

## UNIVERSIDAD DR. JOSÉ MATÍAS DELGADO

### RED BIBLIOTECARIA MATÍAS

### DERECHOS DE PUBLICACIÓN

DEL REGLAMENTO DE GRADUACIÓN DE LA UNIVERSIDAD DR. JOSÉ MATÍAS DELGADO

Capítulo VI, Art. 46

“Los documentos finales de investigación serán propiedad de la Universidad para fines de divulgación”

PUBLICADO BAJO LA LICENCIA CREATIVE COMMONS

Reconocimiento-NoComercial-CompartirIgual

<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/3.0/>



“No se permite un uso comercial de la obra original ni de las posibles obras derivadas, la distribución de las cuales se debe hacer con una licencia igual a la que regula la obra original.”

Para cualquier otro uso se debe solicitar el permiso a la Universidad

UNIVERSIDAD DR. JOSE MATIAS DELGADO  
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD "DR. LUIS EDMUNDO VASQUEZ"  
ESCUELA DE MEDICINA



TESIS PRESENTADA PARA OPTAR POR EL TITULO DE  
DOCTOR EN MEDICINA

**“PREVALENCIA DEL GENOTIPO 16 Y 18 DEL VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO  
(VPH) EN PACIENTES CON DIAGNOSTICO DE NEOPLASIA INTRAEPITELIAL  
CERVICAL DE ALTO GRADO (NIC 2 Y 3) O CANCER CERVICO UTERINO (CACU)  
EN EL HOSPITAL NACIONAL ESPECIALIZADO DE MATERNIDAD DR. RAUL  
ARGUELLO ESCOLAN (HNM)”**

AUTOR:

CRAIK TOBAR, DIEGO FEDERICO

ASESOR:

DR. MAURICIO ANTONIO MAZA SEGURA

ANTIGUO CUSCATLAN, LA LIBERTAD, FEBRERO 2014



## **AUTORIDADES**

Dr. David Escobar Galindo

**RECTOR**

Dr. José Enrique Sorto Campbell

**VICERRECTOR ACADEMICO**

Dr. Jose Nicolas Astacio Soria

**DECANO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD “DR. LUIS EDMUNDO  
VASQUEZ”**

Dr. José Roberto Fernández

**SECRETARIO DE FACSALEV**

## **TRIBUNAL CALIFICADOR**

Dra. Claudia Campos Caledonia

**PRESIDENTE**

Lic. María Isabel Giménez

**PRIMER VOCAL**

Dra. Aledia Mercedes Marroquín

**SEGUNDO VOCAL**

**ANTIGUO CUSCATLAN, LA LIBERTAD, FEBRERO 2014**

### ACTA DE EVALUACION DE TESIS POR EL JURADO N°

En la ESCUELA DE MEDICINA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD de la UNIVERSIDAD DR. JOSÉ MATÍAS DELGADO,  
a las 10 horas con 30 minutos del día 3 del mes de febrero de 2014  
reunidos los suscritos miembros del jurado examinador de la Tesis de Grado titulada:

TEMA:  
Prevalencia del Genotipo 16 y 18 del VPH en pacientes con Diagnostico de Neoplasia Intraepitelial Cervical de Alto Grado (nic 2 y 3) o cancer cervico Uterino en El Hospital Nacional Especializado de Maternidad Dr. Raul Arguello Escolan (HNM)

Presentada por el (los) la (s) egresados(as):

1. Diego Federico Craik Tobar
2. -----
3. -----

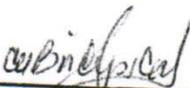
Para optar al Grado de:

DOCTORADO EN MEDICINA  
Respectivamente

**HACE CONSTAR QUE: Habiendo revisado y evaluado en forma individual su contenido escrito, de conformidad al Art. 41, 42 y 43 del Reglamento de Graduación ACORDARON DECLARARLA:**

**APROBADA SIN OBSERVACIONES**  
 **APROBADA CON OBSERVACIONES**  
 **REPROBADA**

No habiendo más que hacer constar, damos por terminada la presente acta que firmamos, entregando el original a la Secretaría de esta Unidad Académica.

  
Dra. Claudia Campos Caledonio  
Presidente

  
Lic. Maria Isabel Gimenez  
Primer Vocal

  
Dra. Aleida Mercedes Marroquin  
Segundo Vocal

# INDICE

AGRADECIMIENTOS .....	1
RESUMEN.....	2
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	3
JUSTIFICACION DEL PROBLEMA .....	4
DELIMITACION DEL ESTUDIO .....	6
OBJETIVOS .....	7
Objetivo General.....	7
Objetivos Específicos .....	7
MARCO TEORICO .....	8
VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO .....	8
Generalidades.....	8
Clasificación .....	9
Grupos de riesgo para infección por VPH.....	10
Diagnósticos de infección por VPH .....	11
CANCER CERVICOUTERINO .....	12
Definición .....	12
Epidemiología .....	13
Causas y factores de riesgo .....	13
Historia natural de la enfermedad.....	14
Manejo de lesiones pre-cancerosas.....	15
Histología.....	16
Estadificación.....	17
Pronostico.....	19
METODOLOGIA.....	20
Tipo de estudio .....	20
Población.....	20
Ubicación del estudio.....	20
Tamaño de la muestra.....	21
Selección de la muestra .....	21
Análisis estadístico.....	22
Criterios de inclusión .....	22

Criterios de exclusión .....	22
Variables.....	23
Instrumento .....	28
Validación técnica .....	29
Procedimiento para la recolección de la información.....	29
Toma de la muestra.....	30
Procedimiento para el envío y almacenamiento de las muestras .....	30
Envío.....	30
Almacenamiento.....	31
Procesamiento de las muestras en el laboratorio .....	31
RESGUARDO Y CONFIDENCIALIDAD DE LOS DATOS .....	32
RIESGOS Y BENEFICIOS DEL ESTUDIO.....	33
CONSIDERACIONES ETICAS .....	34
PROCESAMIENTO Y ANALISIS DE MUESTRAS.....	35
RESULTADOS .....	41
ANALISIS Y DISCUSION .....	56
CONCLUSIONES: .....	61
RECOMENDACIONES: .....	63
ANEXOS.....	64
REFERENCIAS .....	82

## **AGRADECIMIENTOS**

Deseo agradecer antes que nada a Dios Todopoderoso que me ha permitido dar un nuevo paso en mi vida profesional.

Quiero además, dar gracias a mis padres por el apoyo incondicional que me han brindado a lo largo de mi carrera, mi vida profesional y personal.

Especial agradecimiento a Dra. Miriam Cremer, Dr. Mauricio Maza, Dra. Karla Alfaro y Dra. Dalia Saravia por guiarme durante este último año y por hacer posible la realización de esta investigación. Además quiero agradecer a todo el personal de Basic Health International por su incondicional apoyo de todos los días.

Al Sr. Director del Hospital Nacional de Maternidad Dr. Roberto Sánchez Ochoa y a los médicos consultantes del departamento de Colposcopia, Dra. Mirna Roldan, Dra. Aurora Velásquez, Dra. María Eugenia Jiménez y Dr. Alexander Bonilla por su voto de confianza y su inmenso aporte a este estudio. Además quiero agradecer al personal de enfermería de esta institución por su invaluable apoyo durante todo el proyecto.

Al personal de la Universidad Dr. José Matías Delgado, Dr. Carlos Flores, Lic. María Isabel Giménez y Lic. Vanesa Valle por su guía y por compartir todos sus conocimientos y experiencias con mi persona, permitiendo así el enriquecimiento del estudio y de la ciencia nacional.

Finalmente, estoy agradecido con todas aquellas personas que me han respaldado durante la realización de este trabajo de investigación y a lo largo de toda mi carrera.

## RESUMEN

El Cáncer cervical es el cuarto cáncer más común en mujeres alrededor del mundo. En nuestro país, el cáncer cervical es el más frecuente entre las mujeres, seguido por el cáncer de mama. A pesar de que ya está disponible una vacuna profiláctica muy eficaz frente a dos de los genotipos más carcinógenos del virus del papiloma humano (VPH 16/18), los cuales causan alrededor del 70% de los cánceres de cuello uterino, la vacunación todavía no se realiza en la mayoría de los países en desarrollo.

La siguiente investigación identifico la presencia de VPH en los sujetos en estudio y determino la prevalencia de los genotipos 16 y 18 del Virus del Papiloma Humano en pacientes con lesiones pre-cancerosas o cáncer cervical que fueron referidas al Hospital Nacional de Maternidad. Además se realizó una recolección de datos demográficos y antecedentes personales los cuales se utilizaron para identificar el perfil epidemiológico de las pacientes con dichas lesiones.

## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El cáncer cervicouterino (CACU) es el cuarto cáncer más común en mujeres alrededor del mundo, y más del 80% de los casos se diagnostican en mujeres que residen en países en vías de desarrollo; el cáncer de cuello uterino causa el 15% de los cánceres en la mujer y ocupa la primera o segunda posición en cánceres en la mujer en 13 de las 23 regiones en el mundo. En Centro América ocupa el segundo lugar, siendo el cáncer de mama el más común. <sup>(1)</sup> En El Salvador el cáncer invasivo de cuello uterino es el principal cáncer en la mujer con una incidencia de 35.4/100,000 por año y con un índice de mortalidad del 17.4/100,000 por año, representa la principal causa de muerte en mujeres por enfermedades neoplásicas. <sup>(1)</sup>

La infección con el Virus del Papiloma Humano (VPH) es necesaria para el desarrollo de cáncer cervicouterino, aunque rara vez conduce a este resultado. Más de 118 diferentes genotipos de VPH han sido identificados, alrededor de 40 de ellos infectan el área genital, sin embargo se ha comprobado que solamente 12 de ellos son carcinogénicos <sup>(2 y 3)</sup> y 6 más son probablemente de alto riesgo <sup>(4)</sup>. La distribución de los genotipos de VPH en el cáncer invasivo de cérvix ha sido reportada en varios países. En un estudio multinacional llevado a cabo en el año 2010 se logró identificar que los 8 genotipos más comunes de VPH causantes de cáncer invasivo de cérvix son el 16, 18, 31, 33, 35, 45, 52 y 58 causando estos el 91% de todos los cánceres de cérvix y de estos, destacan el 16 y el 18 los cuales causan el 71%. <sup>(5)</sup> A nivel nacional, no existe estudio alguno que nos refleje la distribución de los genotipos más comunes de VPH en pacientes con diagnóstico de CACU o lesiones pre malignas, por lo que en esta investigación se intentara detectar e identificar los genotipos más comunes de este virus en muestras cervicales de pacientes con diagnóstico histopatológico de CACU y Neoplasia Intraepitelial cervical de alto grado.

## JUSTIFICACION DEL PROBLEMA

La Organización Mundial de la Salud (OMS), por medio de varias investigaciones, reconoce que la infección persistente con el VPH con los genotipos de alto riesgo son los principales causantes del CACU. Puesto que anualmente mueren de cáncer cervicouterino cerca de 250,000 mujeres, este es un grave problema de salud pública. La incidencia de cáncer cervicouterino no tiene una distribución uniforme alrededor del mundo. El problema es mayor en África y Asia y afecta a Europa y a América del Norte en menor grado. Esta diferencia se debe en parte a los mejores programas de prevención de cáncer existentes en los países desarrollados para detectar el estado precanceroso del cuello uterino y tratarlo de una manera oportuna. Como consecuencia, la mayor carga de mortalidad por cáncer de cérvix se observa en países con recursos limitados. Esta situación presenta un contraste con otros tipos de cáncer, en los cuales hay poca diferencia o en donde la carga es mayor en el mundo desarrollado. El cáncer cervicouterino es la causa más común de mortalidad por cáncer en países en vías de desarrollo.

En El Salvador, el CACU es el más frecuente entre las mujeres. Cada año alrededor de 1145 mujeres son diagnosticadas con esta enfermedad y alrededor de 563 mueren por su causa. En nuestro país la incidencia por cáncer de cérvix es de 35.4/100,000 mujeres por año, en comparación al 20.6 en América Central y el 15.8 a nivel mundial. La tasa de mortalidad por esta enfermedad en El Salvador es de 17.4% la cual es también superior a la correspondiente a Centro América (10.1%) y al mundo entero (8.2%).

Al día de hoy, ya está disponible una vacuna profiláctica muy eficaz frente a dos de los genotipos más carcinógenos del virus del papiloma humano (VPH 16/18), los cuales como se mencionó anteriormente son los responsables de causar el 71% de los cánceres de cuello uterino. En un país en vías de desarrollo sería de vital importancia ya que miles de mujeres podrían verse beneficiadas con ella. Es de suma importancia investigar sobre los genotipos de VPH a nivel nacional ya que con estos datos se podrá demostrar cuales son los más comunes en nuestra área y así abogar y reforzar

estrategias para la prevención de esta enfermedad, como lo es la inmunización con la vacuna del VPH.

## **DELIMITACION DEL ESTUDIO**

El estudio es prospectivo analítico observacional y se contó con la colaboración de las pacientes que fueron referidas al Hospital Nacional de Maternidad con diagnóstico histopatológico de NIC 2, NIC 3 o CACU. Al ser este un estudio analítico, pretende evaluar una relación entre un factor de riesgo y un efecto. Es decir, se pretende identificar al genotipo más común del VPH causante de lesiones pre malignas y Cáncer Invasivo de Cérvix en el grupo de mujeres a estudiar.

Se completó un instrumento por medio de una breve entrevista a las pacientes, posteriormente se revisó el expediente clínico para poder obtener algunos datos como las fechas y resultados de citología y luego se procedió a la toma de una muestra cervical con un cepillo especial para pruebas de identificación de VPH. Se debe señalar que previo a la inclusión de las pacientes al estudio se realizó el llenado adecuado de un consentimiento informado en el cual se le explico al sujeto el propósito de la investigación y el invaluable aporte de parte de ellas a este estudio.

# **OBJETIVOS**

## **Objetivo General**

Determinar la prevalencia de los genotipos 16 y 18 del VPH en pacientes evaluadas en el Hospital Nacional de Maternidad “Dr. Raúl Arguello Escolán” durante el periodo de Agosto a Diciembre del año 2013.

## **Objetivos Específicos**

1. Determinar por medio de PCR la presencia del VPH en mujeres con NIC 2, NIC 3 y CACU.
2. Determinar por medio de PCR si los genotipos de VPH 16 y 18 son los más comunes en pacientes con lesiones de alto grado y cáncer invasivo de cuello uterino.
3. Identificar el perfil epidemiológico en pacientes con lesiones NIC 2, NIC 3 y CACU.
4. Establecer conocimientos, actitudes y prácticas de las pacientes con respecto al VPH, citología cervico vaginal y cáncer de cuello uterino.
5. Realizar una correlación cito-histopatológica de las pacientes involucradas en el estudio.

# MARCO TEORICO

## VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO

### Generalidades:

El Virus del Papiloma Humano (VPH) posee ADN. Constituye un grupo heterogéneo de virus que pertenecen a la familia de los Papillomaviridae. Es un virus con ADN de doble cadena con capsida icosaédrica, que es capaz de infectar células epiteliales <sup>(6)</sup>. El VPH ha sido conocido públicamente como el virus de las verrugas y mucha gente desconoce que es el principal causante del CACU. En años anteriores se pensaba que solo existía un tipo de este virus, sin embargo con el desarrollo de nuevas técnicas de biología molecular se ha logrado reconocer muchos genotipos diferentes, los cuales producen enfermedades a nivel de la piel y membranas mucosas del humano.

Existen alrededor de 120 genotipos diferentes de este virus <sup>(7)</sup>. Cada uno de ellos se asocia a una lesión clínica específica y también a un sitio anatómico de preferencia, de acuerdo al tipo de epitelio. Entre los genotipos más comunes existen el VPH 6 y 11 que son los que usualmente causan verrugas benignas. Además también existen los genotipos VPH 16 y 18 quienes están más relacionados al CACU por tener alto grado de oncogenicidad. Aparte de conocer que el VPH es causante de CACU también se asocia a otros tipos de cáncer, entre ellos el cáncer oro-faríngeo, cáncer de pene, cáncer de ano, cáncer de vagina y cáncer de vulva. <sup>(8)</sup>

Las infecciones por VPH son inicialmente asintomáticas en la mayoría de personas, la transmisión puede ocurrir desde antes que el virus se manifieste en el huésped (huéspedes asintomáticos) <sup>(9)</sup>. Para que se dé el desarrollo y el crecimiento del virus es necesaria la presencia de un epitelio diferenciado. La presencia de traumas y abrasiones son factores locales del epitelio que favorecen la proliferación del virus.

