuidadosamente la del endocérvix²⁶.

Es importante tener en cuenta que²⁷.

1. El frotis no es un elemento diagnóstico. El diagnóstico depende de una biopsia tisular.
2. La prueba es válida para la detección selectiva de NIC.
3. Debe tomarse la muestra con mucho cuidado tanto del endocérnix como del exocérnix incluyendo la zona de transformación.
4. Considerar todas las explicaciones de los hallazgos citológicos anormales.

Los falsos negativos ocurren en el muestreo, la preparación y la interpretación.

Esta prueba ha tenido éxito porque ha disminuido la incidencia de cáncer cervicouterino en un 79% y además ha reducido la mortalidad en un 70% desde 1950. Según los análisis de los últimos estudios se demostró que su sensibilidad es de un 51% con un valor predictivo de un 49%²⁵.

El intervalo para realizar la prueba varía entre uno a tres años, dependiendo de muchos factores como la edad, resultado de los frotis anteriores, tipo de tinción e historia de inmunosupresión de la paciente.

De manera general se recomienda que todas las mujeres que son o han sido sexualmente activas sean sometidas a un frotis de Papanicolaou y un examen pélvico anual. Una mujer mayor de 30 años, después de tres resultados de citología consecutivos, normales y satisfactorios, se puede ampliar el intervalo para las revisiones según la consideración médica (cada 2 ó 3 años). Se debe valorar el grado de riesgo que tiene cada paciente después de tres frotis negativos para recomendar el intervalo de la prueba^{25, 26, 27,28}.

Detección de proteínas del VPH (métodos de inmunohistoquímica)

La demostración de la infección por VPH puede efectuarse mediante la detección inmunohistoquímica de la cápside del virus. Este método presenta en la actualidad grandes limitaciones y aporta escasos datos adicionales sobre la morfología. La detección del antígeno de la cápside se correlaciona muy estrechamente con la presencia de coilocitos teniendo una baja sensibilidad como el examen morfológico. Dado que la producción de la cápside tiene lugar únicamente en las

“Hallazgos Citológicos de Muestras Cervicales y su Relación con los tipos moleculares del virus del Papiloma Humano”

células maduras superficiales, la proporción de casos positivos para dicho antígeno es inversamente proporcional al grado de la lesión, es decir es positivo en relativa frecuencia en casos de LIEAG de bajo grado, habitualmente negativo en los casos de LIEAG de alto grado y casi constantemente negativos en los carcinomas invasores. Se empieza a disponer de anticuerpos específicos e incluso es posible detectar serológicamente anticuerpos contra antígenos específicos de la cápside²⁹.

Detección de secuencias genómicas del VPH (técnicas de biología molecular)

Estas técnicas consisten en un análisis cualitativo del DNA. Todas ellas se basan en la detección específica de secuencias de DNA del VPH en tejido o bien en tomas de muestras de cérvix y permiten por tanto identificar el tipo de virus presente en la lesión. Todas ellas consisten en enfrentar el DNA de una determinada muestra con un fragmento conocido de un ácido nucleico cuya secuencia es complementaria de la secuencia de DNA que intentamos detectar.

Existen diversas técnicas de análisis cualitativo del DNA y una gran diversidad de variaciones y modificaciones de estas técnicas. Estas técnicas presentan entre ellas diferencias en cuanto a sensibilidad, complejidad y reproducibilidad. Algunas de ellas se encuentran disponibles comercialmente. A continuación se describen las técnicas de Biología Molecular más empleada en el estudio del virus del papiloma.

- Hibridación in situ.
- Reacción en cadena de polimerasa (PCR).
- Captura de híbridos.

Hibridación in situ

Consiste en aplicar sondas complementarias marcadas con sustancias radioactivas o con colorantes que permitan su posterior visualización sobre un corte de tejido problema o sobre una extensión citológica. Esta técnica se puede aplicar en citología y en biopsias después de su proceso habitual. Existen varios test de detección de VPH por hibridación in situ comercializada. Estos test pueden ser de cribado, los cuales incluyen coctel de sondas que permite detectar a un amplio grupo de tipos sin diferenciarlos, o de tipificación. Los test de tipificación comercializados incluyen tres sondas cada una de las cuales detecta a dos o más tipos de virus agrupados según el riesgo de desarrollo de neoplasia (sonda 6-11 de virus de bajo riesgo, sonda 16-18 de virus de alto riesgo y sonda 31-33-51 o de riesgo intermedio).

La principal ventaja consiste en que es el único que permite visualizar la morfología de las células en las que se haya el HPV, mientras que las demás técnicas se realizan en extractos de DNA, por lo que no permiten la valoración morfológica. Otra ventaja que vale la pena mencionar es su gran especificidad: la detección de VPH se basa en la presencia de lesiones citológicas e histológicas. Las infecciones latentes (con epitelio normal) son casi constantemente negativas con esta técnica. Sin embargo, el gran inconveniente de esta técnica es su baja sensibilidad, puesto que necesita un número elevado de copias (entre 20 y 25 en cada célula) para ser positivo. Así, la hibridación in situ es capaz de detectar y tipificar el virus solamente en un 40-70% de las lesiones de alto grado. Aunque en algunos métodos más recientes la hibridación in situ se combina con una amplificación por PCR previa, su complejidad los ha hecho poco populares.

Técnicas basadas en el PCR (Reacción en Cadena de Polimerasa)

Su fundamento consiste en aplicar un proceso que multiplica el número de copias de un segmento de DNA si está presente en la muestra. Este proceso que se conoce como amplificación se produce mediante la reacción en cadena de polimerasa, hace que sea una técnica extraordinariamente sensible capaz de detectar la presencia de muy pocas copias de DNA del virus (entre 10 y 100 en una muestra), aunque estén presentes en una sola célula entre varios miles.

Se pueden utilizar diferentes estrategias, pero en la actualidad tienden a aplicarse a métodos capaces de amplificar regiones muy conservadas del genoma del VPH (primers de consenso o generales) con lo que con una sola amplificación pueden detectarse gran parte de los diferentes tipos de VPH. Tras esta amplificación, la tipificación viral puede realizarse mediante hibridaciones con sondas específicas para cada virus, con sondas que permitan separar solamente virus de alto o bajo riesgo, o mediante digestión con enzimas de restricción, que proporcionan patrones diferentes para cada tipo. Existen test comerciales que utilizan diferentes estrategias.

Las técnicas basadas en la amplificación por PCR son rápidas y relativamente poco laboriosa. Puede ser usada con la misma muestra recogida en el momento de la toma citológica y no requiere por tanto más molestias para la mujer que está siendo estudiada. Son técnicas muy sensibles capaces de detectar LIAG de alto grado no detectados con citología, Sin embargo esta gran sensibilidad que es su fortaleza es también su principal debilidad, puesto que detecta un número elevado de pacientes con infecciones no progresivas y mujeres con infección latente sin alteraciones citológicas, cuya evolución desconocemos, pero que probablemente

“Hallazgos Citológicos de Muestras Cervicales y su Relación con los tipos moleculares del virus del Papiloma Humano”

se resuelvan en gran parte de forma espontánea. Cuando se aplican técnicas de PCR sensibles, el porcentaje de mujeres con VPH detectadas puede llegar al 20%. Las técnicas basadas en PCR no permiten cuantificar adecuadamente el ADN viral presente en la muestra. Otro de sus defectos es la elevada probabilidad de contaminación y falsos positivos, aunque este se ha reducido notablemente en estudios más recientes.

Captura de Híbridos.