El genoma del virus está organizado de forma similar en todos los genotipos y comprende 3 regiones fundamentales. La primera es la región E (temprana o early), la siguiente es la región L (tardía o late) las cuales ambas codifican proteínas. Por último se encuentra la región LCR, que es la gran región de control, localizada entre las

regiones E y L y la cual actúa en la regulación de la transcripción de los genes virales.  
(10)

La región temprana es la encargada de codificar las proteínas E. Estas proteínas son las encargadas de la replicación del ADN, de la persistencia del genoma del virus y de la transformación celular por lo que se considera como la región más importante en la patogénesis del cáncer invasivo <sup>(11)</sup>. Dentro de las proteínas E, las de mayor importancia para el desarrollo del cáncer son las proteínas E6 y E7 ya que su expresión genética está directamente relacionada con la malignidad del tumor y es por esto que se consideran oncoproteínas. Cada una de estas oncoproteínas tiene la capacidad de realizar una función. La proteína E6, tiene la capacidad de adherirse a la proteína P53 la cual es un regulador negativo del crecimiento de las células y además un supresor de tumores. Por otro lado la proteína E7 inactiva la proteína Rb la cual también es un regulador negativo del crecimiento celular. En los VPH de bajo riesgo, las proteínas E6 y E7 tienen menor afinidad para unirse a las proteínas P53 y Rb, por lo que son genotipos menos oncogénicos <sup>(11, 12)</sup>.

Alrededor de 40 genotipos del VPH infectan el área ano genital y son transmitidos por contacto sexual. Estos representan la infección de transmisión sexual más común del mundo <sup>(13, 14, 15, 16)</sup>. Hasta el momento se han identificado 18 genotipos los cuales se dice son oncogénicos <sup>(17)</sup>.

### **Clasificación:**

La infección por VPH puede causar una amplia variedad de condiciones clínicas que van desde pequeñas lesiones en la piel hasta el cáncer. Una de las clasificaciones más conocidas se basa en dividir los genotipos del VPH por el sitio en el cual ellos causan una enfermedad. En cuanto a esta clasificación los tipos de VPH se clasifican en los que causan lesiones cutáneas y los que causan lesiones a nivel de mucosas <sup>(18, 19)</sup>.

Las lesiones benignas de la piel se consideran en su mayoría verrugas cutáneas, que pueden ser verrugas planas, plantares o comunes y son causadas en su mayoría por los genotipos de VPH 1, 2, 3 y 10<sup>(18, 19)</sup>.

Por otro lado existen los genotipos que causan lesiones en mucosas. Unos de ellos causan lesiones benignas, como el VPH 6 y 11, otros de ellos se asocian a lesiones malignas desde hace más de 3 décadas<sup>(20)</sup> y se consideran genotipos oncogénicos. Se han identificado 18 genotipos los cuales han sido clasificados como carcinogénicos y se han dividido en tres diferentes categorías:

- De mayor alto riesgo: HPV 16, 18, 31 y 45
- De alto riesgo: 33, 35, 39, 51, 52, 56, 58 y 59
- De probable alto riesgo: 26, 53, 66, 68, 73 y 82<sup>(4, 17, 21)</sup>

### **Grupos de riesgo para infección por VPH:**

La transmisión del VPH se relaciona generalmente con la actividad sexual. La infección de este virus se da por contacto físico con la piel y membranas mucosas de la persona infectada.

La edad es otro factor importante que aumenta el riesgo de contraer una infección por VPH<sup>(23, 24)</sup>, ya que esta infección ocurre más comúnmente en mujeres jóvenes y sexualmente activas entre 18 y 30 años de edad debido a que la actividad metaplasica entre el epitelio escamoso y columnar ocurre durante la pubertad y el primer embarazo<sup>(25)</sup>.

## **Diagnósticos de infección por VPH:**

Muchas de las infecciones por VPH cursan de forma asintomática y desaparecen al cabo de 5 años. Algunas otras infecciones pueden progresar gradualmente y al cabo de 15 años, en conjunto con otros factores progresar a una enfermedad mucho más severa como es el CACU. Debido a esto, la detección temprana y el tratamiento temprano del VPH es crucial para la prevención de enfermedades neoplásicas causadas por este virus.

Por muchos años, la citología cervical ha sido el método más común y globalmente utilizado para detectar lesiones malignas y cambios morfológicos en las células cervicales, causadas por una infección de VPH de alto riesgo. Recientemente nuevas técnicas de biología molecular que detectan secuencias de ADN del VPH han sido introducidas y han sido de mucho beneficio para la detección temprana y la prevención de enfermedades malignas y para reducir la tasa de incidencia y de mortalidad por CACU.

- **Reacción en cadena de la Polimerasa:** Conocida como PCR por sus siglas en inglés, es una técnica de biología molecular que se desarrolló en los años ochenta por Kary Mullis <sup>(26)</sup> y que tiene como objetivo obtener una gran cantidad de copias de un fragmento de ADN a partir de una única copia original. La técnica de PCR genera una amplificación de los fragmentos de ADN y posteriormente es mucho más sencillo identificar diferentes tipos de virus o bacterias causantes de diferentes enfermedades.

El método de la PCR se basa en la separación de la doble cadena de ADN las cuales son complementarias y que cada una de ellas sirva como molde para obtener dos cadenas de ADN y que cada una de ellas este formada por una cadena original y una cadena complementaria que acaba de ser sintetizada. Este proceso es realizado por una enzima llamada DNA polimerasa.

El método de PCR involucra 3 pasos cruciales para llevar a cabo la técnica. El objetivo del primer paso es separar las cadenas de ADN y que estas estén listas para el apareamiento. Este paso se conoce como desnaturalización de ADN y ocurre cuando las uniones Hidrogeno de las bases se rompen al incubar a altas

temperaturas (92 a 98 grados centígrados) por 30 a 90 segundos. La segunda etapa se conoce como fase de alineamiento. En esta fase, las bases complementarias se re asocian espontáneamente al descender la temperatura y de esta manera se forman las hebras de doble cadena de ADN. La etapa de extensión es la tercera fase de este ciclo y ocurre a una temperatura intermedia. En esta etapa se da la separación de las nuevas cadenas de ADN y un nuevo alineamiento para formar nuevas cadenas de doble hélice de ADN. Estas 3 etapas constituyen un ciclo y el método de la PCR requiere de entre 30 a 50 ciclos para terminar el proceso de amplificación <sup>(27)</sup>.

Al finalizar con el proceso de PCR, es necesario realizar el análisis del producto con métodos adecuados para cada caso en particular. El método más utilizado es el análisis por medio de electroforesis en medio de agarosa o poliacrilamida, en la cual se observa el movimiento de las moléculas en un campo eléctrico. Posterior a esto se realiza una visualización del producto de la PCR con una lámpara de luz UV.

## **CANCER CERVICOUTERINO**

### **Definición:**

El cuello uterino es un órgano susceptible a padecer infecciones por Virus del Papiloma Humano. Estas infecciones por VPH pueden evolucionar a una neoplasia, si el tipo de virus que esta presenta es un tipo carcinogénico. La evolución de las infecciones por VPH a cáncer cervico uterino puede evitarse si se toman las medidas preventivas adecuadas. Una neoplasia es una masa anormal de tejido que tiene un crecimiento excesivo, y el cual no está acorde al crecimiento de los tejidos normales. Este crecimiento anormal, persiste aun cuando el estímulo que inicio el cambio ya no esté presente <sup>(28)</sup>. El cáncer invasor del cuello uterino, se define como la proliferación no controlada de células neoplásicas que se originan habitualmente a nivel de la unión

escamocolumnar del cuello uterino y reemplazan las células de las capas basales, por efecto mutagénico de algunos tipos del VPH. El cáncer invasor tiene la característica de ser fácilmente sangrante, de aspecto granular y ulcerado. Este al volverse invasivo, puede desarrollar crecimientos exofíticos (en forma de coliflor) y/o lesiones endocervicales para posteriormente extenderse a otros sitios.

### **Epidemiología:**

En El Salvador no existen datos acerca de la prevalencia del VPH. Los datos que se utilizan son estimaciones hechas por la Organización Mundial de Salud y el Instituto Catalán de Oncología en base a datos recopilados a nivel regional para Centro América durante el año 2010.

El Salvador tiene una población de 2.41 millones de mujeres mayores de 15 años quienes están en riesgo de estar expuestas al VPH. Estimados actuales indican que alrededor de 1,145 mujeres son diagnosticadas con CACU y alrededor de 563 mueren de esta enfermedad. Por lo cual, ubica este cáncer en el primer lugar en incidencia y mortalidad en mujeres <sup>(1)</sup>.

### **Causas y factores de riesgo:**

En la actualidad, el principal factor causal relacionado al desarrollo del cáncer de cérvix es la infección persistente por el Virus del Papiloma Humano <sup>(29)</sup> de Alto Riesgo.

Además una gran cantidad de datos epidemiológicos han establecido los siguientes factores de riesgo para el desarrollo de esta neoplasia cervical, todos los cuales indican una compleja interacción entre el huésped y el virus. Estos factores de riesgo <sup>(30, 31, 32, 33, 34, 35, 36)</sup> son:

- Edad temprana en la primera relación sexual
- Múltiples parejas sexuales
- Gran paridad

- Compañero con múltiples parejas sexuales previas
- Presencia de un cáncer asociado al VPH
- Detección persistente de VPH de alto riesgo
- Exposición prolongada a ACO'S
- Tabaquismo
- Co-infección por el VPH y otro agente de transmisión sexual en especial Chlamydia Trachomatis y Virus 2 de Herpes Simple
- Grupos socioeconómicos bajos
- Nunca haberse practicado una citología
- Inmunosupresión (particularmente por infección con VIH)
- Desnutrición

**Historia natural de la enfermedad:** <sup>(37)</sup>

La razón por la cual es tan importante el tamizaje de CACU, es porque esta es una patología que es precedida por una lesión precancerosa. Estas lesiones pueden existir en un estadio no invasivo hasta durante 20 años y mostrar células anormales que pueden detectarse en exámenes de tamizaje.

Las etapas que son necesarias para que dé inicio la carcinogénesis cervical son la infección con el VPH, la persistencia de la infección con VPH por un largo periodo de tiempo, la progresión hacia una lesión pre maligna y posteriormente la invasión <sup>(16)</sup>. El VPH es una enfermedad de transmisión sexual la cual no causa ningún síntoma, por lo que casi siempre es una infección la cual persiste por muchos años antes de que la paciente se dé cuenta. Cuando se da este caso, inicia un crecimiento anormal de las células escamosas del cuello uterino a lo que se le denomina Neoplasia Intraepitelial Cervical (NIC). La mayoría de los casos de NIC se resuelven por si mismos cuando estos son de bajo grado, los de alto grado, se resuelven en un porcentaje menor y con tratamientos oportunos la mayoría de los casos se logran curar, sin embargo un porcentaje de ellos progresan a cáncer cervical.

Las neoplasias intraepiteliales cervicales se pueden clasificar en 3 distintos grados los cuales se diferencia por el grosor de la invasión de las células escamosas al epitelio cervical normal.

- NIC 1 es el de menor grado y el de menor riesgo, es considerado como una lesión de bajo grado y solamente representa un crecimiento celular anormal
- NIC 2 es considerado como una lesión de alto grado y se observa cuando las células escamosas han invadido hasta dos tercios del epitelio cervical normal
- NIC 3 es también considerada como una lesión de alto grado, también llamada displasia severa. Se da cuando las células escamosas cubren más allá de dos tercios del epitelio cervical. Esta lesión es considerada ya como una lesión pre cancerosa o carcinoma in situ.<sup>(38, 39)</sup>

El cáncer de cérvix se presenta de forma asintomática en sus estadios tempranos, las pacientes con lesiones intraepiteliales por lo general no presentan síntomas y cuando los hay, suelen deberse a una enfermedad ginecológica asociada. En estadios avanzados, el sangrado vaginal anormal es el síntoma más común del cáncer.

El flujo vaginal mal oliente y abundante se da especialmente cuando la enfermedad ya está más avanzada, este por lo general es sanguinolento, purulento y no causa prurito. La dispareunia y el dolor pélvico pueden estar presentes, sin embargo el dolor no es un síntoma habitual. La debilidad, la pérdida de peso y la anemia son características de la última etapa de la enfermedad.

### **Manejo de lesiones pre-cancerosas:**

Previo a que estas lesiones puedan evolucionar a un CACU, existen diferentes procedimientos muy efectivos para la prevención del cáncer cervical. Estos procedimientos se realizan en nuestro entorno, dependiendo de los recursos con los que cuente el centro de atención, sin embargo los más utilizados son la crioterapia y el cono LEEP.

- Crioterapia: este es uno de los métodos utilizados más comunes en nuestro país, el cual por medio de congelamiento destruye el tejido anormal y las lesiones pre cancerosas. Comúnmente se utiliza dióxido de carbono u óxido nítrico, el cual fluye a través de una sonda que se coloca en área del cuello uterino y genera la destrucción del tejido. Este procedimiento puede ser incomodo sin embargo la mayoría de pacientes no reflejan dolor alguno.
- Escisión Electro-quirúrgica con asa: también conocido como cono LEEP por sus siglas en inglés. Es otro procedimiento seguro y eficaz para prevenir el cáncer cervical el cual elimina el tejido anormal utilizando un asa de alambre fino que transmite corriente eléctrica. Este procedimiento se realiza con la ayuda de un colposcopio para obtener una mejor visualización del cuello uterino, cuando se identifica la zona de tejido anormal se realiza un corte y se extrae la porción del tejido el cual es posteriormente enviado para análisis histopatológico.

### **Histología:**

La Organización Mundial de la Salud (WHO) reconoce dos tipos histológicos principales de cáncer invasivo: <sup>(40)</sup>

- Carcinoma de células escamosas (constituye cerca del 85% de los casos). Estos son a su vez clasificados según la presencia de queratina o no. Los carcinomas queratinizados pueden ser bien diferenciados y están compuestos de grandes células tumorales, los no queratinizados son pobremente diferenciados y pueden ser de celular grande o pequeña.
- Adenocarcinoma (constituye cerca del 10 al 12 % de todos los casos). Estos son menos frecuentes y a pesar que cada tipo es diferente histológicamente no es infrecuente que dos o más formas de adenocarcinoma se encuentre en el mismo tumor. El tipo de adenocarcinoma más frecuentemente encontrado en el cuello uterino es el adenocarcinoma mucinoso de tipo endocervical y este puede ser bien diferenciado, moderadamente diferenciado o pobremente diferenciado

dependiendo de la semejanza de las células tumorales al epitelio del endocervix normal.

- Carcinoma adenoescamoso, adenoquistico y metastasico (constituyen solamente el 3 a 5 % de todos los casos)

### **Estadificación:**

La estadificación del cáncer cervical según las últimas actualizaciones de la Federación Internacional de Ginecología y Obstetricia (FIGO) es la siguiente <sup>(41)</sup>:

#### **ESTADIO 1**

**I** Carcinoma cervical confinado al útero (la extensión al cuerpo no debe ser tomada en cuenta).

**IA** Carcinoma invasor diagnosticado sólo mediante microscopía. Invasión del estroma con una profundidad máxima de 5 mm y una extensión horizontal  $\leq$  a 7 mm. El compromiso del compartimento vascular, venoso o linfático no afecta la clasificación.

**IA1** Invasión estromal  $\leq$ 3 mm en profundidad y  $\leq$ 7 mm de extensión horizontal.

**IA2** Invasión estromal  $>$  3 mm y  $\leq$ 5 mm en profundidad, con una extensión horizontal  $\leq$  a 7 mm.

**IB** Lesión clínicamente visible confinada al cuello uterino o lesión microscópica mayor que T1a/IA2.

**IB1** Lesión clínicamente visible  $\leq$ 4 cm en su mayor diámetro.

**IB2** Lesión clínicamente visible > 4 cm en su mayor diámetro.

## **ESTADIO 2**

**II** Carcinoma cervical que invade más allá del útero, pero no compromete la pared pélvica o el tercio inferior de la vagina.

**IIA** Tumor sin invasión de parametrios.

**IIA1** Lesión clínicamente visible  $\leq 4$  cm en su mayor diámetro.

**IIA2** Lesión clínicamente visible > 4 cm en su mayor diámetro.

**IIB** Tumor con invasión de parametrios, sin llegar a la pared pelviana.

## **ESTADIO 3**

**III** Tumor que se extiende a la pared pélvica y/o compromete el tercio inferior de la vagina y/o causa hidronefrosis o alteración de la función renal.

**IIIA** El tumor compromete el tercio inferior de la vagina, sin extensión a la pared pélvica.

**IIIB** El tumor se extiende a la pared pélvica y/o causa hidronefrosis o alteración de la función renal.

## **ESTADIO 4**

**IVA** El tumor invade la mucosa de la vejiga o del recto y/o se extiende más allá de la pelvis (el edema bulloso no es suficiente para clasificar un tumor como T4).

**IVB** Extensión a los órganos distantes.

### **Pronostico:**

El pronóstico de esta enfermedad depende mucho de lo avanzado que esta se encuentre a la hora de su diagnóstico. La mayoría de los casos, deberían de ser detectados en etapas muy tempranas por medio de pruebas de tamizaje como la citología.

<b>Estadio I</b>	80 – 90 % de supervivencia a los 5 años
<b>Estadio II</b>	50 – 65 % de supervivencia a los 5 años
<b>Estadio III</b>	25 – 35 % de supervivencia a los 5 años
<b>Estadio IV</b>	10 – 15 % de supervivencia a los 5 años

# **METODOLOGIA**

## **Tipo de estudio**

El estudio es analítico transversal y prospectivo, pues se trata de un estudio cuya finalidad es determinar la prevalencia de los genotipos del VPH en pacientes con lesiones pre malignas y cáncer de cuello uterino, además se basó en la recolección y análisis de la muestra, en un momento único y específico.

Además es un estudio observacional ya que el factor de estudio no es controlado por el investigador y el investigador solamente se limitó a la toma de la muestra y a realizar una medición, en este caso la identificación del genotipo por medio de una PCR.

## **Población**

Se incluyó en el estudio a todas las pacientes que acudieron al Hospital Nacional de Maternidad con diagnóstico histopatológico de Neoplasia Intraepitelial Cervical de alto grado o CACU que fueron vistas por los médicos que participaron en el estudio, que accedieron a la firma de un consentimiento informado y que no hayan recibido algún tipo de tratamiento contra el cáncer o lesiones pre cancerosas, durante el periodo de Agosto a Diciembre del 2013.

## **Ubicación del estudio**

El estudio se llevó a cabo en el Hospital Nacional de Maternidad “Dr. Raúl Arguello Escolán”, ubicado en San Salvador, El Salvador en donde se recolectaron las muestras y en el laboratorio de biología molecular de la Universidad Dr. José Matías Delgado en La Libertad, El Salvador en donde se procesaron las muestras para su posterior evaluación.

El hospital de Maternidad es el centro nacional de referencia de Ginecología y Obstetricia en El Salvador. Fundado en 1948, el Hospital fue creado para asegurar servicios de salud de alta calidad relacionados con la salud reproductiva de las mujeres. Con especialidades en las áreas de ginecología, obstetricia y neonatología, el

Hospital de Maternidad es el hospital escuela más grande de su clase en El Salvador. Dado que el cáncer cervical es una de las principales causas de muerte entre las mujeres de El Salvador, el hospital abrió la clínica de colposcopia y el servicio de Oncología en 1962, en un esfuerzo para diagnosticar y tratar esta patología. Actualmente, el hospital cuenta con una plantilla de 63 ginecólogos, 6 colposcopistas y 7 patólogos. En el año 2010, el hospital realizó 8,954 citologías cervico vaginales y 6,316 colposcopias y se les da tratamiento desde entonces a 948 mujeres con cáncer cervical.

### **Tamaño de la muestra**

Se realizó una investigación exhaustiva para poder determinar un número de muestra significativa pero no se encontró datos suficientes para esto debido a que las bases de datos del HNM no cuentan con la información necesaria para saber los resultados histopatológicos segregados por tipo de lesión pre maligna y cáncer.

El tamaño de la muestra se determinó por conveniencia durante el periodo establecido de 4 meses, durante el cual se incluyó a todas las pacientes que acudieron al HNM y que cumplieron con los requisitos de inclusión.

### **Selección de la muestra**

Se seleccionó a todas aquellas pacientes referidas al Hospital Nacional de Maternidad “Dr. Raúl Arguello Escolán” con diagnóstico de Neoplasia Intraepitelial Cervical grado 2, grado 3 o CACU y que cumplieron con los criterios de inclusión, hasta completar un periodo determinado de 4 meses.

## **Análisis estadístico**

Para realizar el análisis estadístico de los resultados se utilizó un programa llamado “R” *Lenguaje y Entorno para calculo estadístico*.

Se utilizaron multi-variables de regresión logística, para obtener una asociación entre diferentes factores como edad, estado civil, paridad, tabaquismo, distancia del hogar a la unidad de salud y nivel de educación, en relación a la presencia de Neoplasia Intraepitelial Cervical de alto grado y CACU.

Además se calculó la proporción de mujeres con diagnóstico de Neoplasia Cervical Intraepitelial de alto grado y CACU en quienes se demostró la presencia de los genotipos 16 y 18 del Virus del Papiloma Humano.

## **Criterios de inclusión**

- Paciente con diagnóstico histopatológico de NIC grado 2, NIC grado 3 o CACU
- Paciente que pueda proveer un consentimiento informado
- Pacientes mayores de 18 años
- Pacientes que no hayan recibido tratamiento previo para lesiones pre cancerosas o CACU
- Pacientes que consulten durante el tiempo determinado para el estudio

## **Criterios de exclusión**

- Paciente que se nieguen a participar en el estudio
- Paciente que no esté en la capacidad de proveer un consentimiento informado
- Paciente que ha recibido tratamiento previo para Neoplasia Intraepitelial Cervical de alto grado o CACU
- Pacientes menores de edad (18 años)

## **Variables**

Variable. **EDAD**

Definición conceptual: tiempo cronológico que ha vivido una persona.

Criterios (dimensiones): años cumplidos.

Indicador: Número de años cumplidos a la fecha de realización del estudio.

Variable: **EDAD DE INICIO DE RELACIONES SEXUALES**

Definición conceptual: Edad cronológica en la que la persona inicio relaciones sexuales.

Criterios (dimensiones): año de inicio

Indicador: número de años cumplidos cuando la persona inicio relaciones sexuales.

Variable: **NUMERO DE PAREJAS SEXUALES**

Definición conceptual: número de personas con las que ha tenido relaciones por vía vaginal.

Criterios (dimensiones): número de parejas

Indicador: número de parejas sexuales reportadas hasta el día de la entrevista.

Variable: **NUMERO DE PAREJAS SEXUALES EN EL ULTIMO AÑO**

Definición conceptual: número de personas con las que ha tenido relaciones sexuales de tipo vaginal en el último año.

Criterios (dimensiones): número de parejas

Indicador: número de parejas sexuales reportadas desde un año antes hasta el día de la entrevista.

Variable: **NUMERO DE HIJOS**

Definición conceptual: número de hijos nacidos ya sea por vía vaginal o por cesárea

Criterios (dimensiones): número de hijos

Indicador: número de hijos hasta el día de la entrevista

Variable: **EDAD DEL PRIMER PARTO**

Definición conceptual: tiempo en que la persona tuvo su primer parto, ya sea por vía vaginal o por cesárea.

Criterios (dimensiones): edad en años

Indicador: número de años cumplidos cuando la persona tuvo su primer parto,

Variable: **PARTOS POR VIA VAGINAL O CESAREA**

Definición conceptual: número de partos ya sea por vía vaginal o por cesárea que la persona haya tenido

Criterios (dimensiones): número de partos

Indicador: número de partos que la mujeres haya tenido hasta el momento de la entrevista.

Variable: **METODOS ANTICONCEPTIVOS**

Definición conceptual: Diferentes tipos de métodos anticonceptivos que la paciente ha utilizado hasta la fecha y por cuánto tiempo.

Criterios (dimensiones): número y que clase de anticonceptivos (específicamente si ha utilizado anticoncepción oral por un tiempo prolongado.

Indicador: tipo de método anticonceptivo y tiempo que lo ha utilizado

Variable: **TABAQUISMO**

Definición conceptual: Paciente fumo cigarrillos durante su vida

Criterios (dimensiones): paciente ha fumado más de 5 cajetillas de cigarrillos (100 cigarrillos) en su vida.

Indicador: cantidad de cigarrillos fumados

Variable: **HISTORIA FAMILIAR DE CANCER**

Definición conceptual: Algún familiar directo ha sido diagnosticado con algún tipo de cáncer

Criterios (dimensiones): familiar directo (abuelos, padres, hijos) que hayan sido diagnosticado con cualquier tipo de cáncer

Indicador: Familiar con diagnóstico de cáncer

Variable: **NIVEL DE ESTUDIOS**

Definición conceptual: grado más elevado de estudios realizados o en curso.

Criterios (dimensiones): nivel de estudio (ninguno, primaria, secundaria, bachillerato, universitario)

Indicador: nivel de estudio cursado hasta el momento de la entrevista

Variable: **INGRESOS ECONOMICOS FAMILIARES MENSUALES**

Definición conceptual: suma de todos los sueldos, salarios, u otras formas de ingreso de una familia durante un mes.

Criterios (dimensiones): cantidad en dólares americanos de los ingresos de la familia

Indicador: ingresos económicos familiares mensuales

Variable: **ACCESO A SERVICIOS DE SALUD**

Definición conceptual: Accesibilidad de la paciente a cualquier servicio de salud

Criterios (dimensiones): Dificultad para llegar al centro de salud más cercano

Indicador: nivel de acceso al centro de salud más cercano

Variable: **FRECUENCIA PARA LA REALIZACION DE CITOLOGIA**

Definición conceptual: que tan frecuente se realiza la citología

Criterios (dimensiones): con qué frecuencia se realiza la citología. Hace cuánto tiempo realizo su última citología

Indicador: frecuencia con la que la paciente se realiza sus citologías. Cuando fue la última citología que se realizo

Variable: **CONOCIMIENTOS SOBRE VPH Y CANCER CERVICO UTERINO**

Definición conceptual: que conocimiento tiene la paciente acerca de la relación VPH y CACU

Criterios (dimensiones): nivel de conocimiento de la paciente

Indicador: que conoce la paciente acerca de VPH y CACU hasta el día de hoy

Variable: **HISTORIA DE ENFERMEDADES DE TRANSMISION SEXUAL**

Definición conceptual: Enfermedad infecto-contagiosa que se transmite a través de contacto sexual.

Criterios: diagnóstico de enfermedad de transmisión sexual (en especial Clamidia, Herpes genital y VIH) y si ha sido diagnosticada en más de una ocasión (exceptuando VIH).

Indicador: historia de enfermedad de transmisión sexual hasta el día de la entrevista,

## **Instrumento**

En este estudio solamente se utilizó un consentimiento informado (ANEXO 1) y 1 instrumento de recolección de datos (ANEXO 2). Este instrumento se utilizó para recolectar los datos personales y demográficos de cada paciente. Además nos funcionó para identificar la muestra de la paciente ya que esta contaba con un número correlativo el cual también se encontraba en la hoja antes mencionada.

El instrumento de recolección de datos o encuesta se divide en varias partes y tomo aproximadamente 10 minutos en completarse.

Se indago sobre la información personal de la paciente, se incluyeron preguntas referentes a la edad, paridad, nivel de escolaridad, ingresos económicos, historia de tabaquismo e historia familiar de cáncer. Preguntas relacionadas con el Virus del Papiloma Humano con el fin de conocer si la paciente sabía que es el VPH y su relación con el cáncer cervicouterino, así como saber de donde obtuvo la información sobre este tema.

Historia sexual de la paciente. Se realizaron preguntas referentes a la edad de la primera relación sexual, número de parejas sexuales, número de parejas sexuales en el último año. Historia de uso de métodos anticonceptivos e historia de citologías previas (cuando se realizó su último PAP, si conoce el resultado, si se le ha realizado algún procedimiento relacionado con el resultado de la citología). Historia de enfermedades de transmisión sexual.

Preguntas relacionadas con la enfermedad actual y el manejo que se le ha dado desde que se realizó la citología por la que la paciente fue referida.

Se utilizaron además, otras dos hojas de datos. la primera de estas fue para uso exclusivo del investigador (ANEXO 3), la cual tenía información acerca de la citología de referencia y su fecha de toma de citología y también la información del examen

histopatológico para poder ser parte del estudio. Esta hoja también contaba con la información personal de la paciente.

La última hoja de datos es la que se utilizó exclusivamente en el laboratorio para ingresar los resultados de las muestras y los resultados de la tipificación de las mismas (ANEXO 4). Estas hojas son las que luego se entregaron para los expedientes de las pacientes.

### **Validación técnica**

La validación del instrumento se realizó en el Hospital Nacional de Maternidad, en donde se pasó la encuesta a un grupo de mujeres y se evaluó las respuestas que proporcionaron así como también el grado de comprensión de las preguntas que se estaban realizando.

### **Procedimiento para la recolección de la información**

Durante la etapa de recolección de información y muestras se contó con la colaboración del personal del departamento de colposcopia del HNM.

El proceso inicio con la identificación de pacientes con NIC2, NIC 3 y CACU por el investigador en el departamento de consulta externa de colposcopia del HNM. Se aseguró que las pacientes que participaron en el estudio cumplieran con los criterios establecidos. Posteriormente uno de los investigadores inicio con el proceso de la introducción de la investigación.

Al inicio de la entrevista se presentaba el investigador con cada una de las pacientes, se les daba una breve introducción del estudio y de su propósito, se explicaba brevemente en qué consistía su participación en el estudio y se aclaraba que no corrían ningún riesgo al participar de dicho estudio. A continuación si las pacientes decidían

colaborar en el estudio se procedía a la lectura y a la firma de un documento de consentimiento informado (ANEXO 1). En este momento si la paciente decidía no participar en el estudio, era nuestra obligación hacer de su conocimiento que no existía repercusión alguna y que ella podía continuar con su tratamiento en el HNM.

Una vez la participante había decidido colaborar en el estudio y se había realizado la firma del consentimiento informado se procedía a la entrevista y al llenado de la hoja de datos personales y demográficos de la paciente (ANEXO 2) la cual constaba de 30 preguntas y se estimaba tardar alrededor de 10 minutos.

Al finalizar con la entrevista la paciente podía pasar a sala de espera donde podría esperar con normalidad ser atendida por el médico que se le había sido asignado para continuar con su consulta.

### **Toma de la muestra**

Durante la consulta el medico realizaba la evaluación clínica para determinar la extensión de la lesión o el estadio del cáncer. En ese momento, se procedía a la toma de la muestra. La toma de la muestra consistió en realizar un cepillado del cérvix de la paciente con un dispositivo de recolección de ADN especial para captura hibrida y luego se almacenaba en el medio de transporte. Primeramente se debía rotular el tubo donde se almacena la muestra, con los datos de la paciente y luego se procedía a la toma. Se colocaba a la paciente sobre la cama ginecológica y en posición de litotomía, luego se introduce el espejo adecuado y con ayuda de un cepillo cervical se toma la muestra directamente del endocervix. Al finalizar, se coloca el cepillo cervical dentro del medio de almacenamiento, se sella con una tapadera de rosca y se transportaba para ser almacenada hasta ser procesada.

### **Procedimiento para el envío y almacenamiento de las muestras**

#### **Envío**

Al final del día, las muestras eran transportadas por uno de nuestros investigadores hasta las instalaciones del Laboratorio de Biología Molecular de la Universidad Dr. José Matías Delgado ubicado en el campus 1 de dicha institución.

## **Almacenamiento**

Las muestras se almacenaron correctamente en este laboratorio en un refrigerador para almacenamiento de muestras y a una temperatura de – 20 grados centígrados hasta que estas fueron ser procesadas.

## **Procesamiento de las muestras en el laboratorio**

Las muestras se almacenaron a – 20 grados, hasta el día de su procesamiento.

El procesamiento de las muestras incluyó lo siguiente:

Extracción de ADN:

Este paso fue necesario pues el componente del virus del papiloma humano que se desea detectar es su ADN. Éste se encuentra dentro de las células epiteliales del cérvix que hayan sido infectadas, y puede estar en forma episomal (extracromosómico) o bien integrado al ADN humano en los casos más avanzados de la enfermedad.

PCR (Polymerase Chain Reaction) y electroforesis:

Mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR por sus siglas en inglés) y la electroforesis, se logró dos objetivos:

- Confirmar la presencia de ADN humano y de ADN del VPH. Esto permitió determinar qué muestras son VPH +.
- Genotipificar las muestras VPH +, es decir, establecer con qué tipo específico de virus están infectadas.

Cabe destacar que la PCR permitió amplificar la cantidad del ADN de interés (humano y del VPH) presentes en las muestras de estudio y por otra parte, la verificación de dicha amplificación se realizó con la ayuda de la electroforesis y el uso de colorantes que tiñen específicamente el ADN. Los resultados de este último paso son los que se sometieron a análisis.

## **RESGUARDO Y CONFIDENCIALIDAD DE LOS DATOS**

Toda la información obtenida fue y será vista sola y exclusivamente por los investigadores y co-investigadores de este estudio. Ninguna otra persona tendrá acceso a ésta. Se creó una base de datos en la que se codificó la información, de modo que los nombres de los pacientes no se expongan y con ello proteger los datos que nos han proporcionado.

Los expedientes clínicos que incluyen las entrevistas, se encuentran archivados en las oficinas de Basic Health International y se almacenarán por un periodo de 5 años.