En estas técnicas se utilizan sondas de RNA capaces de detectar varios tipos de VPH. Cuando la muestra presenta infección vírica se produce un híbrido RNA-DNA que es capturado por un anticuerpo específico contra híbridos y detectado mediante una reacción tipo ELISA que utiliza un compuesto quimioluminiscente para revelar la reacción y que proporciona incluso información sobre la cantidad de ADN viral presente en la muestra, que parece tener relación con la presencia de lesiones de alto grado. La técnica dispone de dos sondas, una para virus de bajo riesgo y otra para virus de alto riesgo, aunque una práctica habitual consiste en aplicar únicamente una sonda para detección de virus de alto riesgo con lo cual se reducen notablemente los costos³⁰.

“Hallazgos Citológicos de Muestras Cervicales y su Relación con los tipos moleculares del virus del Papiloma Humano”

Diseño Metodológico

Tipo de estudio:

Descriptivo de Corte Transversal.

Área de estudio:

Centros de Salud: Perla María Nororí, Sutiava, Centro Mantica Berio, Puesto de salud Primero de Mayo y el HEODRA de donde se reclutaron a las pacientes y se tomaron las muestras cervicales divididas en dos pasos:

- 1- Escobillado para la evaluación citológica (PAP)
- 2- Para la determinación del VPH.

Departamento de Microbiología UNAN- León donde se analizaron las muestras por medio de técnicas de Biología Molecular y el Departamento de Patología del HEODRA donde se analizaron las muestras por técnicas citológicas convencionales.

Población de estudio:

Se incluyeron un total de 457 mujeres entre las edades de 15 a 77 años que fueron estudiadas de manera aleatoria en los diferentes grupos de edad. Las pacientes fueron reclutadas de los Centros de Salud: Perla María Nororí, Sutiava, Centro Mantica Berio, del Puesto de salud Primero de Mayo y del HEODRA de la ciudad de León.

Criterios de Inclusión y Exclusión

Criterios de Inclusión

- a. Mujeres entre las edades de 15 a 77 años
- b. Que hayan iniciado su vida sexual
- c. Firmar el consentimiento Informado

Criterios de Exclusión

El sujeto no es elegible Si.

- a. Presenta o manifiesta algún defecto de inmunosupresión.
- b. Ha sido sometido a un procedimiento de cono biopsia , crioterapia, histerectomía

Procedimiento de recolección de la encuesta:

Los propósitos y los riesgos para su participación en el estudio fueron explicados y un formato de consentimiento firmado será necesario para la participación definitiva. Solamente se reclutaron mujeres que firmaron voluntariamente el consentimiento o en su defecto con la huella digital.

Un cuestionario estructurado fue completado a través de una entrevista a todas las participantes por el médico o enfermera del estudio. El cuestionario indagó sobre variables demográficas, antecedentes reproductivos, hábitos sexuales, contracepción, enfermedades de transmisión sexuales e historia de fumado.

Procedimiento de recolección de muestras:

A todas las participantes se les tomó una muestra cervical con escobillado que sirvió para la evaluación citológica (PAP) y para la determinación de VPH. Los procedimientos para el estudio citológico serán realizados en el Departamento de Patología del Hospital Escuela “Oscar Danilo Rosales Argüello”. Los cepillados cervicales fueron tomados en la zona de transición epitelial. La muestra fue colocada en una lámina y fue fijada con citospray posteriormente se tiño con tinción de hematoxilina eosina y el diagnóstico citológico fue determinado por el patólogo o cito tecnólogo mediante microscopia de luz, los resultados se obtuvieron de la búsqueda de archivos del área de citología del Departamento de Patología .El virus será detectado mediante la técnica de PCR y los genotipos

“Hallazgos Citológicos de Muestras Cervicales y su Relación con los tipos moleculares del virus del Papiloma Humano”

serán determinados mediante una técnica de Hibridación proporcionados gratuitamente por: Delft Diagnostic Laboratory (DDL), Voorburg de Holanda.

La detección primaria se realizó mediante una técnica de ELISA la cual detecto la presencia del HPV. A las muestras positivas les fue extraído el DNA viral por el sistema DDLSPF 10 PCR el cual amplificó un fragmento corto de 65-bp. La muestra positivas serán caracterizadas mediante una prueba de reverse hybridization line probe assay (LiPA) la cual identifica simultáneamente 25 genotipos diversos de HPV. (Genotipos 6 , 11, 16, 18, 31,33 a 35, 39, 40,42 a 45, 51 a 54,56, 58, 59,66,68,70 y 74).

La información obtenida de las fichas de recolección de datos fueron procesados en el programa estadístico SPSS versión 20 y los resultados se presentaron en tablas y gráficos.

Consideraciones Éticas

El estudio se llevó a cabo de acuerdo a las Buenas Prácticas clínicas dictadas en la declaración de Helsinki y los lineamientos Internacionales de estudios Epidemiológicos, con la aprobación del comité de ética de la Facultad de Medicina UNAN- León y del Ministerio de Salud SILAIS León.

Operacionalización de Variable

Variable	Concepto	Indicador	Escala
Edad	Edad en años cumplidos de la paciente.	Entrevista	<ul style="list-style-type: none"> • 15-29 • 30-39 • 40-49 • 50 ó más
Procedencia	Lugar de origen de las pacientes	Entrevista	<ul style="list-style-type: none"> • Urbano • Rural
Escolaridad	Años de estudios aprobados.	Entrevista	<ul style="list-style-type: none"> • Analfabeta • Alfabetizada • Primaria • Secundaria • Técnico superior • Universidad
Ocupación	Actividad laboral a la que la paciente se dedica para su sustento.	Entrevista	<ul style="list-style-type: none"> • Ama de casa • Estudiante • Obrera • Agrícola • Doméstica • Otro
Partos	Número de nacimientos vivos o muertos que ha tenido la paciente.	Entrevista	<ul style="list-style-type: none"> • 1 • 2 • 3 ó más
Gestas	Número de embarazos.	Entrevista	<ul style="list-style-type: none"> • 1 • 2 • 3 ó más

“Hallazgos Citológicos de Muestras Cervicales y su Relación con los tipos moleculares del virus del Papiloma Humano”

Gestagenos Orales	Anticoncepción por vía oral	Entrevista	<ul style="list-style-type: none"> • Si • No
Inicio de vida sexual activa	Inicio de relaciones sexuales en algún momento de su vida.	Entrevista	<ul style="list-style-type: none"> • <20 • 21-30 • >31
Fumado	Antecedentes del consumo de cigarrillo o tabaco.	Entrevista	<ul style="list-style-type: none"> • Si • No
Números de compañeros sexuales	Cantidad de parejas con los que ha tenido contacto sexual.	entrevista	<ul style="list-style-type: none"> • 1 • 2 • 3 ó más
Flujo Vaginal anormal	Cualquier fluido vaginal, no hemático.	Especuloscopia	<ul style="list-style-type: none"> • Si • No
Úlcera o verruga vaginal	Lesión abierta de la mucosa. Protuberancias suaves de apariencia verrucosa en los genitales.	Especuloscopia	<ul style="list-style-type: none"> • Si • No
Cuello uterino anormal	A la inspección del cuello uterino con alteraciones macroscópicas.	Inspección	<ul style="list-style-type: none"> • Normal • Anormal
Cuello uterino Normal	A la inspección del cuello uterino sin alteraciones macroscópicas	Inspección	<ul style="list-style-type: none"> • Si • No
Diagnóstico citológico	Análisis microscópico de las muestras vaginales.	Papanicolaou	<ul style="list-style-type: none"> • Inflamación Leve. • Inflamación Moderada • Inflamación Severa. • Atipia Escamosa (ASCUS) • Lesión Intraepitelial de Bajo grado(Infección por VPH) • Lesión Intraepitelial de alto grado.