No existe ningún riesgo ya que toda la información está codificada y solamente ha sido analizada por los investigadores del estudio para así proteger la confidencialidad del paciente.

## **RIESGOS Y BENEFICIOS DEL ESTUDIO**

Las mujeres que participaron en este estudio no están sometidas a ningún riesgo. La toma de muestra para el estudio es un procedimiento de rutina y se realizó como parte del examen ginecológico.

Ser parte del estudio no trae ningún beneficio directo para la paciente ya que al identificar el genotipo del Virus del Papiloma Humano no cambio el diagnostico ni el tratamiento que ellas deben recibir, sin embargo, las pacientes que obtengan resultados positivos a VPH 16 y 18 van a ser observadas con mayor precaución. Además fue de enorme ayuda que ellas participaran ya que al identificar el genotipo del VPH causante del cáncer de cérvix se podrá ayudar a los tomadores de decisiones en relación a las políticas de salud a elaborar y aprobar medidas, como la inmunización contra el VPH.

## **CONSIDERACIONES ETICAS**

Este estudio se llevó a cabo bajo todas las consideraciones éticas estipuladas bajo la declaración de Helsinki sobre investigación médica la cual involucra sujetos humanos. Las participantes de este estudio no corrieron ningún riesgo al participar en este, sin embargo su participación fue de mucha ayuda para mejorar la prevención de estas enfermedades.

La investigación fue sin fines de lucro y tenía como único propósito beneficiar a la población femenina en general, ya que al reconocer que estos son los genotipos más comunes del VPH en nuestro país se podrá abogar por métodos de prevención de primera mano cómo la vacuna del virus del papiloma humano tipos 16 y 18.

## **PROCESAMIENTO Y ANALISIS DE MUESTRAS**

Para poder cumplir con nuestro objetivo y determinar la prevalencia de los genotipos 16 y 18 del VPH se debía llevar a cabo una serie de etapas las cuales debían ser realizadas con suma precaución y cuidado para poder obtener los resultados deseados.

### **EXTRACCION DE ADN**

Al haber completado con la toma de las muestras, el primer paso fue realizar la extracción de ADN de las muestras del cepillado endocervical. Para esto se utilizó un equipo llamado “DNeasy Blood and Tissue Kit” de la marca QIAGEN. Por medio de este protocolo, nos permitíamos obtener una purificación fácil y rápida de ADN. Este es un protocolo optimizado para tipos de muestras específicas el cual nos proporciona grandes cantidades de ADN de alta cantidad.

El protocolo “DNeasy Blood and Tissue Kit” es simple de utilizar. Antes de iniciar con el protocolo, las muestras se incubaron en un baño de maría a una temperatura de 65 grados Celsius durante 10 minutos para realizar la desnaturalización. Luego las muestras se lisaron utilizando proteinasa K y posteriormente este lisado se cargó en una centrifuga “Mini spin column”. Durante la centrifugación, el ADN se une selectivamente a la membrana “DNeasy” mientras el resto de productos pasan como desecho. El resto de productos de desecho y enzimas inhibitorias se remueven en dos etapas de lavado y luego el ADN es eluido en agua y está listo para ser utilizado. El ADN purificado que resulta de la utilización de este protocolo es libre de contaminantes y enzimas inhibitorias el cual lo hace adecuado para PCR.

Al finalizar con la extracción, este ADN se almacenada en tubos “Eppendorf” de 1.5ml a una temperatura de -20 grados centígrados y debidamente etiquetados con el numero correlativo de la paciente. A continuación se realizaba una electroforesis casera en gel

de agarosa en la cual se comprobaba la adecuada utilización del protocolo de extracción y la presencia de ADN en general.

## **PCR GENERICA Y ELECTROFORESIS**

El siguiente paso fue la realización de una primera PCR para detectar la presencia de ADN de VPH y así identificar cuales muestras eran VPH positivo. A esta PCR se le denomina “PCR genérica”. Este tipo de PCR, es una PCR casera la cual se realizó en un termociclador “Hybaid Px2” de la marca FISHER SCIENTIFIC. Este es un termociclador personal, fácil de utilizar el cual nos permite introducir diferentes protocolos dentro de su memoria y así poder realizar una amplificación de grandes cantidades de segmentos de ADN.

Para la PCR tanto la genérica como la específica, se obtuvieron los protocolos y programas de amplificación de la Dra. María Elena Peñaranda, quien es la Directora científica del Sustainable Science Institute (SSI) en San Francisco California, por lo tanto son programas previamente aprobados y los cuales funcionan a la perfección. Estos se componen de una serie de pasos y etapas en las cuales el termociclador cambia de temperaturas altas a bajas en una serie de ciclos de diferentes lapsos de tiempo para poder amplificar segmentos específicos de ADN.

Para iniciar con la PCR genérica, se debía programar el termociclador con el protocolo para PCR genérica (Fig.1). Luego se iniciaba la preparación del “master mix” en una cámara de flujo laminar para evitar cualquier tipo de contaminación. El master mix es la mezcla dentro de la cual se van a colocar las muestras para poder realizar la PCR. Esta mezcla contiene los diferentes reactivos y primers los cuales nos van a permitir que se dé la amplificación que se desea y al mismo tiempo observar los productos que se generan de la amplificación. Al terminar con la preparación de esta mezcla, se transportan los viales a un área gris donde se realiza la colocación de 3UI de cada una de las muestras y posteriormente estos viales se introducen dentro del termociclador para dar inicio al proceso de la PCR. Para la PCR genérica el proceso dura alrededor de 2 horas con 30 minutos.

Al completar la PCR, las muestras están listas para el siguiente paso el cual era la realización de una electroforesis en gel de agarosa. El primer paso era la preparación del gel en el cual se cargan las muestras. Con diferentes moldes y diferentes peines se determinaba cuáles eran los más adecuadas para cada electroforesis y dependiendo el número de muestras que fueran a ser analizadas, se prepara el gel.

Para realizar la electroforesis se utilizó una cámara de electroforesis casera “B3 mini gel electrophoresis system” marca OWL EASY CAST. En esta cámara se coloca el gel y luego se cargan 35 UI de las diferentes muestras. Luego con el uso de una fuente de energía “EC 154” de la marca EC APPARATUS CORPORATION se realiza la electroforesis durante 50 a 60 minutos a 120 V.

Al finalizar la electroforesis, el gel se retira de la cámara y se coloca en un recipiente en el cual se realiza la tinción con un colorante especial llamado CarolinaBLU el cual es diseñado y comercializado por “CAROLINA BIOLOGICAL SUPPLY COMPANY”. La tinción se realiza durante aproximadamente 15 horas para luego iniciar con la lectura de los productos de amplificación. Para realizar una lectura adecuada, se coloca el gel ya teñido sobre un negatoscopio, lo cual nos permite una mejor visualización de los productos.

Para la PCR genérica, los primers para beta-globina (PC04 y GH20) generan un producto de amplificación de 268 pares de bases y los primers para VPH (MY09 y MY11) generan un producto de amplificación de 458 pares de bases.

Luego de realizar la lectura e identificar las muestras VPH positivas, se debía realizar el último paso, el cual era llevar a cabo una PCR para determinar si las muestras VPH positivas contenían VPH 16, VPH 18, ambos o ninguno de ellos. A esta PCR se le llama PCR ESPECIFICA.

## **PCR ESPECÍFICA Y ELECTROFORESIS**

Con la ayuda del mismo equipo que se utilizó para realizar la PCR genérica, se lleva a cabo la PCR específica. El primer paso es programar el termociclador, esta vez con el protocolo de amplificación para tipificación de VPH 16 y 18 (Fig. 2).

El siguiente paso era la preparación de la mezcla, sin embargo esta vez se preparaban dos mezclas diferentes, una que contenía los primers para VPH 16 y otra que contenía los primers para VPH 18. Luego de preparar la mezcla, se colocan las muestras y se inicia la PCR, la cual dura aproximadamente 5 horas.

Al terminar el proceso de la PCR específica, se prepara un gel de agarosa para la electroforesis y se cargan 35 UI de cada muestra en los pocillos. La electroforesis corre durante 50 a 60 minutos a un voltaje aproximado de 120V. Al finalizar, se retira el gel, se tiñe y almacena durante más o menos 15 horas y luego se procede a su lectura.

Los primers para VPH 16 generan un producto de amplificación de 585 pares de bases. Los primers para VPH 18, generan un producto de amplificación de 613 pares de bases.



**Fig. 1 Ilustración del protocolo a seguir para la programación del termociclador para la realización de una PCR genérica.**

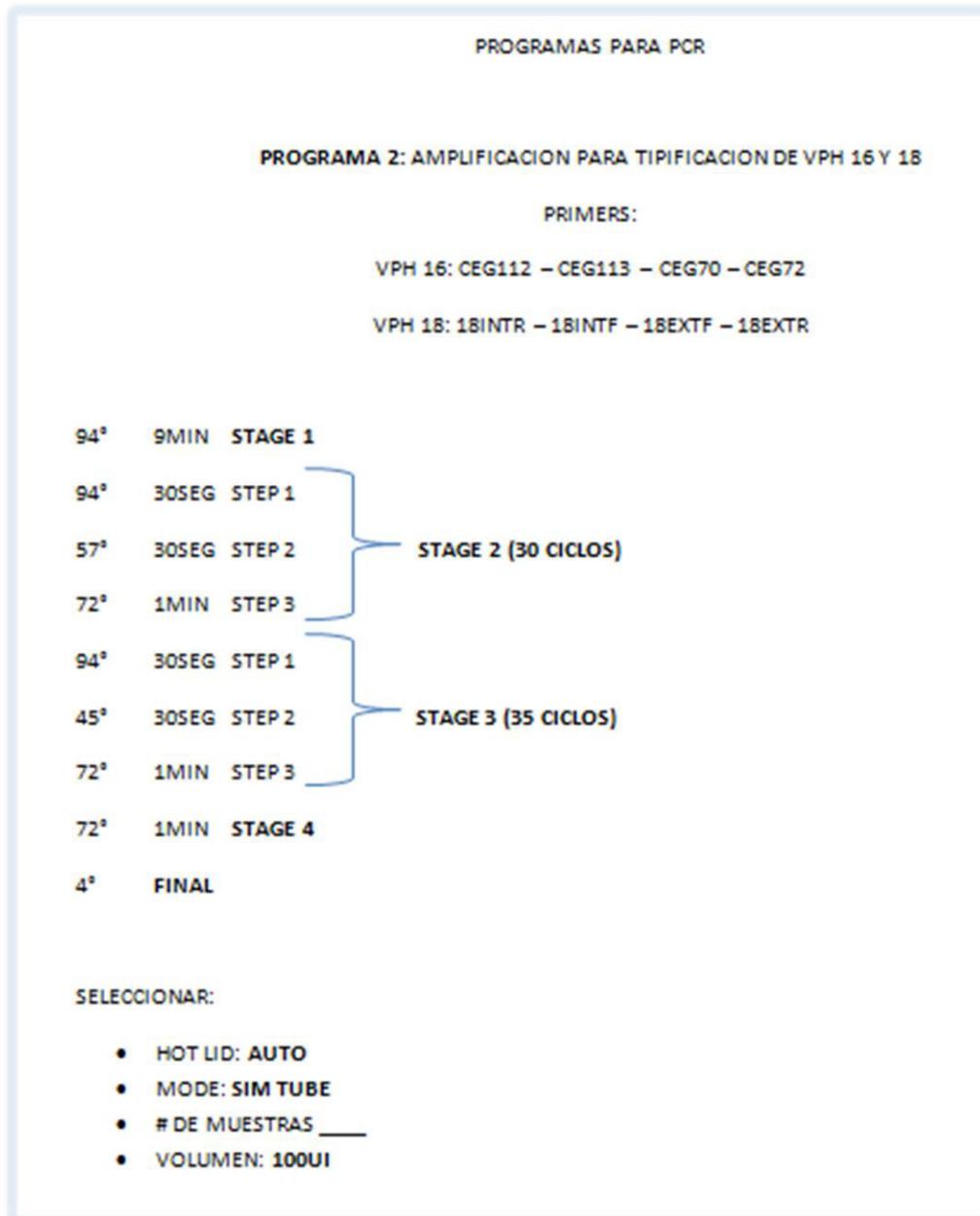


Fig. 2 Ilustración del protocolo a seguir para la programación del termociclador para la realización de una PCR específica.

# RESULTADOS

## Introducción

El estudio se realizó con una muestra de (N= 50) mujeres, las cuales son las pacientes que se presentaron al Hospital Nacional Especializado de Maternidad durante el periodo de 4 meses establecido para la realización del estudio y quienes cumplían con los criterios de inclusión. No fue necesario excluir a ninguna paciente del estudio debido a que previo a su inclusión, los investigadores realizaban una lectura de su expediente clínico para verificar si eran elegibles.

## Descripción de resultados

Luego de un cuidadoso análisis de las muestras, se identificó que del 100% de las pacientes involucradas en el estudio, el 90% de ellas (45 casos) resultaron VPH positivas, mientras que solamente el 10% (5 casos) obtuvieron un resultado negativo a VPH (Ver tabla 1).

Tabla 1: Total de pacientes inscritas y total de pacientes VPH positivo.

	# de Pacientes	%
<b>Pacientes Inscritas</b>	50	100%
<b>Pacientes VPH positivas</b>	45	90%

De las pacientes VPH positivas, se puede observar que el 40% de ellas (18/45 casos) son pacientes con lesiones de alto grado. De estas pacientes, 14/45 de ellas (31%) tienen un diagnóstico histopatológico de NIC 2 y solamente 4/45 de ellas (9%) tienen diagnóstico de NIC 3. El 47% (21/45 casos) de las mujeres VPH positivas tienen un diagnóstico histopatológico de carcinoma de células escamosas y el 13% (6/45 casos) tienen un diagnóstico de Adenocarcinoma (Ver tabla 2).

5 de los casos que se introdujeron al estudio, obtuvieron un resultado negativo a VPH. El 8% de ellos (4/50 casos) eran lesiones de alto grado, 2 de ellas con diagnóstico de

NIC 2 y 2 de ellas con diagnóstico de NIC 3. El 2 % restante (1/50 caso) tiene diagnóstico histopatológicos de carcinoma de células escamosas (Ver tabla 3).

**Tabla 2: Distribución de pacientes VPH positivas, según diagnóstico histopatológico.**

<b>VPH POSITIVO</b>	<b># de Pacientes</b>	<b>%</b>
NIC 2	14/45	31%
NIC 3	4/45	9%
Carcinoma de Células Escamosas	21/45	47%
Adenocarcinoma	6/45	13%
<b>TOTAL</b>	<b>45/50</b>	<b>90%</b>

**Tabla 3: Distribución de pacientes VPH negativo, según diagnóstico histopatológico**

<b>VPH NEGATIVO</b>	<b># de Pacientes</b>	<b>%</b>
NIC 2	2/50	4%
NIC 3	2/50	4%
Carcinoma de Células Escamosas	1/50	2%
Adenocarcinoma	0/50	0%
<b>TOTAL</b>	<b>5/50</b>	<b>10%</b>

Luego de verificar la presencia de VPH en cada una de las muestras, los ejemplares de los que se obtuvo un resultado positivo a VPH fueron sometidos a una PCR específica para los genotipos 16 y 18 y así determinar la prevalencia de estos en pacientes con lesiones de alto grado y CACU.

De las muestras VPH positivo, el 31% (14/45 casos) resultaron positivas a VPH 16, el 16% (7/45 casos) son positivas a VPH 18 y el 2% (1/45 caso) es positivo a una co-infección entre VPH 16 y VPH 18. En general, de los 45 casos VPH positivos, se obtuvo un resultado de 22 casos positivos a cualquiera de los dos genotipos principales, esto implica que el 49% de las pacientes VPH positivas, obtuvieron resultados positivos a alguno de los dos principales genotipos de Virus del Papiloma Humano, ya sea el 16 o el 18 (Ver tabla 4).

**Tabla 4: Distribución de prevalencia de VPH 16 y 18 en pacientes VPH positivo.**

	<b># de Pacientes</b>	<b>%</b>
<b>Pacientes VPH positivas</b>	45/50	90%
<b>VPH 16</b>	14/45	31%
<b>VPH 18</b>	7/45	16%
<b>VPH 16 + 18</b>	1/45	2%
<b>TOTAL VPH 16 y 18</b>	22/45	49%

### **Prevalencia de VPH 16**

Como se comentó anteriormente, el 31% (14/45 muestras) de los casos son positivos a VPH 16. De estas 14 pacientes involucradas en el estudio, el 36% (5/14 casos) de ellas tienen un diagnóstico de Neoplasia Intraepitelial Cervical de alto grado. El 29% de ellas (4/14 casos) tienen un diagnóstico histopatológico de NIC 2, mientras que el restante 7% (1/14 caso) tienen un diagnóstico de NIC 3. Es de suma importancia destacar, que el 64% restante (9 casos) son lesiones que ya evolucionaron a CACU. El 43% (6/14 casos) de ellas tienen un diagnóstico de Carcinoma de Células Escamosas y el 21% (3/14 casos) de pacientes positivas a VPH 16 tienen un diagnóstico de Adenocarcinoma endocervical (Ver tabla 5).