“Hallazgos Citológicos de Muestras Cervicales y su Relación con los tipos moleculares del virus del Papiloma Humano”

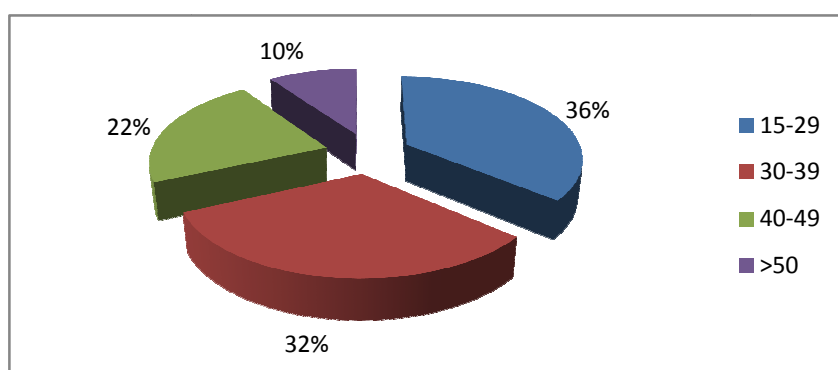
Operacionalización de Variable

Genotipos	Determinación genética de los diferentes tipos de HPV mediante técnicas de biología molecular.	Resultados de PCR	Genotipos:1 al 82
Genotipos	Tipos de HPV relacionados con riesgos de lesiones cervicales.	Resultado de Hibridización	Genotipos: <ul style="list-style-type: none"> • De alto riesgo: 16,18,31,33,35,39,45,51, 52, 56, 58, 59, 68. • De bajo riesgo: 6, 11,42 a 44.

RESULTADOS

Se realizó un estudio descriptivo de corte transversal, acerca de Hallazgos citológicos en muestras cervicales y tipos moleculares del Virus del Papiloma Humano en la ciudad de León durante el período de Abril 2009- Abril 2010 donde se estudiaron a 457 pacientes. La edad media de las participantes fue de 34.9 +/-9.9 años, prevaleciendo con 36%(165/457) el grupo etareo de 15-29 años, seguido del grupo de 30-39 años con un 32%(147/457). Así mismo, el 87%(393/457) de los pacientes procedían del área urbana, mientras que el 12.9%(64/457) del área rural. (Ver gráfico 1).

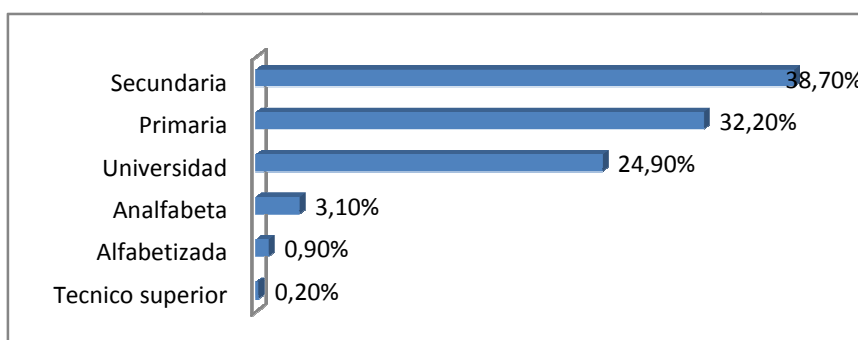
Gráfico 1. Porcentaje de edades de las participantes del estudio.



Fuente: Ficha de recolección de datos

El nivel de escolaridad que presentaban las pacientes estudiadas se observó que el 38.7%(177/457) cursaron secundaria, 32.2%(147/457) primaria, el 24.9%(114/457) estudios universitarios, un 3.1%(14/457) de estas pacientes eran analfabetas, seguido de 0.9%(4/457) de Alfabetizadas y un 0.2%(1/457) Técnico superior. (Ver gráfico 2)

Gráfico 2: Nivel de escolaridad de las participantes del estudio

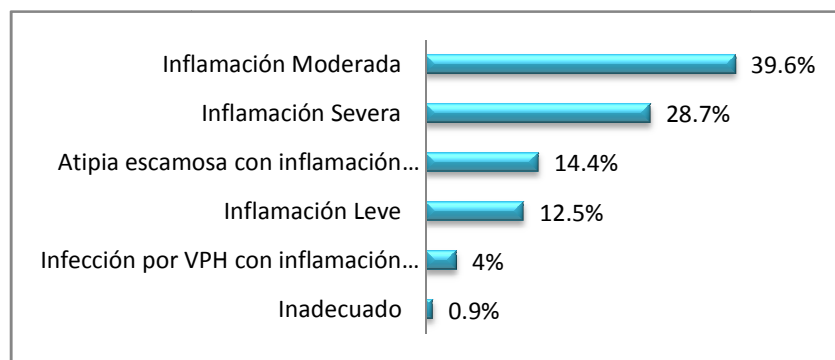


Fuente: Fichas de recolección de datos

“Hallazgos Citológicos de Muestras Cervicales y su Relación con los tipos moleculares del virus del Papiloma Humano”

Los diagnósticos citológicos encontrados en los reportes de citología cervicovaginal convencional en el HEODRA del total de población estudiada fueron: en su mayoría la Inflamación Moderada con 39.6% (131/457), seguido de Inflamación Severa con 28.7%(181/457), Atipia escamosa con inflamación severa 14.4%(66/457), Inflamación Leve 12.5% (57/457), Infección por VPH con inflamación severa 4%(18/457) y un 0.9%(4/457) de las muestras fueron inadecuadas. (Ver gráfico 3).

Gráfico 3. Porcentaje de diagnósticos citológicos encontrados en la población estudiada.

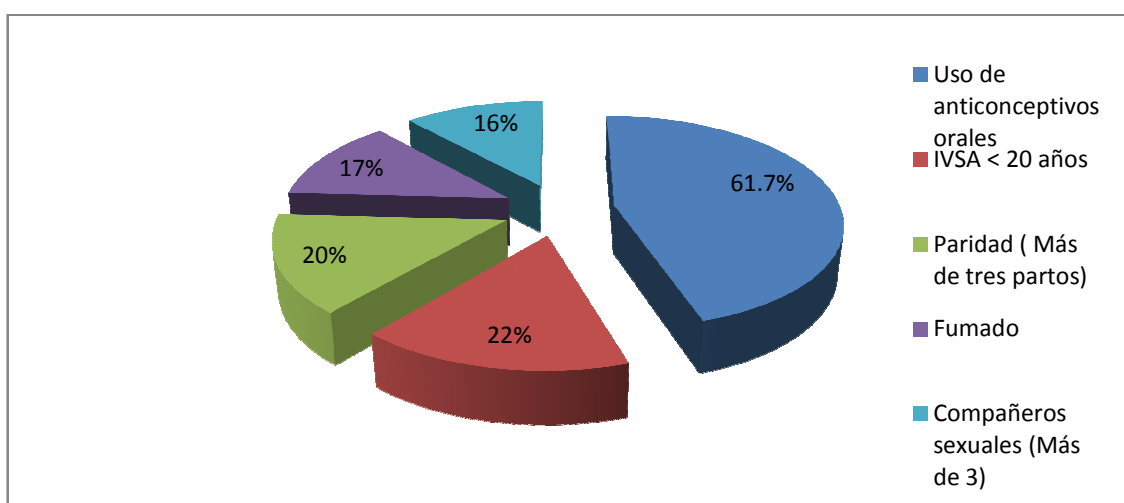


Fuente: Ficha de recolección de datos

“Hallazgos Citológicos de Muestras Cervicales y su Relación con los tipos moleculares del virus del Papiloma Humano”

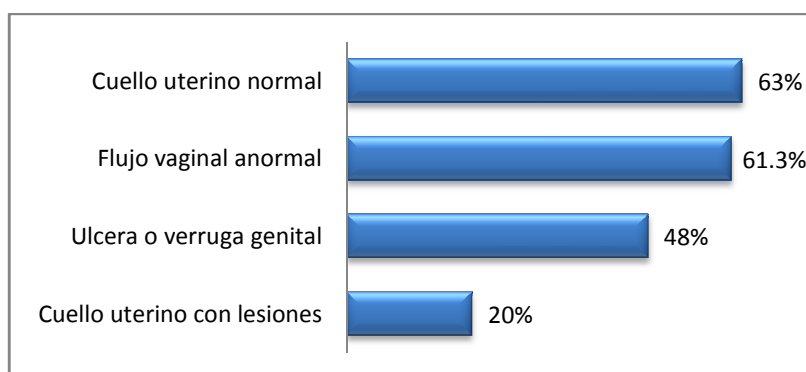
Los factores de riesgo son importantes ya que se ha observado que son determinantes en la progresión de la enfermedad, los factores de riesgo considerados en las participantes del presente estudio fueron: El uso de anticonceptivos orales que se presentó en un porcentaje de 61.7%(282/457), el inicio de vida sexual activa fue menor de los 20 años en un 22 %(103/457) de las pacientes estudiadas, la paridad con más de tres partos se presentó en un 20%(93/457), el fumado se presentó en un 17%(79/457), el 16%(73/457) de la población estudiada tuvo más de tres compañeros sexuales.(Ver gráfico 4)

Gráfico 4. Factores de riesgos encontrados en la población de estudio.



Al examinar a las pacientes los signos encontrados fueron: Cuello uterino normal 63.2%(289/457), Flujo vaginal anormal 61.3%(280/457), Verruga genital 48.1%(220/457),cuello uterino con lesiones 20%(92/457). (Ver gráfico 5).

Gráfico 5. Porcentaje de hallazgos clínicos encontrados en las pacientes estudiadas.

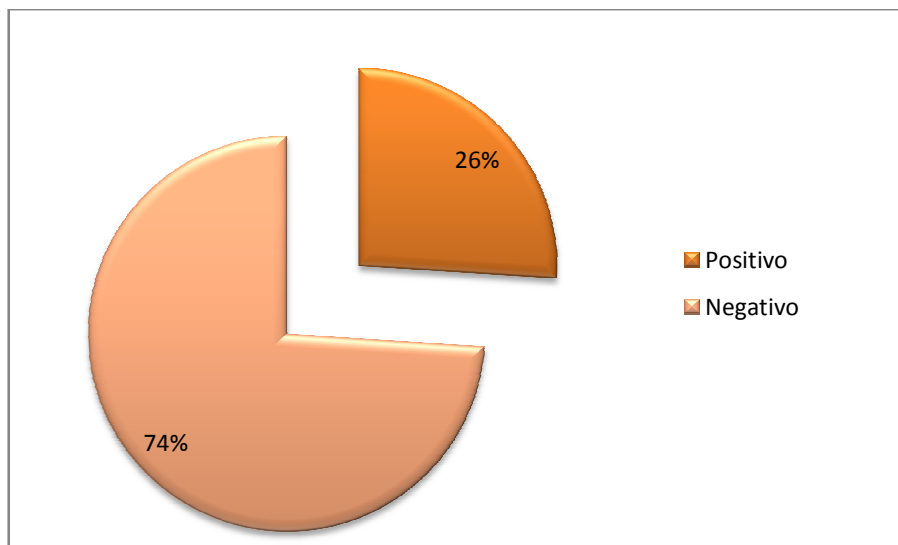


Fuente: Ficha de recolección de datos.

“Hallazgos Citológicos de Muestras Cervicales y su Relación con los tipos moleculares del virus del Papiloma Humano”

Al realizar la identificación del VPH mediante las técnicas de PCR e Hibridización se encontró que de un total de 457 muestras, el porcentaje de infección fue de un 26%(119/457) el 74%(338/457) de dichas muestras fueron negativas. (Ver gráfico 6).

Gráfico 6. Porcentaje de identificación para VPH de muestras mediante PCR



Fuente: Ficha de recolección de datos

“Hallazgos Citológicos de Muestras Cervicales y su Relación con los tipos moleculares del virus del Papiloma Humano”

Los genotipos del virus del papiloma humano más frecuentes identificados fueron: el genotipo 16 con 11.4%(17/149) de los casos, seguido del genotipo 53 con 9.4%(14/149), los genotipos 31y 52 con 8.7%(13/149) respectivamente y el genotipo 51 con un 8%(12/149).

En menor proporción se detectaron los genotipos: 39,40,66,56,74,45,54,68,35,44,58,59,70,33,18,34,43,6,73. (Ver tabla 1).

Tabla 1.Genotipos encontrados por Hibridización en las muestras estudiadas.

Genotipo	Frecuencia N	Porcentaje (%)
16	17	11.4
53	14	9.4
31	13	8.7
52	13	8.7
51	12	8
39	10	6.7
40	9	6
66	9	6
56	8	5.3
74	7	4.6
45	4	2.7
54	4	2.7
68	4	2.7
35	4	2.7
44	4	2.7
58	3	2
59	2	1.3
70	2	1.3
33	2	1.3
18	2	1.3
34	2	1.3
43	2	1.3
6	1	0.7
73	1	0.7
Total	149	100

Fuente: Ficha de recolección de datos

Del total de genotipos reportados los de alto riesgo representan un 64%(95/149) y los de bajo riesgo un 36% (54/149). (Ver Tabla 2 y 3)

“Hallazgos Citológicos de Muestras Cervicales y su Relación con los tipos moleculares del virus del Papiloma Humano”

Tabla 2. Genotipos de Alto Riesgo encontrados por Hibridización en las muestras estudiadas.

Genotipos de Alto Riesgo	Frecuencia N	Porcentaje (%)
16	17	11.4
31	13	9
52	13	9
51	12	8
39	10	6.7
56	8	5.3
45	4	2.7
68	4	2.7
35	4	2.7
58	3	2
59	2	1.3
33	2	1.3
18	2	1.3
73	1	0.7
Total	95	64

Fuente: Ficha de recolección de datos

Tabla 3. Genotipos de Bajo Riesgo encontrados Hibridización en las muestras estudiadas.

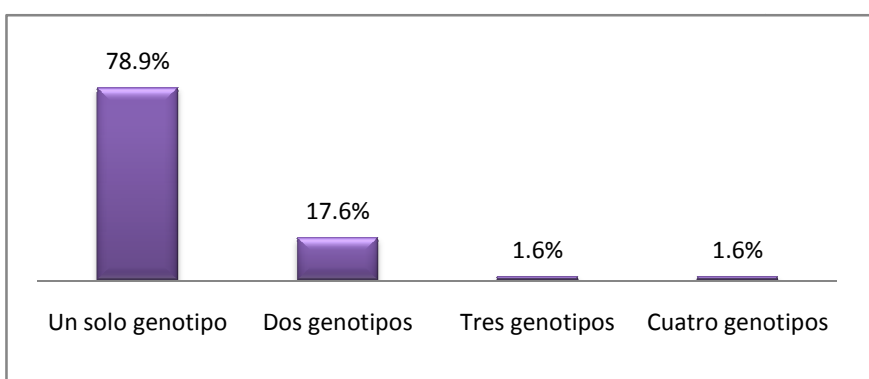
Genotipos de Bajo Riesgo	Frecuencia N	Porcentaje (%)
53	14	9.4
40	9	6
66	9	6
74	7	4.6
54	4	2.7
44	4	2.7
70	2	1.3
34	2	1.3
43	2	1.3
6	1	0.7
Total	54	36

Fuente: Ficha de recolección de datos.