**Tabla 5: Distribución de pacientes positivas a VPH 16, según diagnóstico histopatológico.**

<b>PREVALENCIA VPH 16</b>	<b># de Pacientes</b>	<b>%</b>
Pacientes VPH 16 +	14/45	31%
NIC 2	4/14	29%
NIC 3	1/14	7%
Carcinoma de Células Escamosas	6/14	43%
Adenocarcinoma	3/14	21%
TOTAL		100%

## Prevalencia de VPH 18

En cuanto a la prevalencia de VPH 18, el porcentaje de pacientes positivas a este genotipo del virus es menor. De las pacientes positivas a VPH 7/45 de estas pacientes (16%) resultaron positivo a VPH 18. De ellas, el 28% (2/7 casos) con diagnóstico de lesión de alto grado. 1/7 caso (14%) con diagnóstico de NIC 2 y 1/7 caso (14%) con diagnóstico de NIC 3. De igual manera que en la prevalencia de VPH 16, en este caso también se puede observar que el mayor porcentaje de prevalencia de VPH 18 se da en lesiones invasivas (71% - 5/7 casos) y no en lesiones pre-cancerosas. El 57% (4/7 casos) positivos a VPH 18 tienen un diagnóstico histopatológico de Carcinoma de Células Escamosas, mientras que el 14% (1/7 caso) tiene diagnóstico de Adenocarcinoma Endocervical (Ver tabla 6).

**Tabla 6: Distribución de pacientes positivas a VPH 16, según diagnóstico histopatológico.**

<b>PREVALENCIA VPH 18</b>	<b># de Pacientes</b>	<b>%</b>
Pacientes VPH 18 +	7/45	16%
NIC 2	1/7	14%
NIC 3	1/7	14%
Carcinoma de Células Escamosas	4/7	57%
Adenocarcinoma	1/7	14%
TOTAL		100%

## Prevalencia de una Co-Infección VPH 16 y 18

En un 2% de los casos (1/45 caso) se dio un resultado positivo a una Co-Infección entre los genotipos VPH 16 y 18. Esta muestra tiene un diagnóstico histopatológico de Neoplasia Intraepitelial Cervical de alto grado, grado 2. Aparte de esta muestra, no hubo evidencia alguna de que en otra muestra existiera un Co-Infección entre ambos genotipos del VPH (Ver tabla 7).

**Tabla 7: Distribución de pacientes positivas a una Co-Infección VPH 16 y 18, según diagnóstico histopatológico.**

<b>PREVALENCIA VPH 16 + VPH 18</b>	<b># de Pacientes</b>	<b>%</b>
Pacientes VPH 16 + VPH18	1/45	2%
<b>PREVALENCIA VPH 16 y 18</b>		
NIC 2	1	100%
NIC 3	0	0%
Carcinoma de Células Escamosas	0	0%
Adenocarcinoma	0	0%
TOTAL	1	100%

### **Muestras VPH positivas: Negativas a los genotipos 16 y/o 18**

De las 45 muestras que resultaron VPH positivas, el 51% (23 casos) de estas obtuvo resultados negativos a cualquiera de los dos genotipos más comunes del VPH causantes de lesiones cancerosas en el cuello uterino. De estas 23 pacientes, el 34% (8/45 casos) tienen diagnóstico de NIC 2 y 9% (2/45 casos) tienen diagnóstico de NIC 3. Nuevamente, el mayor porcentaje se observa en pacientes con diagnóstico de Carcinoma de Células Escamosas con un 48% (11/45 casos). El restante 9% (2/45 casos) de las pacientes negativas a los genotipos 16 y/o 18 se encuentra en pacientes con diagnóstico de Adenocarcinoma endocervical (Ver tabla 8).

**Tabla 8: Distribución de pacientes VPH positivas, con resultado negativo a VPH 16 y/o 18, según diagnóstico histopatológico.**

<b>Diagnostico Histopatológico</b>	<b>VPH POSITIVO (negativo a 16 y/o 18)</b>	
	<b># de Pacientes</b>	<b>%</b>
NIC 2	8/45	34%
NIC 3	2/45	9%
Carcinoma de Células Escamosas	11/45	48%
Adenocarcinoma	2/45	9%
TOTAL		100%

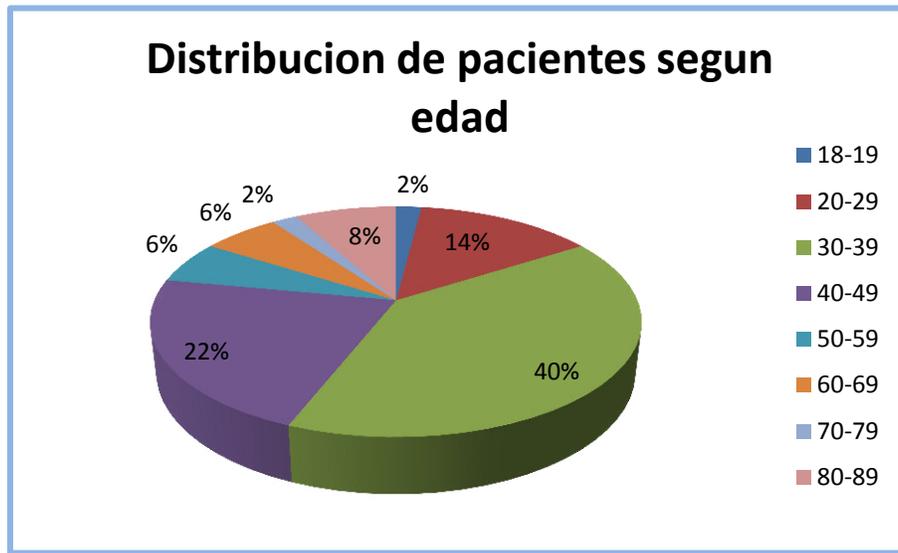
## **PERFIL EPIDEMIOLOGICO DE MUJERES CON LESIONES PRE-CANCEROSAS Y CACU**

Durante esta investigación, las pacientes debían contestar una encuesta para poder poner en evidencia el perfil epidemiológico de cada una de ellas y así poder obtener más y mejor información de las poblaciones en riesgo. Además se indago acerca de los conocimientos de las pacientes en cuanto al Cáncer Cervical, el Virus del Papiloma Humano y la Citología Cervical.

### **EDAD**

Del 100% de las pacientes involucradas en el estudio (N=50), el 76% de las mujeres (38/50 casos) estaban entre las edades 20 a 49 años de edad. El rango de edades entre los 20 a los 29 años involucraba al 14% de las pacientes (7/50 casos), seguido por un 40% (20/50 casos) de las mujeres entre 30 a 39 años de edad, siendo este el grupo de edad mayoritario. El 22% (11/50 casos) era para las mujeres entre 40 a 49 años y solamente el 2% de las mujeres (1/50 caso) se encontraba entre la edad de 18 a 19 años. El restante 22% (11/50 casos), involucraba a las mujeres mayores de 50 años. El 6% (3/50 casos) de las involucradas en el estudio estaba en el rango de edad entre 50 a 59 años y así mismo otro 6% (3/50 casos) se encontraba entre las edades de 60 a 69 años. Solamente el 2% (1/50 caso) estaba entre 70 y 79 años, mientras que en el rango de edades de 80 a 89 años se encontraba el 8% (4 casos) de la población del estudio (Ver grafica 1).

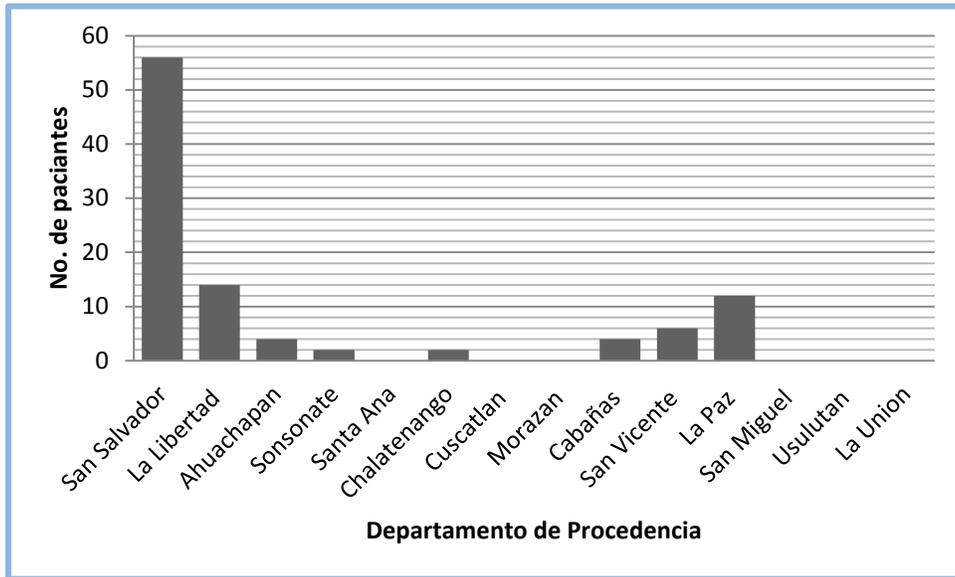
**Grafica 1: Distribución de pacientes involucradas en estudio, según rangos de edades.**



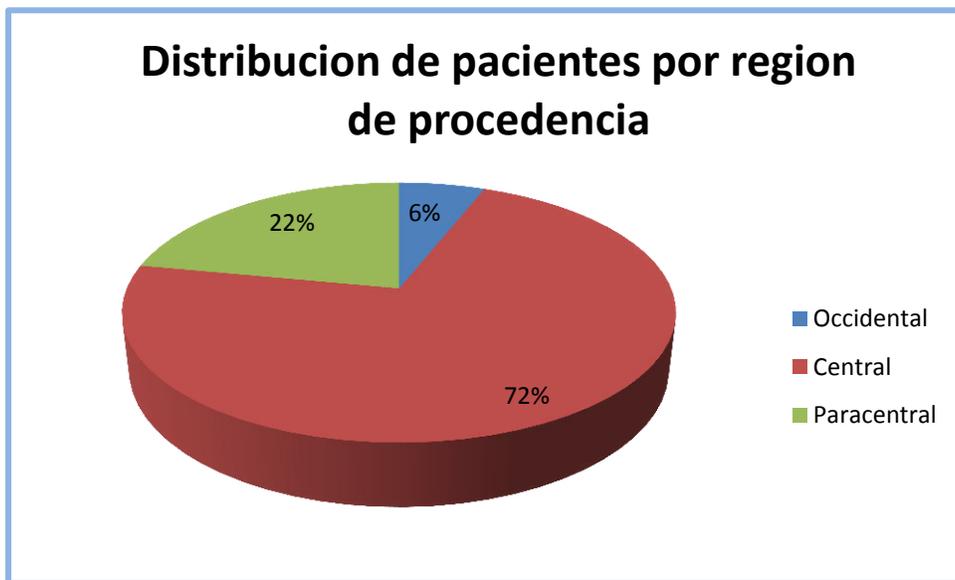
## **LUGAR DE PROCEDENCIA**

Las pacientes son referidas al HNM de todo el territorio nacional, es así como hemos logrado recopilar información de pacientes que provienen de diferentes regiones del país. El 72% (36/50 casos) de las pacientes proviene de la zona central del país, en su gran mayoría de San Salvador en un 56% (28/50 casos) y de La Libertad en un 14% (7/50 casos), seguido por Chalatenango en un 2% (1/50 caso) de la población del estudio. De la zona paracentral de El Salvador también hubo participantes, el 12% (6/50 casos) de las pacientes provenía del departamento de La Paz, el 6% (3/50 casos) del departamento de San Vicente y solamente el 4% (2/50 casos) de Cabañas. En su minoría se recibieron e incluyeron pacientes de la zona occidental en solamente 6% (3/50 casos). De estos, el 4% (2/50 casos) de las participantes provenía de Ahuachapán y solamente un 2% (1/50 caso) del departamento de Sonsonate. Por ultimo cabe destacar que no se recibió ninguna paciente de la zona oriental del país, la cual incluye los departamentos de Morazán, San Miguel, La Unión y Usulután (Ver graficas 2 y 3).

**Grafica 2: Demuestra distribución de pacientes según departamento de procedencia.**



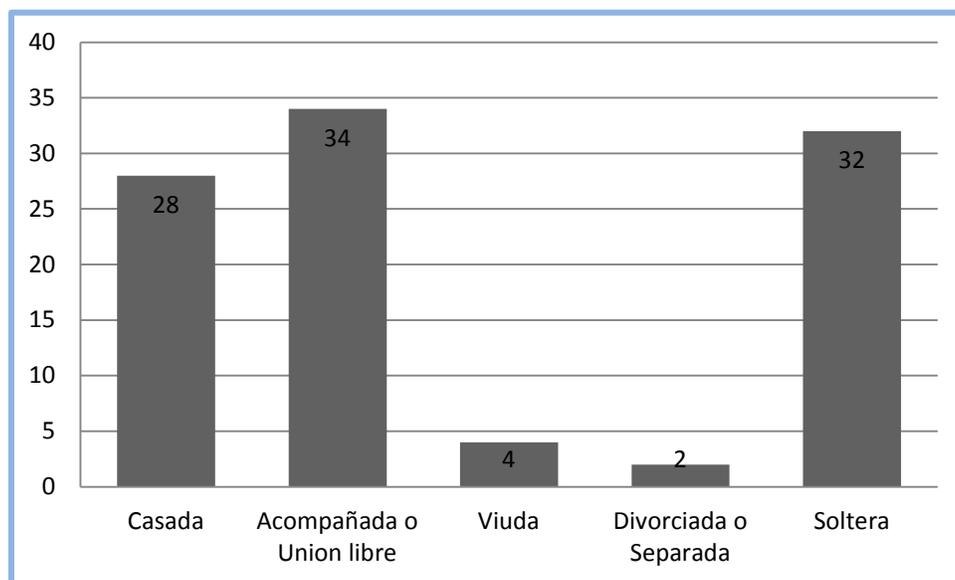
**Grafica 3: Distribución de pacientes según región de procedencia.**



## ESTADO CIVIL

De las pacientes involucradas en el estudio, la mayor cantidad de las que presentaron lesiones pre-cancerosas o CACU son aquellas mujeres que se encuentran acompañadas o en unión libre en un 34% (17 casos). Las mujeres solteras le siguen en un 32% (16 casos) y luego las mujeres casadas en un 28% (14 casos). La menor cantidad de las pacientes que presentan estas lesiones son la mujeres viudas en un 4% (2 casos) y las mujeres divorciadas o separadas en un 2% (1 caso). (Ver grafica 4).

**Grafica 4: Distribución de pacientes según estado civil.**

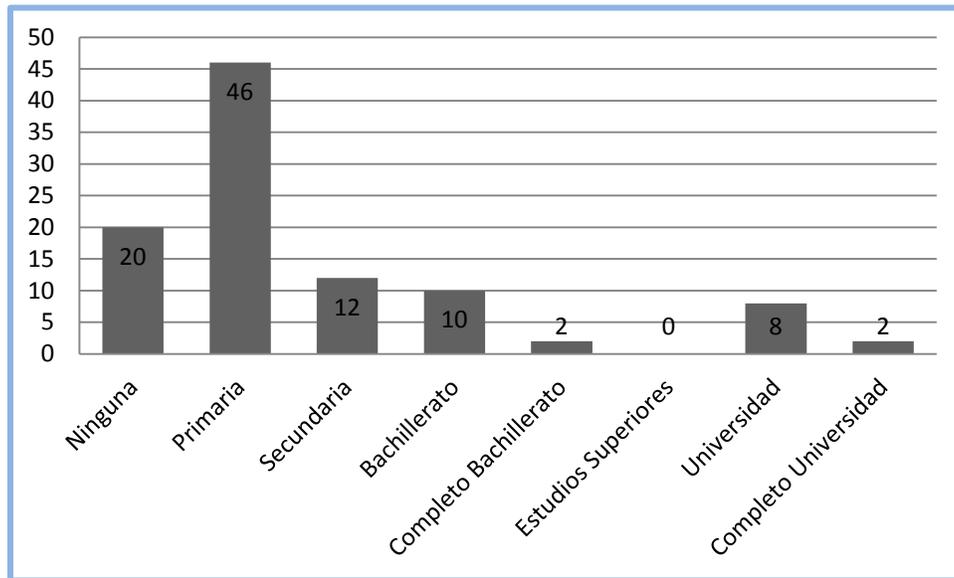


## NIVEL DE EDUCACION COMPLETADO

Otra de variables que se incluyó para análisis fue el nivel de educación completado por las mujeres que se involucradas en el estudio. Obtuvimos que el 20% (10 casos) de las pacientes no recibieron educación alguna y que el 46% (23 casos) solamente completaron la primaria. Además de esto, el 12% (6 casos) de las participantes completaron la secundaria y el 10% (5 casos) de ellas iniciaron el bachillerato sin aun terminarlo. El 2% (1 caso) ya finalizo los estudios de bachillerato. Del restante 10% de

la población del estudio, el 8% (4 casos) se encuentra en educación universitaria y el 2% (1 caso) ya completo sus estudios universitarios (Ver grafica 5).