“Hallazgos Citológicos de Muestras Cervicales y su Relación con los tipos moleculares del virus del Papiloma Humano”

La infección mixta por VPH se define para efecto de esta investigación como presencia de dos o más tipos del virus en el espécimen cervical de las participantes. Esta situación se presentó en un 21% (25/119) del total de muestras positivas. En el 78.9%(94/119) de los casos se presentó un solo genotipo, en un 17.6%(21/119) se presentaron dos genotipos, con tres y cuatro genotipos se identificó el 1.6% (2/119) respectivamente. (Ver Gráfico 7, ver anexo 2)

Gráfico 7. Distribución de las infecciones mixtas encontradas en la población de estudio.



Fuente: Ficha de recolección de datos

Al relacionar el grupo etario con los genotipos encontrados se puede observar que en los genotipos de alto riesgo prevalece el grupo etario de 15-29 años con un 24%, seguido del grupo de 30-39 años con 18.7%. El grupo de edad que prevaleció para los genotipos de bajo riesgo fue también el de 15 a 29 años con 16.7%. (Ver tabla 4)

Tabla 4. Grupo etareo y genotipos encontrados en la población de estudio.

Edad	Genotipos N(%)		Total N (%)
	Alto riesgo	Bajo riesgo	
15-29	36 (24)	25(16.7)	61(40.9)
30-39	28(18.7)	13(8.7)	41(27.5)
40-49	22(14.7)	11(7.3)	33(22.1)
>=50	11(7.3)	3(2)	14(9.3)
Total	97(65)	52(34.8)	149(100)

Fuente: Ficha de recolección de datos

“Hallazgos Citológicos de Muestras Cervicales y su Relación con los tipos moleculares del virus del Papiloma Humano”

Comparando los genotipos encontrados con los Hallazgos citológicos se puede observar que la atipia escamosa con inflamación severa predominó tanto en los grupos de alto y bajo riesgo con un 38.2 y 14.7%, seguido de la Inflamación Severa con un 14 y 11 % respectivamente. (Ver tabla 5)

Tabla 5. Cuadro comparativo de genotipos de alto y bajo riesgo con los hallazgos citológicos encontrados en la población de estudio

Hallazgos Citológicos	Genotipos N (%)		Total N (%)
	Alto Riesgo	Bajo Riesgo	
Inflamación Leve	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Inflamación Moderada	4(2.6)	3(2)	7(4.6)
Inflamación Severa	21(14)	17(11.4)	38(25.5)
Infección por VPH con inflamación severa	14(9.3)	9(6)	23(15.4)
Atipia escamosa con inflamación severa	57(38.2)	22(14.7)	79(53)
Inadecuado	1(0.6)	1(0.6)	2(1.3)
Total	97(65)	52(35)	149(100)

Fuente: Ficha de recolección de datos.

Al relacionar los hallazgos clínicos con los grupos de genotipos identificados se observó que: el flujo vaginal anormal se presentó con un mayor porcentaje en los genotipos de alto riesgo con 21.5 %, seguido de úlcera o verruga genital con 16.8%. En el grupo de bajo riesgo el flujo vaginal anormal se presentó con 12.4%, seguido de cuello uterino normal con 9.4%. Dentro de los hallazgos clínicos que se observaron en una menor proporción se encuentran: cuello uterino normal con 15.4 y 9.4% en genotipos de alto y bajo riesgo respectivamente; el cuello uterino con lesiones se presentó en un 10% para las pacientes con genotipos de alto riesgo y un 7.4% para las pacientes con genotipos de bajo riesgo. (Ver tabla 6)

Tabla 6. Hallazgos clínicos en las pacientes y genotipos de alto y bajo riesgo en la población de estudio.

Hallazgos Clínicos	Genotipo N (%)		Total N (%)
	Alto Riesgo	Bajo Riesgo	
Flujo vaginal anormal	64(21.5)	37(12.4)	101(34)
Úlcera o verruga genital	50(16.8)	20(6.7)	70(23.5)
Cuello uterino normal	46(15.4)	28(9.4)	74(24.9)
Cuello uterino con lesiones	30(10)	22(7.4)	52(17.5)
Total	190(63.9)	107(36)	297(100)

Fuente: Ficha de recolección de datos

“Hallazgos Citológicos de Muestras Cervicales y su Relación con los tipos moleculares del virus del Papiloma Humano”

Dentro de los factores de riesgos se consideraron aspectos de la vida reproductiva de la mujer, el fumado y el uso de anticonceptivos orales. Observándose que el inicio de vida sexual activa en edades menores de 20 años se presentó con un 27.8 (27/97) y 28.8%(15/52) para las mujeres con genotipos de alto y bajo riesgo respectivamente.

En el caso del número de compañeros sexuales como factor de riesgo el tener tres o más compañeros sexuales se presentó con 18.5 (18/97) y 13.4%(7/52) en mujeres con genotipos de alto y bajo riesgo.

En cuanto a la paridad el haber tenido tres o más partos se presentó con un 16.4%(16/97) en pacientes estudiadas con genotipos de alto riesgo y en un porcentaje menor con 7.6%(4/52) en mujeres con genotipos de bajo riesgo.

El fumado se presentó en 13.4%(13/97) de mujeres con genotipos de alto riesgo y 23%(12/52) en mujeres con genotipos de bajo riesgo.

El uso de anticonceptivos orales se presentó con proporciones de 56.7 (55/97) y 65.3%(34/52) para mujeres con genotipos de alto y bajo riesgo respectivamente. (Ver tabla 7).

Tabla 7. Distribución de los factores de riesgo ginecobstetricos, presencia de fumado y uso de anticonceptivos orales en las mujeres con genotipos de alto y bajo riesgo.

Factores de riesgo		Genotipos N (%)		Total
		Alto riesgo N= 97 (%)	Bajo riesgo N= 52(%)	
IVSA	<20	27 (27.8)	15(28.8)	42(28)
	21-30	55(56)	28(53.8)	83(55.7)
	>31	15(15.4)	9(17.3)	24(16)
Compañeros Sexuales	Uno	46(47)	32(61.5)	77(51.6)
	Dos	33(34)	13(25)	46(30.8)
	Tres o más	18(18.5)	7(13.4)	25(16.7)
Paridad	Nulípara	14(14.4)	12(23.8)	26(17.4)
	Un solo parto	54(55.7)	26(50)	80(53.6)
	Bigesta	13(13.4)	10(19.2)	23(15.4)
	Tres o más	16(16.4)	4(7.6)	20(13.4)
Fumado		13(13.4)	12(23)	25(16.7)
Uso de anticonceptivos orales		55(56.7)	34(65.3)	89(59.7)

Fuente: Ficha de recolección de datos

Discusión

En el presente estudio al igual que en muchas series^{15,16,19,22} encontramos que la presencia de infección del VPH por grupo de edad estuvo comprendida entre las edades de 15-29 años, seguido por el grupo de 30-39 años, constituyendo más del 67% de pacientes afectadas, este es un hallazgo muy importante ya que nos refleja que el grupo de infección corresponden a mujeres jóvenes y los programas de prevención del cáncer priorizan a mujeres mayores de 30 años; así lo refieren algunos estudios como el de Olga L Rincón y col. que mencionan que en las edades de mayor actividad sexual, la prevalencia de las lesiones subclínicas por VPH pueden afectar hasta en un 40% de la población femenina y luego se reduce según la edad aumenta³⁵

La procedencia de nuestra población de estudio fue en un 87% del área urbana y 12.9% del área rural, situación que se debe a que este estudio se realizó en los centros de salud y Hospital de la ciudad de León por lo que probablemente hubo poca accesibilidad de mujeres del área rural lo cual se observó en estudios previos realizados por D Illescas y col en el año 2004.¹⁵

En las participantes de este estudio la infección por cualquier tipo de VPH detectado por PCR fue del 26% muy similar a lo reportado por otros estudios que han utilizado técnicas moleculares, principalmente PCR e hibridación. Datos comparados en otras poblaciones como el estudio multicéntrico realizado en 22 países durante el período de 1985 a 1997 donde la prevalencia promedio de VPH fue de 13.7% entre los países participantes: Paraguay 19.8%, Brasil 17%, Colombia 13.3%, Tailandia 16% y Filipinas 9.2% países considerados como de alto riesgo cáncer cervicouterino.³⁶ En Noruega Oslen et al, reportaron el 15.4%³⁷, Becker y col en Nuevo México el 42.1%³⁸ en contraste con la baja prevalencia hallada por Peng y col en China con 1.4% país considerado de bajo riesgo para el cáncer cervicouterino³⁹. En México, Hernández y col detectaron el VPH 13.2% en el total de población⁴⁰.

La alta prevalencia encontrada en Nuevo México se atribuye a la procedencia de las pacientes de las clínicas de colposcopia.³⁸ Considerando los tipos de ADN de VPH mediante la técnica PCR empleada en este estudio, permitió la identificación de 24 genotipos, diez de ellos de bajo riesgo (6,34,40,43,44,53,54,66,70,74) y el resto de alto riesgo (16,18, 31,33, 35,39,45, 51, 52, 56,58,59,68,73) siendo comparable con un estudio realizado en Paraguay por Rolon y col, donde se detectaron 18 tipos diferentes de VPH.

Otro hallazgo importante en nuestra investigación fue la existencia de infecciones mixtas un: 17.6% de las pacientes presentaban dos genotipos, y el 1.6% presentaban tres y cuatro genotipos respectivamente, resultados comparados con otras investigaciones como en el estudio multicéntrico realizado en 22 países que en promedio detectaron dos o más tipos en el 7.3% de los casos. En Paraguay las infecciones mixtas se presentaron en el 18.6% de los casos⁴¹.

El hecho de que diferentes tipos de ADN de VPH estén presentes en el cérvix, podría considerarse que actúan de manera sinérgica, situación que no se presentó en esta investigación ya que aunque el riesgo de cáncer cervicouterino aumenta por la infección con dos tipos o más de VPH que con un solo tipo, no mostró diferencias en cuanto a un incremento en el riesgo de la presencia de lesiones de bajo grado o atipia escamosa en muestras cervicales de Papanicolau, esto es muy parecido a lo reportado en el estudio en Morocco en donde la infección con dos tipos de VPH fue más alto al hallado en un solo tipo, y no mostró diferencias estadísticas significativas⁴².

En este estudio los genotipos de VPH que más prevalecieron fueron los de alto riesgo, el tipo 16 fue el más frecuente con 11.4%, seguido del 31 y el 52 con un 9%. Resultados del VPH 16 aún mayores se han presentado en los casos de los estudios realizados en Morocco 71.6%⁴², Noruega 65.3%,³⁷ México 48.9%⁴⁰.

En cuanto a los resultados de citología los LIEBG (Infección por VPH con inflamación severa) se presentó en un 4% de la población estudiada. Las principales causas de esta aparente baja en el Diagnóstico citológico puede ser debida a un subregistro y a un gran número de casos contemplados en el reporte de citología cervical según la clasificación Bethesda de Atipia escamosa o células atípicas escamosas de importancia no determinada (ASCUS)²⁸. Siendo este último uno de los hallazgos que en este estudio se presentó en un 14.4% de las muestras; cabe señalar que el pronóstico de estas pacientes depende del grado de anormalidad encontrado en el cérvix, que abarca tanto procesos inflamatorios cuyo curso será benigno, como lesiones de alto grado e invasivas, asociado a VPH entre un 10 y 20 % pueden encontrarse NIC II y III y carcinoma invasivo en uno de cada mil reportes. Otras literaturas han reportado que aproximadamente el 11% de los ASCUS se transformarán en LIEBG y el 6% en LIEAG⁴³.

En nuestro estudio del total de muestras que presentaban por citología Atipia escamosa con inflamación severa el 38.2% presentó infección por Virus del Papiloma Humano de alto riesgo, así como las LIEBG (Infección por VPH) donde la infección por VPH de alto riesgo se presentó en un 9.3%. Lo que nos indica que es importante determinar si en este tipo de lesiones hay infección viral productiva y si

“Hallazgos Citológicos de Muestras Cervicales y su Relación con los tipos moleculares del virus del Papiloma Humano”

esta es ocasionada por virus de alto riesgo oncogenico, pues estas lesiones tendrían una alta probabilidad de progresar a un estadio neoplásico mayor⁴³.

Dentro de los hallazgos clínicos encontrados el flujo vaginal anormal se presento con un mayor porcentaje en los genotipos de alto riesgo con 21.5 %, seguido de ulcera o verruga genital con 16.8%. En el grupo de bajo riesgo el flujo vaginal anormal se presento con 12.4%, seguido de cuello uterino normal con 9.4%. Estos hallazgos se comparan con Tamayo S y col en Colima México, donde observaron que los signos con mayor porcentaje fueron flujo vaginal anormal y cuello uterino normal.⁴⁴

En cuanto a los factores de riesgo: los anticonceptivos orales, asi como el número de partos el cual es un factor que indican la exposición del cuello uterino al trauma. En este estudio se encontro que mas del 56 % de las pacientes con genotipos de alto riesgo tomaban anticonceptivos orales y solo 18% de las pacientes con genotipos de alto riesgo habian tenido mas de tres partos, por lo que se observa una probable asociación del uso de anticonceptivos con la infección por el virus de papiloma humano, este hallazgo es comparable con lo reportado con Chaouki y col en Morocco que asociaron al cáncer de cuello uterino con el uso de anticonceptivos orales y alta paridad⁴². A diferencia de lo reportado por Hernández y col en México al no encontrar asociación del uso de anticonceptivos orales y alta paridad con el cáncer cervicouterino⁴⁰.

La mujer esta expuesta desde su primera relación sexual y a lo largo de su vida sexual activa por lo que esto representa un factor de riesgo importante⁴⁴. En este estudio el inicio de vida sexual activa antes de los veinte años se presento en un 28% comparado con otros estudios similares como el de Hernández y col donde el inicio de relaciones sexuales antes de los 15 años estuvo relacionado con la presencia de cáncer invasor⁴⁰. Según Lazcano y col el inicio de vida sexual activa después de los 25 años es un factor protector⁴⁵.

El número de compañeros sexuales ha constituido uno de los principales factores de riesgo para la infección del VPH. En este estudio las mujeres que tuvieron tres o más compañeros sexuales representaron un 16% en infecciones tanto de alto como de bajo riesgo. En el estudio de Lazcano y col se observo que tener varias parejas sexuales aumenta el riesgo de infección por VPH en 2.2 veces mayor. El VPH cervical o vulvar fue determinado entre 17 y 21 % de las mujeres con una pareja sexual, pero se elevó de 69-83% en mujeres que tenían cinco o más parejas sexuales⁴⁵.

El hábito de fumar es otro factor de riesgo en controversia. En estudios anteriores se demostró su asociación con el cáncer cervicouterino y en los estudios más recientes no hay consistencia en dicha asociación. Las investigaciones realizadas en México⁴⁰, Filipinas⁴⁶, Morocco⁴², Tailandia⁴⁷ y Paraguay⁴¹ no detectaron

“Hallazgos Citológicos de Muestras Cervicales y su Relación con los tipos moleculares del virus del Papiloma Humano”

asociación entre el cigarrillo y el cáncer de cuello uterino. En este estudio se observó una probable asociación baja del fumado con la infección del VPH de alto riesgo en un 13% pero debemos de tomar en cuenta que la proporción de fumadoras en la población estudiada es baja.