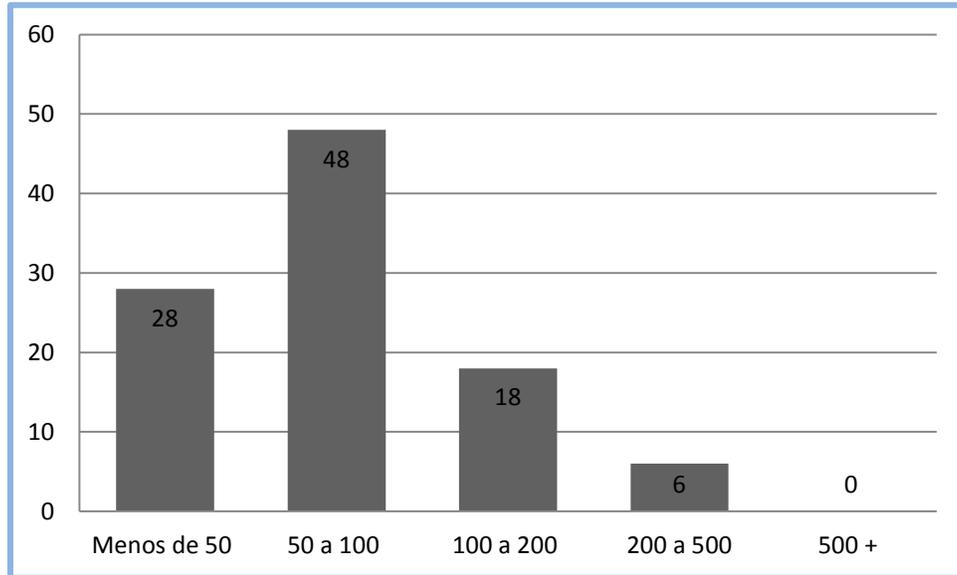
**Grafica 5: Distribución de pacientes según nivel de educación completado.**



## INGRESOS FAMILIARES MENSUALES

Los ingresos económicos familiares por mes es una variable de suma importancia. Por medio de este cuestionario podemos observar que el 76% (38 casos) de la población que sufre de lesiones pre cancerosas y cancerosas tiene un ingreso mensual menor a los 100 dólares al mes por familia. Obtuvimos que el 28% (14 casos) tienen un ingreso mensual menor a los 50 dólares y que el 48% (24 casos) tiene un ingreso mensual entre 50 a 100 dólares. De las pacientes restantes, el 18% (9 casos) tienen un ingreso mensual entre 100 y 200 dólares. Además de esto también podemos observar que solamente el 6% (3 casos) de la población de estudio tiene unos ingresos entre 200 y 500 dólares. Ninguna de las pacientes involucradas en el estudio dijo tener ingresos mayores a los 500 dólares (Ver grafica 6).

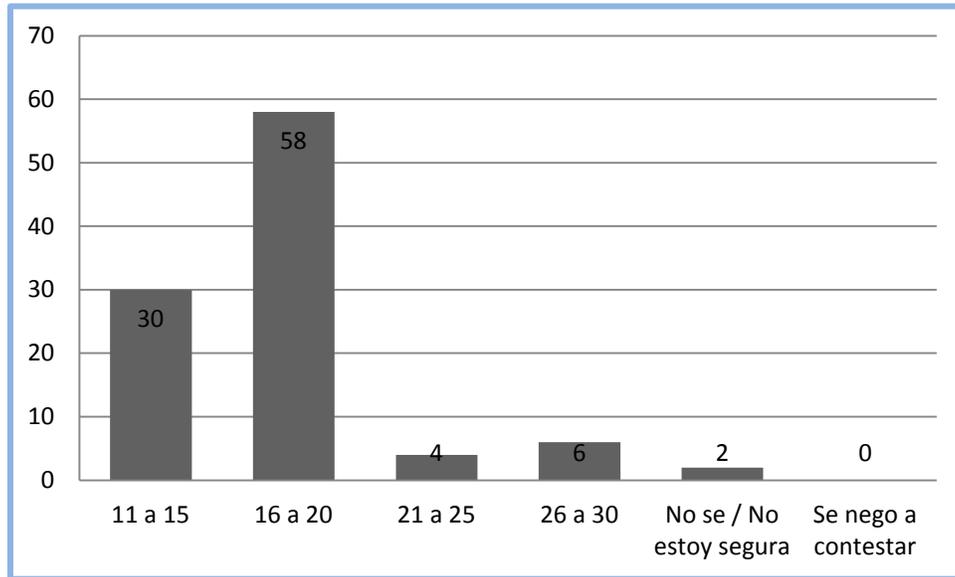
**Grafica 6: Distribución de pacientes según ingresos mensuales familiares en Dólares Americanos.**



## **EDAD AL INICIO DE RELACIONES SEXUALES**

La edad al inicio de las relaciones sexuales es también un factor determinante para la infección por VPH. En los resultados podemos observar que el 30% (15 casos) de las paciente inicio relaciones sexuales entre las edades de 11 – 15 años y que el 58% (29 casos) inicio relaciones entre los 16 y los 20 años de edad. En menor porcentaje, podemos encontré a las personas que iniciaron relaciones a mayor edad. El 4% (2 casos) de la población del estudio inicio relaciones entre los 21 y los 25 años mientras que el 6% (3 casos) inicio entre los 26 y los 30 años. Solamente una de las pacientes (2%) dijo no estar segura o no recordarse de la edad a la que inicio a tener relaciones sexuales (Ver grafica 7).

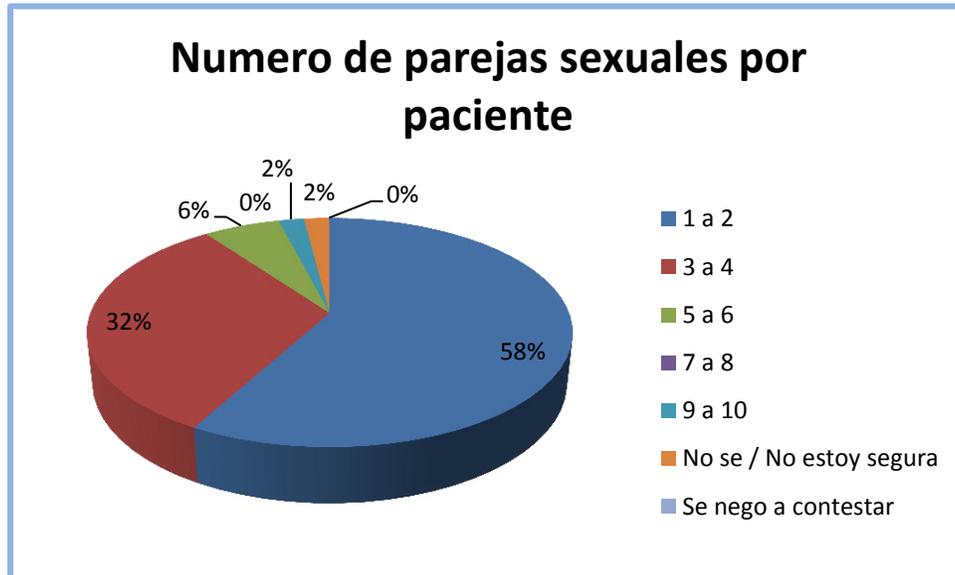
**Grafica 7: Distribución de pacientes según edad de primera relación sexual.**



## **NUMERO DE PAREJAS SEXUALES**

Esta es una de las variables más importantes a tomar en cuenta cuando se refiere a la infección por VPH. El 58% (28 casos) de las mujeres que fueron incluidas en el estudio asegura haber tenido entre 1 y 2 parejas sexuales durante su vida, sin embargo el 32% (16 casos) dice haber tenido al momento entre 3 y 4 parejas sexuales. Un pequeño porcentaje de las pacientes (6% - 3 casos) dice haber tenido de 5 a 6 parejas y solamente una paciente (2%) refiere haber tenido entre 9 y 10 parejas sexuales. También cabe mencionar que una paciente (2%) contestó no recordar o no estar seguro del número de parejas que ha tenido y que ninguna de las pacientes se negó a contestar esta pregunta (Ver grafica 8).

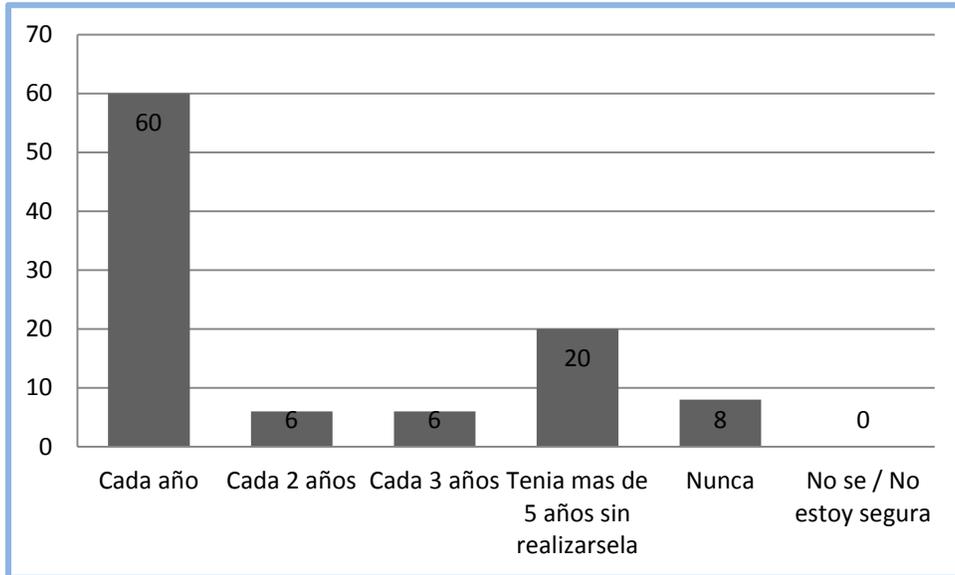
**Grafica 8: Demuestra la distribución de las pacientes según el número de parejas sexuales.**



### **FRECUENCIA DE TOMA DE CITOLOGIA**

De las población total que se incluyó en el estudio, el 60% (30 casos) de las mujeres se realizaba su citología cada año, mientras que un 6% (3 casos) se la realizaba cada dos años y otro 6% (3 casos) cada 3 años. Por otro lado, la otra gran mayoría de las pacientes, el 20% (10 casos) tenía más de 5 años de no realizarse el examen y solamente un 8% (4 casos) nunca antes se había realizado la toma de la citología. Además se indago en las mujeres que nunca antes se habían hecho este examen y pudimos observar, que el 50% (2 casos) de ellas dijo que se sentían apenadas, tenían miedo o les causaba mucho dolor, mientras que el otro 50% (2 casos) dijo ser por falta de conocimiento y por no importarles (Ver grafica 9).

**Grafica 9: Distribución de las pacientes según la frecuencia en la que se realizaban su citología.**



## **CORRELACION CITO-HISTOPATOLOGICA**

En referencia a la correlación cito-histopatológica que se realizó en el estudio podemos observar que hay muy pocas similitudes entre ambos resultados. En los resultados de las citologías, hay que destacar que el 8% (4 casos) de las pacientes fueron recibidas en el hospital con referencias que no aclaraban el diagnóstico de la paciente por lo tanto no fueron tomadas en cuenta para esta correlación, sin embargo estas fueron incluidas en el estudio por presentar un diagnóstico histopatológico de NIC 2 o mayor. El 4% (2 casos) de las pacientes fue diagnosticada y referida al área de Colposcopia del HNM por ASCUS, un 24% (12 casos) por una lesión escamosa intraepitelial de bajo grado o displasia leve y un 32% (16 casos) con diagnóstico de lesión de alto grado también conocidas como displasias moderadas o severas. Solamente 1 caso (2%) fue enviada con un diagnóstico de “Hallazgos sospechosos de invasión”, mientras que otro 24% (12 casos) con Cáncer escamo celular. El 6% (3 casos) de las mujeres incluidas en el estudio presentaban un diagnóstico de Adenocarcinoma.

Por el otro lado, en cuanto a los resultados de los estudios histopatológicos, podemos notar que se descartó la presencia de cualquier diagnóstico de lesión de bajo grado, dado que era uno de los criterios de exclusión. El 44% (22 casos) de las pacientes involucradas presentaron por medio de una biopsia una lesión escamosa intraepitelial de alto grado. De este porcentaje, el 32% (16 casos) presentó un NIC 2 y el 12% (6 casos) un diagnóstico de NIC 3. La mayoría de las mujeres a las que se le realizó una biopsia al ser referidas al HNM obtuvieron un resultado de Cáncer escamo celular, siendo este un 44% (22 casos) de la población. El restante 12% (6 casos) indicó tener un diagnóstico de adenocarcinoma. (Ver tabla 9).

Además de los datos anteriores, otras cifras muy importantes que pudimos obtener son la cantidad de días que transcurre desde el día que se le realizó la citología a las pacientes en la Unidad de Salud, hasta el día que se les realiza la colposcopia en el HNM. Podemos observar que hay una media de 143 días para que ocurran estos dos eventos. Por otro lado también se obtuvo el promedio del tiempo que transcurre desde el día que se entrega la referencia, hasta el día que las pacientes son recibidas en la unidad de colposcopia, con una media de 44 días.

**Tabla 9: Demuestra la correlación entre los resultados de citología y los resultados de biopsias de las pacientes referidas al HNM.**

<u>Citología</u>	<u>Resultado Histopatológico</u>				<b>TOTAL</b>
	<b>NIC 2</b>	<b>NIC 3</b>	<b>CA Escamocelular</b>	<b>Adenocarcinoma</b>	
<b>ASCUS</b>	2	0	0	0	2
<b>LEI BG</b>	5	2	5	0	12
<b>LEI AG</b>	6	3	5	2	16
<b>Hallazgo sosp. de invasión</b>	0	0	1	0	1
<b>CA Escamocelular</b>	2	0	10	0	12
<b>Adenocarcinoma</b>	0	0	0	3	3
<b>TOTAL</b>	15	5	21	5	46

## **ANALISIS Y DISCUSION**

La determinación de la presencia del Virus del Papiloma Humano, se ha vuelto una práctica frecuente enfocada hacia la prevención de patologías como el cáncer cervico uterino y las lesiones pre cancerosas. Aunque en nuestro país no es una técnica que se utiliza frecuentemente, se ha demostrado en países desarrollados, que es un indicador específico para determinar la presencia de estas enfermedades y que si se utiliza de manera oportuna, se puede prevenir un amplio número de patologías cervicales malignas.

En el caso de esta investigación, se observó la presencia de VPH en el 90% (45/50 casos) de las pacientes que se vieron involucradas en el estudio, lo que demuestra una alta prevalencia de la presencia de este virus en las pacientes con estas enfermedades. El restante 10% (5/50 casos) de las pacientes involucradas, obtuvo resultados negativos a VPH. Como se aclaró anteriormente, es necesaria una infección por este virus para el desarrollo de estas enfermedades, por lo que este resultado negativo a la presencia del virus en estas pacientes, se puede atribuir a una carga viral muy baja en la paciente, a una inadecuada técnica durante la toma de la muestra, a una toma de la muestra del lugar incorrecto, o incluso a una inadecuada extracción de ADN. Sin embargo esta posibilidad es la menos probable a ocurrir ya que posterior a la extracción se realizaba una electroforesis la cual nos dejaba observar que si había presencia de ADN, lo que validaba la extracción.

El objetivo del presente estudio, es determinar la prevalencia de los genotipos 16 y 18 del VPH así como la presencia de VPH en general, en pacientes con lesiones de alto grado (NIC 2 y NIC 3) y cáncer cervico uterino en el HNM. Esto se realizó por medio de una técnica de PCR y electroforesis casera y con el uso de protocolos validados y equipo apto para este tipo de análisis. De igual manera, se analiza la relación de estas enfermedades con el perfil socioeconómico, conocimientos, actitudes y prácticas de las pacientes incluidas en el estudio, para poder conocer mejor el perfil epidemiológico de las personas que sufren de estas patologías.