Conclusiones:

1. La frecuencia de infección por diferentes tipos de VPH en las participantes fue de 26%, esta se presentó en edades tempranas el 67% ocurrió en menores de 39 años.
2. Se identificaron 24 tipos diferentes de VPH dentro de los cuales fueron: 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73 de alto riesgo y los de bajo riesgo: 6, 34, 40, 43, 44, 53, 54, 66, 70, 74. El genotipo de VPH que se encontró con mayor frecuencia fue: el tipo 16 con 11.4%, seguido del 31 y el 52 con un 9%.
3. Se encontraron infecciones mixtas por dos o más tipos de VPH en un 20.8% de los casos.
4. Los hallazgos citológicos encontrados con mayor frecuencia fueron las ASCUS, Inflamación severa y las LIEBG en las cuales se encontró una mayor proporción de asociación con VPH de alto riesgo.
5. Los hallazgos clínicos relacionados con los genotipos de alto riesgo en orden de presentación fueron: flujo vaginal anormal, presencia de verrugas genitales y cuello uterino normal.
6. Los factores de riesgo de probable asociación con la infección del VPH fueron: el uso de anticonceptivos orales y el inicio de vida sexual activa antes de los 20 años.

Recomendaciones.

1. Educación continúa a la población incluyendo edades tempranas para que sean participes directas de la prevención del Carcinoma Cervical.
2. En base a la evidencia encontrada, proponemos que se impulsen más estudios de seguimiento a las pacientes infectadas con virus del papiloma humano ayudado de técnicas complementarias, para determinar el tipo de virus (de bajo o alto potencial oncogénico), que afecta a nuestra población.
3. Implementar programas de control y seguimiento, de las pacientes diagnosticadas con infección por virus del papiloma humano.
4. Proponer estudios de vigilancia epidemiológica molecular con el objetivo de mantener un registro de los genotipos circulantes en la población para así que se puedan realizar futuras intervenciones de prevención con el uso de vacunas.

Referencias Bibliográficas

1. GLOBACAN 2000. Cancer Incidence, Mortality and Prevalance Worldwide, Ver 1.0, IARC CancerBase No 5. Lyon: IARC Press. 2001
2. WHO 2003. Global cancer rates could increase by 50% to 15 million by 2020. <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2003/pr27/en/>.
3. PAHO: Cervical cancer in Latin America and the Caribbean: Fact Sheet 2001. <http://www.paho.org/English/AD/DPC/NC/ccbriefsnapshot.pdf>).
4. Regional Core Health Data Initiative, Pan American Health Organization, 2003
5. Registro Nacional del Cáncer de Guatemala. Informes de años 1993 y 1994. Liga Nacional Contra el Cáncer, 1997.
6. Arroyo, G., Zetina, F, Villeda, M., Guerra, W., Gravitt, P., Daniel, R W, Kindilien, K, and Shah, KV. HPV and Risk Factors for Cervical Cancer in Guatemala. Manuscript in preparation.
7. Walboomers, J. M., M. V. Jacobs, M. M. Manos, F. X. Bosch, J. A. Kummer, K. Shah, P. J. Snijders, J. Peto, C. J. Meijer, and N. Munoz. 1999. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J. Pathol.* **189**:12-19
8. Clifford, G. M., J. S. Smith, M. Plummer, N. Munoz, and S. Franceschi. 2003. Human papillomavirus types in invasive cervical cancer worldwide: a meta-analysis. *Br. J. Cancer* 88:63-73.
9. Saiki, R.K., Scharf, S., Faloona, F., Müllis, K.B., Horn, G.T. Erlich, H.A. and Arnheim, N. 1985. Enzymatic amplification of α -globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. *Science* 230: 1350-1354.
10. Melchers WJ, Bakkers JM, Wang J, et al. 1999. Short fragment polymerase chain reaction reverse hybridization line probe assay to detect and genotype

“Hallazgos Citológicos de Muestras Cervicales y su Relación con los tipos moleculares del virus del Papiloma Humano”

a broad spectrum of human papillomavirus types. Clinical evaluation and follow-up. *Am J Pathol* 155:1473–8.

11. María del Refugio González Losa. Factores de Riesgo para Desarrollar la Infección por Virus del Papiloma Humano en un grupo de mujeres que acuden a la clínica de displasias del Hospital General de Colima. Facultad de Medicina Centro Universitario de Investigaciones Biomédicas. Colima Diciembre 2000.
12. M Paz Cañadas, B Lloveras y col 2006 Evaluación de las técnicas de detección de VPH en los programas de cribado para Cáncer de cuello uterino. *Salud pública de México* Vol. 48 No 5,
13. Ordi Jaume. Virus del papiloma Humano y Carcinogénesis Cervical. Departamento de Anatomía Patológica, Hospital Barcelona, 2008.
14. A Melo, S Montenegro y col 2003. Tipificación del Virus Papiloma Humano en lesiones preneoplásica y carcinoma de cuello uterino en mujeres de la IX Región de Chile. Departamento de Obstetricia y Ginecología Facultad de Medicina Universidad de la Frontera Temuco Chile.
15. D Illescas 2004. Detección de lesión de bajo y alto grado asociadas a Cáncer de cuello uterino en mujeres del departamento de León Nicaragua. Departamento de Bioquímica Facultad de Medicina Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua León.
16. D. Argueta 2007. Evolución de las pacientes diagnosticadas con infección por el Virus del Papiloma Humano. Departamento de Patología del HEODRA.
17. Boanerges Méndez Rojas. Estudio comparativo citológico e histológico del condiloma cervicouterino frecuencia y relación con lesiones pre malignas y malignas 1992-1994.
18. María del Pilar Arango A. El virus del Papiloma Humano. Facultad de Medicina, Universidad de Manizales, Archivos de Medicina No. 29, 2002.
19. Kaufman RH, Adam E, Vonka V. Infección por Virus del Papiloma Humano y Carcinoma Cervicouterino. Clínicas Obstétricas y Ginecológicas. McGraw-Hill Interamericana. Páginas 339-353, 2000.
20. Ackerman. Surgical Pathology. Eighth Edition. Volume two. Page 1353, 2003.

21. Sternbergs. *Diagnostic Surgical Pathology*. Fourth Edition. Volume 2. Page. 2,377, 1999.
22. Isabel Pachón del Amo y col. *Virus del papiloma humano, situación actual, vacunas y perspectivas de su utilización*. Grupo de trabajo de la Ponencia de Programa de Registro de vacunaciones, España 2007.
23. Koutsky LA, Ault KA, Wheeler CM, et al. A controlled trial of a human papillomavirus type 16 vaccine. *New England Journal of Medicine* 2002; 347(21):1645–1651.
24. Steinbrook R. The potential of human papillomavirus vaccines. *New England Journal of Medicine* 2006; 354(11):1109–1112.
25. Jonathan S. Berek. *Ginecología de Novak*. México, McGraw Hill Interamericana; 2003,(13):cap. 16.
26. Larry J. Coopeland. *Texto de Ginecología*. México, Editorial Médica Panamericana SA; 2003,(2):cap. 55.
27. Philip J. Disaia. *Oncología Ginecológica Clínica*. España, Mosby; 2002,(6):cap. 1 Solomon D., Davey D., Kurman R., Moniarty A., O’Connor D., Prey M., Raah S., Sherman M., et al.
28. The 2001 Bethesda System. Terminology for reporting results of cervical cytology. *JAMA* 2002;287(16):2114-2119.
29. Franco EI, Villa LL, Ruiz A. Indications, Interprétation du test HPV et des marqueurs Moléculaires. Springer Cap 3, page 169-187, 2006. Ross.
30. Kaye. Pawlina. *Histología Texto y Atlas color con Biología celular y Molecular*. Cuarta edición. Capítulo 22. Página 728.
31. Burd EM. Human Papillomavirus and cervical cancer. *Clin Microbiol Rev* 16; 1-17, 2003.
32. Quint, W. G., G. Scholte, L. J. van Doorn, B. Kleter, P. H. Smits, and J. Lindeman. 2001. Comparative analysis of human papillomavirus infections in cervical scrapes and biopsy specimens by general SPF (10) PCR and HPV genotyping. *J. Pathol.* **194**:51-5