En un total de 50 pacientes incluidas en el estudio, como se mencionó anteriormente, 45/50 de ellas (90%) resultaron positivas a una infección por VPH. De estas pacientes, 14/45 de ellas (31%) obtuvo resultados positivos para el genotipo de VPH 16. 7/45 de estas pacientes (16%) obtuvo resultados positivos a el genotipo 18 del VPH, mientras que 1/45 de las pacientes (2%) tiene resultados positivos a ambos genotipos del VPH. Esto significa que el 49% de las pacientes involucradas en el estudio, poseen una infección por los genotipos más cancerígenos del Virus del Papiloma Humano y además deben de ser vigiladas más de cerca y tratadas inmediatamente por los médicos encargados para evitar o prevenir la evolución de algunas de estas lesiones a cáncer cervico uterino y posteriormente al sufrimiento y a la muerte de la paciente.

Debido a que la muestra del presente estudio no es suficiente para determinar y tomar decisiones de nuevas medidas y políticas de salud contra esta enfermedad, este estudio actúa como un modelo a pequeña escala de cuáles son los genotipos más prevalentes del VPH que acechan contra la salud de las mujeres Salvadoreñas y de ser realizado a mayor escala, puede llevar a nuevas políticas de salud como lo es la vacuna profiláctica contra estos genotipos del virus.

En cuanto al perfil epidemiológico de las pacientes con lesiones de alto grado NIC 2 y NIC 3 y cáncer del cuello uterino, podemos observar datos significativamente importantes a tomar en cuenta. Como se mencionó anteriormente, la hipótesis del equipo investigador era que se esperaba que la infección se diera más comúnmente en mujeres jóvenes y sexualmente activas entre 18 y 30 años de edad por la actividad metaplasica que ocurre entre el epitelio escamoso y columnar durante la pubertad y el primer embarazo. Al analizar los resultados obtenidos en el estudio, no podemos afirmar a que edad estas pacientes adquirieron el virus, sin embargo podemos observar que la edad predominante en la cual se observan los cambios histopatológicos es entre 30 a 49 años, por lo que podemos inferir que estas pacientes probablemente adquirieron el virus a una temprana edad, como se describe en la hipótesis. Esto pudiera estar relacionado a que el 58% (29 casos) de las pacientes inicio relaciones

sexuales entre los 16 y los 20 años de edad y que el VPH puede tomar años para causar cáncer.

Se observa también en nuestros resultados, que las pacientes con mayor riesgo de sufrir lesiones pre-cancerosas y CACU son aquellas mujeres que han carecido de algún tipo de educación o que solamente han cursado el área de primaria o menos. Además se ha identificado a las mujeres con un ingreso mensual menor a 100 dólares Americanos, como el grupo de mayor riesgo en cuanto a la variable de ingresos mensuales familiares. Esto nos indica que la infección por VPH y las lesiones y patologías que este causa están asociadas predominantemente a mujeres de escasos recursos y que carecen de una educación escolar básica, es decir a grupos socioeconómicos bajos. Este patrón puede estar asociado a que las mujeres con este perfil carecen de conocimientos básicos acerca de este virus y de estas enfermedades, no conocen las medidas de prevención comunes como el uso del preservativo o incluso que existe una mayor probabilidad de infección a mayor número de pareja sexuales.

En este estudio, se realizó un análisis estadístico y se utilizaron multi-variables de regresión logística para determinar la asociación entre las diferentes variables demográficas y socio económicas en relación al padecimiento de CACU. Se inició realizando un modelo completo en el cual se incluyeron todas las variables de interés. Se realizó el test de Wald y posteriormente se descartaron todas aquellas variables con un valor P mayor a 0.2 lo cual significa que estas variables no tenían significancia estadística.

A partir de este modelo completo, se creó un modelo resumido en el cual solamente se incluyeron aquellas variables con significancia estadística, es decir aquellas que obtuvieron un valor P menor a 0.2 con el test de Wald.

Podemos observar que la edad es estadísticamente significativa en relación al diagnóstico histopatológico (valor  $p = 0.023$ ). Las personas de edad igual o mayor a 50 años tienen 193 veces más probabilidades de tener un diagnóstico histopatológico de

carcinoma escamocelular o adenocarcinoma, en comparación con las personas de edad menores de 50 años de edad (OR = 1.93, IC del 95 %: 5.71-8.96).

El número de parejas sexuales es también estadísticamente significativo en relacionados al diagnóstico histopatológico (valor  $p= 0.027$ ). Las personas que tienen más de 2 parejas sexuales en su vida tienen 13.4 veces más probabilidades de tener un diagnóstico histopatológico de carcinoma escamocelular o adenocarcinoma, en comparación con las personas que tienen menos de o igual a 2 parejas sexuales en la vida (OR = 1.34, IC del 95 %: 1.96- 2.85).

Por otro lado, El estado civil es marginalmente significativo en relación al diagnóstico histopatológico (valor  $p= 0.073$ ). Las pacientes que son solteras / divorciadas / separadas / viudas son 8.67 veces más propensas a tener un diagnóstico histopatológico de carcinoma escamocelular o adenocarcinoma, en comparación con las personas que están casadas / acompañadas / unión libre (OR: 8.67, IC 95 %: 1.11 a 1.88), es decir con aquellas mujeres que tienen una pareja “estable”.

El nivel de educación completado es otra de las variables que es marginalmente significativo en relación al diagnóstico histopatológico (valor  $p = 0.053$  según la prueba de razón de verosimilitud).

En base a la correlación cito-histopatológica, podemos inferir que la citología realizada en el sistema público es un método de tamizaje de eficacia cuestionable. Por medio de los resultados histopatológicos podemos demostrar que se diagnosticó a 26/50 pacientes (52%) con Cáncer escamocelular y Adenocarcinoma y que el 24% de estos casos, obtuvieron por medio de una citología cervical una clasificación de lesión de bajo o alto grado. Con estos resultados, podríamos abogar por un mejor control de calidad de la citología cervical así como también de la utilización de nuevas técnicas de tamizaje, como la detección de VPH, y así poder prevenir todas estas enfermedades de manera temprana. Por otro lado, también se indago en el tiempo que transcurre desde que a una paciente se le toma la citología, hasta que es vista en la unidad de

colposcopia del HNM y podemos observar que las pacientes esperan un promedio de 4 meses y medio (143 días). Así mismo se calculó el tiempo estimado que transcurre desde el día que a las pacientes se les entrega la referencia hasta el día son vistas en la unidad de colposcopia, con un promedio de 44 días (1 mes y medio). Con estos datos podemos observar que transcurren alrededor de 3 meses para que se realice la lectura de las citologías y para que a las pacientes se les entreguen sus resultados y al mismo tiempo su referencia.

## CONCLUSIONES:

1. En las pacientes que acudieron al HNM y que se incluyeron en el estudio se observó una prevalencia de infección por VPH del 90%. De estos, la infección con los genotipos 16 y 18 del VPH se encuentra en aproximadamente 50% de las pacientes, por lo que podemos decir que a pequeña escala son los genotipos más frecuentes causantes de lesiones de cuello uterino en el hospital de referencia de nivel nacional.
2. El 60% de las pacientes con lesiones pre-cancerosas y cáncer cervico uterino, se realizan su citología cervical cada año. Con este dato podemos inferir que la citología cervical es un método de tamizaje que debe de tener un control de calidad más riguroso.
3. La edad de las pacientes y el número de parejas sexuales muestran ser factores determinantes y estadísticamente significativos para presentar lesiones premalignas y malignas causadas por el VPH. La edad tiene un valor P de 0.023 y las mujeres mayores a 50 años tienen 193 veces más probabilidades de tener un diagnóstico histopatológico de carcinoma escamocelular o adenocarcinoma, que las mujeres menores de 50 años de edad. El número de parejas sexuales tiene un valor P de 0.027 y las mujeres con más de 2 parejas sexuales tienen 13.4 veces más probabilidades de un diagnóstico de carcinoma escamocelular o adenocarcinoma que las mujeres con 2 parejas sexuales o menos.
4. Se encontró una mayor relación entre el nivel de estudio alcanzado por las pacientes y los ingresos familiares mensuales con las lesiones de alto grado (NIC 2 y NIC 3) y el CACU , siendo aquellas pacientes sin educación y con un ingreso mensual menor a 100 dólares Americanos las más propensas a padecer de estas patologías. Dados estos resultados, podemos relacionar las enfermedades ocasionadas por el VPH con la pobreza de El Salvador y de esta

manera tener en cuenta la importancia de la prevención en las personas de dicho estatus socioeconómico.

5. Se realizó una correlación cito-histopatológica de las pacientes involucradas la cual demuestra una discrepancia entre los resultados de las citologías y los resultados de las biopsias. Además se observa que el tiempo que transcurre para que las autoridades y los médicos encargados procesen las citologías es de alrededor de 3 meses. Esta larga espera para recibir el resultado de citología puede ser que tenga un impacto en el interés de las pacientes y que ellas no acudan a la unidad de salud a recoger sus resultados y su referencia.

## RECOMENDACIONES:

1. Debido a que el cáncer cervico uterino es de las principales causas de muerte por enfermedades neoplásicas en las mujeres Salvadoreñas, debe darse mayor importancia en educar a la población femenina de todas las edades, acerca de que es el VPH, como se transmite, cuales son los factores de riesgo en la mujer y como se pudiera prevenir.
2. Se recomienda a las autoridades responsables agilizar el procesamiento de las citologías para así poder entregar los resultados a las pacientes en el menor tiempo posible. De esta manera se evita perder a pacientes que necesitan de atención inmediata y por lo tanto se disminuye la incidencia de lesiones pre-cancerosa y cáncer cervico uterino.
3. A las autoridades, se les recomienda realizar un estudio para determinar la calidad de la toma, procesamiento y entrega de los resultados de las citologías.
4. Se recomienda realizar más estudios para evaluar la sensibilidad y la especificidad de la citología cervical.
5. Se recomienda a los grupos investigadores locales a realizar nuevos estudios para determinar la prevalencia de los genotipos 16 y 18 del VPH e incluso de otros genotipos que parezcan ser comunes en la población femenina de El Salvador. Así mismo se invita a los investigadores a darle continuidad a este estudio para así poder lograr una muestra más significativa y de esta manera causar impacto a nivel nacional.
6. A las instituciones involucradas, se sugiere darle seguimiento a este problema de importancia nacional para poder disminuir la incidencia y la mortalidad que estas patologías causan. Esto, para abogar por políticas de salud como la inmunización, para poder ofrecer una prevención primaria.

# ANEXOS

## ANEXO 1:

### CONSENTIMIENTO INFORMADO

#### TITULO DEL PROTOCOLO DE INVESTIGACION:

**PREVALENCIA DEL GENOTIPO 16 Y 18 DEL VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO (VPH) EN PACIENTES CON DIAGNOSTICO DE NEOPLASIA INTRAEPITELIAL CERVICAL DE ALTO GRADO (NIC 2 Y 3) O CANCER CERVICO UTERINO (CACU) EN EL HOSPITAL NACIONAL DE MATERNIDAD “DR. RAUL ARGUELLO ESCOLAN” (HNM).**

**INVESTIGADORES PRINCIPAL:** Diego Craik, Dr. Mauricio Maza.

**Co- Investigadores:** Dra. Aurora Velásquez, Dra. María Eugenia Jiménez, Dr. Alexander Bonilla, Lic. Maribel Giménez, Lic. Vanesa Valle

---

Tenga buenos días. Me gustaría explicarle en que consiste su participación en este estudio.

#### ***Introducción al Estudio***

Esta investigación está siendo realizada para determinar la presencia del Virus del Papiloma Humano (VPH) y los tipos más comunes de este virus que están asociados al Cáncer Cervico-Uterino.

Además se investigaran los factores de riesgo que están presentes en las mujeres que han sido diagnosticadas con NIC 2, NIC3 o CACU, por medio de una encuesta que se le realizara.

Para este estudio de investigación participaran x mujeres. La participación en el estudio no es obligatoria. Usted decide si desea o no participar en este, o retirarse en el momento que usted se sienta incomoda.

#### ***Participantes en el Estudio***

Usted está siendo invitada a participar en este estudio de investigación porque ha sido tratada en la clínica de colposcopia y tiene un diagnóstico de Neoplasia Intraepitelial Cervical de alto grado o de Cáncer Cervico-uterino (CACU) por biopsia.

Las mujeres invitadas a participar en este estudio no deben de haber recibido tratamiento previo.

#### ***Procedimientos del Estudio***

A toda mujer que haya sido identificada por el personal del HNM que cumpla los criterios de inclusión, se le explicara en qué consiste el estudio. Si usted esta de acuerdo en ser parte del estudio, se le realizaran una serie de preguntas que son parte

de una encuesta (posterior a la firma de este consentimiento). Dicha encuesta contiene 30 preguntas y tardara aproximadamente 10 minutos en ser llenada.

Al finalizar con la entrevista usted podrá pasar a sala de espera donde podrá esperar con normalidad ser atendida por el médico que se le ha sido asignado para continuar con su consulta.

Durante la consulta el médico realizara la evaluación clínica para determinar la extensión de la lesión o el estadio del cáncer. El médico examinador procederá a tomar una muestra del cérvix. Dicha muestra consiste en un cepillado del cérvix que se colocara en un medio de transporte, la cual será almacenada y luego procesada en un laboratorio.

### ***Riesgos y/o Beneficios de su participación en este estudio***

El que usted participe en este estudio no tiene ningún riesgo. La información que usted proporcione, será guardada bajo llave y solo será utilizada por los investigadores de este estudio.

Además dicha información será codificada con el fin de no exponer su nombre e información a sujetos ajenos a este estudio.

El examen clínico al que será sometida es parte del examen que debe realizar el médico independientemente si usted participa o no en este estudio. La muestra que se tomara es una muestra que es obtenida del cérvix, similar a la que se obtiene cuando se realiza la citología, por lo que podría presentar una leve incomodidad o un ligero sangrado temporal.

Su participación contribuirá a conocer los factores de riesgo que existen en las mujeres que son diagnosticadas con Neoplasia Intraepitelial Cervical de alto grado o CACU y ayudara en el futuro a mejorar las condiciones que pueden predisponer al padecimiento de este. Además los resultados que se obtengan de las muestras que se le tomen podrían contribuir a la toma de decisiones en relación a otras formas de prevención que se le puedan ofrecer a las mujeres de nuestro país.

### ***Compensación***

Si usted accede a participar en el estudio no será remunerada y tampoco tendrá costo alguno su participación directa en este. (Relacionados con la entrevista, toma de la muestra para determinar la presencia de VPH y determinar el tipo de VPH que está presente).

Los costos que se relacionen con su tratamiento en este Hospital son independientes al estudio.

### ***Confidencialidad***

La información que usted nos brinde y los resultados que resulten del procesamiento de las muestras es completamente confidencial y será utilizada para fines de estudio. Nadie particular tendrá acceso a ella.

Si usted en un principio accedió a participar en el estudio y desea retirarse, podrá hacerlo sin ningún problema en el momento que desee. **NO habrá ninguna consecuencia ni repercusión negativa para usted.** El tratamiento siempre estará disponible para usted y no depende de los resultados de las pruebas que se le realizaran.

### ***Preguntas y contactos***

Este formulario, así como el estudio, han sido aprobados por el Comité de Ética del Hospital Nacional de Maternidad. Usted puede comunicarse con el referido comité para cualquier consulta o denuncia a través de:

Además usted podrá contactar a:

- Dr. Mauricio Maza, director médico de Basic Health International,

Dirección: colonia Las Mercedes, ave. Los Espliegos #5, San Salvador.

Teléfono: 2283-8731

- Diego Craik,

Dirección: colonia Las Mercedes, ave. Los Espliegos #5, San Salvador.

Teléfono: 2283-8731

Yo, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_ años de edad, con profesión u oficio de \_\_\_\_\_ del domicilio de \_\_\_\_\_, portador (a) de mi Documento Único de Identidad Numero \_\_\_\_\_, por medio del presente documento

### **MANIFIESTO:**

- I. Que me he presentado al Hospital Nacional de Maternidad Doctor Raúl Arguello Escolán, solicitando asistencia médica, tal y como consta en el Expediente Clínico, registrado bajo el numero \_\_\_\_\_
- II. Que me encuentro en el pleno uso de mis facultades mentales, con capacidad para entender, decidir y consentir sobre los hechos que se me informan.-
- III. Que en este acto, el (la) (los) (las) Doctor (es) (as) \_\_\_\_\_ quien (es) es (son) de \_\_\_\_\_ años de edad, Medico(s) del domicilio (s) de \_\_\_\_\_, me ha expresado las circunstancias siguientes: A) que la Constitución de la Republica, en sus artículos 1, 2 y 65, expresa lo siguiente: “Que la persona humana es reconocida como el origen y el fin de la actividad del estado y que la vida, la integridad física y moral, la libertad, la salud, el honor, la intimidad personal, la imagen; constituyen derechos individuales que el Estado, las leyes y las personas están obligados a conservar, defender, y restablecer.” Y que el articulo 27 Incisos 1 y 3

del Código Penal expresa lo siguiente: No es responsable penalmente: 1) Quien actúa u omite en el cumplimiento de un deber legal o en el ejercicio legítimo de un derecho o de una actividad lícita ; y 2) Quien actúa u omite por necesidad de salvaguardar un bien jurídico, propio o ajeno, de un peligro real, actual o inminente, no ocasionado intencionalmente, lesionando otro bien de menor o igual valor que el salvaguardado, siempre que la conducta sea proporcional al peligro y que no tenga el deber jurídico de afrontarlo. Y B) que como consecuencia de esos preceptos legales y atendiendo a la ética profesional que rige a la Ciencia Médica y a los Reglamentos Hospitalarios, me expresa (n) que es su deber y obligación el de tratar de preservar la vida de toda paciente.