“Hallazgos Citológicos de Muestras Cervicales y su Relación con los tipos moleculares del virus del Papiloma Humano”

33. Munoz, N., F. Bosch, S. de Sanjose, R. Herrero, X. Castellsague, K. Shah, et al. 2003. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *N. Engl. J. Med.* **348**:518-527
34. Moscicki AB. et. al. The natural history of Human Papillomavirus infection as measured by repeated DNA testing in adolescent and young women. *J. Pediatr* 132, 277-284, 1998.
35. Olga L. Rincón, BSc. Luis René Pareja, M.D, Sergio Jaramillo MD. Virus del Papiloma Humano, respuesta inmune y cáncer cervical: una relación compleja. *Rev. Colomb. Obstet. Ginecol* V.58 N.3 Bogotá Jul. / Set. 2007.
36. Bosch FX. Epidemiology of cervical cancer and VPH infections In: Muñoz M; Bosch FX, Sshah KV, Meheus A, editors. *The epidemiology of cervical cancer and human papillomavirus*. Lyon; Internacional Agency of Research on Cancer. IARC, Publicación No 119. P 53-56.
37. Oslen AO, Gjoen K, Sauer T , Osterstavig I, Naess O, Kjrulf K et al. Human papilomavirus and cervical intraepitelial neoplásica grade II-III : A population- Based case-control study. *Int J Cancer* 1995;61:312-315.
38. Becker TM, Wheeler CM, Mc Gough NS, Parmenter CA, Jordan SW, Stidle CA et al. Sexually transmitted diseases and other risk factor for cervical dysplasia among southwestern Hispanic and non- Hispanic whitw women. *J Am Med Assoc* 1994; 271:1181-1188.
39. Peng H, Liu S, Mann V , Rohan T , Rawls W. Human Papillomavirus types 16 and 33, herpes simplex virus type 2 and other risk factors for cervical cancer in Siichuan, China. *Int J Cancer* 1991; 47: 711-716.
40. Hernández AP, Lazcano PE, Alonso RP, Cruz VA, Meneses GF, Hernández AM. Análisis costo benefico del Programa Detección Oportuna del Cáncer Cervicouterino. *Salud Pública Méx* 1997; 39 (4): 379-387.
41. Rolón AP , Smith SJ , Muñoz M, Klug SJ, Herrero R, Bosch X, Llamosas F, Mejer CJLM and Valbomers JMM. Human Papilomavirus infection and invasive cervical cancer in Paraguay. *Int J Cancer* 2000;486-491.
42. Chaouki N, Bosh FX, Muñoz N, Meyer CILM; Guedolari, Ghazi EA, Deacon J, Castell sagué and wallboomers MMJ. The viral origin of cervical cancer en Rabat, Morocco *Int J Cancer.*ç
43. Juskevicius R. An analysis of factors that influence the ASCUS/ SIL ratio in pathologists. *Am J Clin Pathol*, 116: 331- 335, 2001.

“Hallazgos Citológicos de Muestras Cervicales y su Relación con los tipos moleculares del virus del Papiloma Humano”

44. Tamayo S y col. Asociación y predicción del Riesgo de lesión intraepitelial escamosa y cáncer cervicouterino en función de los factores: infección por el virus del papiloma humano, ginecobstétricos, comportamiento sexual, sociodemográficos y antecedentes genéticos en mujeres mayores de 15 años. Estado de Colima, México, 2002.
45. Lazcano PE, Alonso de Ruiz P, Salmeron J, Cisneros C, Hernández AM. Cervical Cancer Screening in Developing Countries: Why is it ineffective? Cases of Mexico. Arch Med Reseach 1999;240-250.
46. Ngelangel C, Muñoz N, Bosch FX, Limson MG, Festin RM, Deacon J, Jacobs VM, Santamaria M, Meijer CJLM, Walboomers MMJ. Causes of cervical cancer in the Philippines: a Case-Control Study. J Natl Cancer Inst January 7, 1998;90 (1):43-49.
47. Chichareon S, Herrero R, Muñoz M, Bosch FX, Jacobs VM, Deacon J, Santamaria M, Chongsuvivatwong V, Meijer CJLM, Walboomers JMM. Risk Factor for Cervical Cancer in Thailand a Case- Control Study. J Natl Cancer Inst January 7, 1998;90 (1):50-57.

“Hallazgos Citológicos de Muestras Cervicales y su Relación con los tipos moleculares del virus del Papiloma Humano”

ANEXOS

“Hallazgos Citológicos de Muestras Cervicales y su Relación con los tipos moleculares del virus del Papiloma Humano”



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE NICARAGUA

UNAN- LEON

CENTRO DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS (CEI)

DETECCION Y CARACTERIZACION MOLECULAR DEL VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO (HPV) EN MUESTRAS CERVICALES DE UNA POBLACION DE MUJERES ENTRE LAS EDADES DE 16 A 65 AÑOS DE LA CIUDAD DE LEON, NICARAGUA. SEPTIEMBRE-DICIEMBRE 2008

ENCUESTA:

DATOS GENERALES

Número de Identificación:

--	--	--

Fecha:

--	--	--

Iniciales

--	--

Centro de Salud o Clínica _____

Nombre y apellidos _____

Dirección del paciente:

_____ Ciudad: _____

Barrio _____ Teléfono _____

Ocupación: _____ Edad: _____

“Hallazgos Citológicos de Muestras Cervicales y su Relación con los tipos moleculares del virus del Papiloma Humano”

Escolaridad

Primaria	<input type="checkbox"/>	¿Cuantos años de escuela primaria?	<input type="text"/>
Secundaria	<input type="checkbox"/>	¿Cuantos años de secundaria	<input type="text"/>
Universitaria	<input type="checkbox"/>	¿Cuantos años de Universidad?	<input type="text"/>
Ninguna	<input type="checkbox"/>		

HISTORIA REPRODUCTIVA

¿Ha estado alguna vez embarazada? Si No

Total de partos: _____

Ha utilizado alguna vez:

Contraceptivos orales Si No

COMPORTAMIENTO SEXUAL

Inicio de vida sexual activa: _____ Número de compañeros sexuales _____

Ha fumado alguna vez? Si No

“Hallazgos Citológicos de Muestras Cervicales y su Relación con los tipos moleculares del virus del Papiloma Humano”

SINTOMAS ACTUALES

Usted ha tenido alguna vez:

Flujo vaginal anormal	Si	<input type="checkbox"/>	No	<input type="checkbox"/>
Úlcera ó verruga genital	Si	<input type="checkbox"/>	No	<input type="checkbox"/>
Cuello Uterino Normal	Si	<input type="checkbox"/>	No	<input type="checkbox"/>
Cuello con lesiones	Si	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

Médico/ Enfermera _____

DIAGNOSTICO CITOLOGICO

Diagnóstico citológico:

Resultado

Inflamatorio LIBG LIAG Carcinoma Negativo

“Hallazgos Citológicos de Muestras Cervicales y su Relación con los tipos moleculares del virus del Papiloma Humano”

RESULTADOS DE LABORATORIO

Resultado HPV ELISA

Positivo

Negativo

Genotipo HPV (LiPA)

Genotipo (16)	Genotipo (26)	
Alto riesgo (18)	Alto Riesgo (probable) (53)	
(31)	(66)	
(33)		
(35)		
(39)	(6)	
(45)	(11)	
(51)	(34)	Genotipo
(52)	(40)	Bajo Riesgo
(56)	(42)	
(58)	(44)	
(59)	(54)	
(68)	(55)	
(73)	(61)	
(82)	(62)	

Negativo

Encuestador _____ Fecha _____