- IV. Que me informa (n) y explica (n) de manera clara y precisa en términos corrientes la investigación que se va a realizar, mi rol como participante, el procedimiento que se me va a realizar, los riesgos y beneficios de mi participación y la confidencialidad del estudio.
- V. Que he recibido del (la) Doctor (a) (es) la información y explicación necesaria y que he comprendido la necesidad de involucrarme en el estudio y siendo uno de mis derechos individuales la libertad de decidir en cuanto a mi integridad física, expreso en este acto y en forma escrita que **ACEPTO, CONSIENTO Y AUTORIZO**, libre, voluntaria y espontáneamente someterme al análisis en este Hospital, el cual será realizado por \_\_\_\_\_ y que a la vez asumo los beneficios y los riesgos que pueda presentar, los cuales expreso que se me han explicado y que a la vez comprendo.
- VI. Que ratifico en todas sus partes el **CONSENTIMIENTO** que he otorgado, el cual en este acto firmo e/ o imprimo la (s) huella (s) de mi (s) pulgares.
- VII. Así mismo expreso en este acto que no se firmar, razón por la cual lo hará a mi ruego \_\_\_\_\_, quien es de \_\_\_\_\_ años de edad, con profesión u oficio de \_\_\_\_\_, del domicilio de \_\_\_\_\_ portador (a) de su Documento Único de Identidad Numero \_\_\_\_\_.-

En la Ciudad de San Salvador, a las \_\_\_\_\_ horas y \_\_\_\_\_ minutos del día de \_\_\_\_\_ del año dos mil trece.

Firma de la Paciente:

Huellas de la Paciente:

Nombre de la persona a cargo:

Documento Unico de Identidad:

Fecha de Nacimiento:

Profesion u Oficio:

Domicilio:

Firma: \_\_\_\_\_

**ANEXO 2:**

Fecha _____	Participante # _____	Entrevistador: _____
<b>Hospital Nacional de Maternidad</b>		
Hora de Inicio _____	Hora de Finalización _____	

**PREVALENCIA DEL GENOTIPO 16 Y 18 DEL VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO (VPH) EN PACIENTES CON DIAGNOSTICO DE NEOPLASIA INTRAEPITELIAL CERVICAL DE ALTO GRADO (NIC 2 Y 3) O CANCER CERVICO UTERINO (CACU) EN EL HOSPITAL NACIONAL DE MATERNIDAD “DR. RAUL ARGUELLO ESCOLAN” (HNM).**

**CUESTIONARIO INICIAL**

**ENTREVISTADOR: ADMINISTRAR EL FORMULARIO DE CONSENTIMIENTO Y LUEGO LEER EL SIGUIENTE TEXTO A LA PARTICIPANTE**

Gracias por tomar parte en el estudio. Su participación es muy importante para nosotros.

Usted puede negarse a contestar cualquier pregunta o el resto de las preguntas en cualquier momento, pero le recordamos que su aporte es muy importante. Recuerde que toda la información que usted nos proporcione será confidencial. Únicamente los investigadores del estudio verán las respuestas que nos proporcione.

Voy a leerle las preguntas. Por favor elija la mejor respuesta, no hay respuestas buenas o malas. Conteste lo que a usted le parezca o lo que piensa. Si usted no entiende la pregunta, por favor dígame y yo se la explicaré.

El cuestionario tomará unos 10 minutos en ser completado.

¿Tiene alguna pregunta?

## Información personal

1. ¿Qué edad tiene?

---

2. ¿Cuál es su dirección? (Departamento y Municipio)

---

3. ¿Cuál es su estado civil?

- Casada (1)
- Acompañada o en unión libre (2)
- Viuda (3)
- Divorciada o separada (4)
- Soltera (5)

4. ¿Cuántos hijos tiene?

- Ninguno (1)
- 1 o 2 (2)
- 3 a 6 (3)
- 7 o más (4)

5. A qué edad tuvo usted su primer hijo?

\_\_\_\_\_ años

6. Sus partos han sido por vía vaginal o por cesárea?

---

7. Aparte de usted, ¿cuántas personas viven en su hogar?

- Ninguna (1)
- 1 o 2 (2)
- 3 o 4 (3)
- 5 o 6 (4)
- 7 o más (5)

8. ¿Cuál es el grado o nivel de educación que ha completado?

- Ninguno (1)
- Primaria (2)
- Secundaria (3)
- Bachillerato (4)
- Completó Bachillerato (Diploma) (5)
- Estudios superiores (vocacional o técnico) (6)
- Universidad (7)
- Completo estudios universitarios (diploma) (8)
- Otros: \_\_\_\_\_

9. Trabaja usted fuera de la casa?

- Si (1)
- No (2)

10. Cuanto es el ingreso mensual en su familia?

- Menos de 50 dólares (1)
- De 50 a 100 dólares (2)
- De 100 a 200 dólares (3)
- De 200 a 500 dólares (4)
- Más de 500 dólares (5)

11. ¿Ha fumado usted más de 100 cigarros a lo largo de su vida? (100 cigarros = 5 cajetillas)

Si (1)

No (2)

12. ¿Fuma actualmente?

Si (1)

No (2)

13. ¿Algún miembro de su familia inmediata (madre, padre, hermano, hermana, abuela, abuelo o hijos) tuvo o tiene cáncer?

Si (1)

¿Quién? \_\_\_\_\_

¿Qué tipo de cáncer? \_\_\_\_\_

¿Quién? \_\_\_\_\_

¿Qué tipo de cáncer? \_\_\_\_\_

¿Quién? \_\_\_\_\_

¿Qué tipo de cáncer? \_\_\_\_\_

No (2)

No sé / No estoy segura (3)

**Ahora voy a realizarle unas preguntas acerca del Virus del Papiloma Humano (VPH).**

14. Ha oído hablar sobre el Virus del Papiloma Humano (VPH)?

- Si (1)
- No (2)
- No sé / No estoy segura (3)

15. Sabía usted que el Virus del Papiloma Humano se transmite por contacto sexual y que puede causar cáncer de cérvix?

- Si (1)
- No (2)
- No sé / No estoy segura (3)

Si la respuesta a las preguntas 14 y/o 15 es **SI** por favor conteste la siguiente pregunta:

16. De donde obtuvo usted esta información?

- Del personal de salud (1)
- De algún medio de comunicación (radio, televisión etc.) (2)
- De una amiga o vecina (3)
- No sé / No estoy segura (4)

**Ahora voy a hacerle algunas preguntas que son un poco más personales. Usted puede rehusarse a contestar cualquier pregunta o el resto de las preguntas en cualquier momento. Recuerde que toda la información que nos proporcione será confidencial. Únicamente los investigadores del estudio verán las respuestas.**

**Le solicitamos que sea lo más honesta posible ya que la información que usted nos proporcione podría ayudar a encontrar formas de prevenir en cáncer cervical.**

17. ¿A qué edad tuvo usted su primera relación sexual?

- A los \_\_\_\_\_ años (1)
- No sé / No estoy segura (2)
- Se negó a contestar (3)

18. A lo largo de su vida, ¿cuántas parejas sexuales ha tenido (aproximadamente)?

- Un total de \_\_\_\_\_ (1)
- No sé / No estoy segura (2)
- Se negó a contestar (3)

19. En el último año, ¿cuántas parejas sexuales distintas ha tenido (aproximadamente)?

- Un total de \_\_\_\_\_ (1)
- No sé / No estoy segura (2)
- Se negó a contestar (3)

20. Ha utilizado anteriormente algún método anticonceptivo?

- Si (1)
- No (2)

Si su respuesta es **SI** por favor conteste la siguiente pregunta.

20a. Qué tipo de anticoncepción ha utilizado?

- Preservativo (1)
- Anticonceptivos orales (2)
- Anticonceptivos inyectables (3)
- Dispositivo intrauterino (DIU) (4)
- Otros: \_\_\_\_\_ (5)

Si su respuesta es **Anticonceptivos orales**, por favor conteste la siguiente pregunta.

20b. Por cuánto tiempo los ha utilizado?

- De uno a cinco años (1)
- De 5 a diez años (2)
- Más de diez años (3)

21. A esta fecha, está usted utilizando métodos de anticoncepción?

- Si (1)
- No (2)

22. Antes de ser referida hacia esta institución cuan seguido se realizaba usted la citología?

- Cada año (1)
- Cada dos años (2)
- Cada tres años (3)
- Tenía más de 5 años de no realizársela (4)
- Nunca se la había realizado (5)
- No sabe / No está segura (6)

Si su respuesta es que nunca se había realizado una citología previa a esta por la que fue referida, cuáles fueron sus razones?

	Si	No
22a. No confiaba en los médicos		
22b. Tenía miedo que le dijeran que tenía algo grave		
22c. Prefería hacerlo después/ Estaba muy ocupada		
22d. Se sentía apenada o incomoda cuando un doctor del sexo opuesto la examinaba		
22e.No tenía medio de transporte		
22f. No sabía que era importante realizarse la citología		
22g. El personal médico/enfermería nunca le dijeron de la importancia de realizarse la citología		
22h. No podía ausentarse de su trabajo		
22i. No tenía a nadie que le cuidara a los niños		
22j. No sabía dónde ir		
22k. Sentía que los doctores u otros profesionales médicos no la trataban bien		
22l. Tenía que esperar por mucho tiempo en la unidad de salud/medico		
22m. La clínica le queda muy lejos de donde usted vive		
22n. Le resulta muy caro llegar hasta la Unidad de salud/medico		
22l. A su pareja no le gustaba que la examinara un doctor del sexo opuesto		
22o.No le gusta ir sola y no había nadie que la acompañara		
22p.Pensaba que era un examen muy doloroso		
22q. Otro. Explique:		

23. Sus citologías anteriores habían tenido un resultado?

- Normal (1)
- Anormal (2)
- No sabe/No está segura (3)

23a. Si su respuesta es **anormal**, sabe usted que diagnostico tenia?

- Si, Cual? \_\_\_\_\_ (1)
- No (2)

23b. Si la respuesta es **sí**, se le realizo algún tipo de procedimiento?

- Si Cual? \_\_\_\_\_ (1)
- No (2)

23c. O ha recibido alguna vez, tratamiento para cáncer de cérvix anteriormente?

- Si, hace cuánto tiempo? \_\_\_\_\_ (1)
- No (2)

**Ahora voy a realizarle unas preguntas relacionadas con enfermedades de transmisión sexual. Recuerde que toda la información que proporcione es confidencial.**

24. ¿Alguna vez ha tenido una infección/enfermedad de transmisión sexual (verrugas genitales, Clamidia, Gonorrea, sífilis, herpes, Tricomonas,

- Si (1)
- No (2)
- No sé / No estoy segura (3)

Si la respuesta es **SI**, por favor conteste las siguientes preguntas

24a. Sabe usted qué clase de enfermedad/infección de transmisión sexual le fue diagnosticada?

- Vaginitis (Infección por Clamidia) (1)
- Verrugas genitales (Herpes genital) (2)
- Otra: \_\_\_\_\_ (3)
- No se /no recuerdo (4)

24b. Ha sido usted diagnosticada en más de una ocasión con alguna de las enfermedades antes mencionadas?

- Si (1)
- No (2)

25. Recibió usted tratamiento para esa enfermedad?

- Si (1)
- No (2)

26. Ha escuchado hablar sobre el VIH?

- Si (1)
- No (2)

27. Se ha usted realizado alguna vez la prueba del VIH?

- Si (1)
- No (2)

Si la respuesta es **SI**, por favor conteste la siguiente pregunta.

27a. La respuesta al examen de VIH fue:

- Reactiva, hace cuánto tiempo fue diagnosticada? (1)
- No Reactiva (2)

**Agradezca a la participante por su tiempo**



**ANEXO 4:**

**USO EXCLUSIVO PARA EL INVESTIGADOR (Laboratorio)**

NOMBRE:

---

CODIGO O NUMERO DE REGISTRO:

---

FECHA DE PROCESAMIENTO DE MUESTRA:

---

NOMBRE DE INVESTIGADOR QUE REFIERE:

---

**RESULTADO:**

31. VPH

Positivo (1)

Negativo (2)

32. VPH 16

Positivo (1)

Negativo (2)

33. VPH 18

Positivo (1)

Negativo (2)

NOMBRE Y FIRMA DE INVESTIGADOR (Laboratorio):

## REFERENCIAS

1. Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin DM. GLOBOCAN 2008, cancer incidence and mortality worldwide: IARC Cancer Base number 10. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer; 2010. <http://globocan.iarc.fr> (accessed Aug 19, 2013).
2. de Villiers EM, Fauquet C, Broker TR, Bernard HU, zur Hausen H. Classification of papillomaviruses. *Virology* 2004; 324: 174:
3. Bouvard V, Baan R, Straif K, et al. A review of human Carcinogens part B: biological agents. *Lancet Oncol* 2009; 10: 321 ;
4. Muñoz N, Castellsagué X, Berrington de González A, Gissmann L (2006). "Chapter 1: HPV in the etiology of human cancer". *Vaccine* 24 (3): S1–S10. doi:10.1016/j.vaccine.2006.05.115. PMID 16949995.
5. De Sanjose S, et al. Human papillomavirus genotype attribution in invasive cervical cancer: a retrospective cross-sectional worldwide study. *Lancet oncol* 2010; 1048-56 (October 18, 2010)
6. Ghittoni R, Accardi R, Hasan U, Gheit T, Bakary Sylla B, Tommasino M. The biological properties of E6 and E7 oncoproteins from human papillomaviruses. *Virus Genes* (2010) 40:1–13 DOI 10.1007/s11262-009-0412-8
7. Chaturvedi, Anil; Maura L. Gillison (March 4, 2010). "Human Papillomavirus and Head and Neck Cancer". In Andrew F. Olshan. *Epidemiology, Pathogenesis, and Prevention of Head and Neck Cancer* (1st ed.). New York: Springer. ISBN 978-1-4419-1471-2.
8. Lowy DR, Solomon D, Hildesheim A, Schiller JT, Schiffman M. "Human Papillomavirus infection and the primary and secondary prevention of cervical cancer" **Cancer**. 2008 Oct 1;113(7 Suppl):1980-93. doi: 10.1002/cncr.23704. Review.PMID:18798536
9. Jastreboff AM, Cymet T. Role of the human papillomavirus in the development of cervical intraepithelial neoplasia and malignancy. *Postgrad Med J* 2002;78:225-8.
10. Mandado PS y cols. Virus del papiloma humano. *G Rev Mex Patol Clin*, Vol. 50, Núm. 1,

11. Llop HA, Valdés-Dapena MM, Zuazo S. Microbiología y Parasitología Médicas. Ciudad Habana, Cuba: Editorial Ciencias Médicas, 2001: Tomo II: 79-108.
12. Moro SA. La Oncoproteína E7 del VPH como modulador del efecto del IFN $\alpha$ 2b en una línea tumoral humana. Tesis en opción al grado de Doctor en Ciencias Biológicas. La Habana. Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología, 2000.
13. Ho, G.Y., Bierman, R., Beardsley, L., Chang, C.J., Burk, R.D., 1998. Natural history of cervicovaginal papillomavirus infection in young women. *N. Engl. J. Med.* 338, 423– 428.
14. Molano, M., Van den, B.A., Plummer, M., Weiderpass, E., Posso, H., Arslan, A., Meijer, C.J., Munoz, N., Franceschi, S., 2003. Determinants of clearance of human papillomavirus infections in Colombian women with normal cytology: a population-based, 5-year follow-up study. *Am. J. Epidemiol.* 158, 486– 494.
15. Richardson, H., Kelsall, G., Tellier, P., Voyer, H., Abrahamowicz, M., Ferenczy, A., Coutlee, F., Franco, E.L., 2003. The natural history of type-specific human papillomavirus infections in female university students. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 12, 485– 490.
16. Woodman, C.B., Collins, S., Winter, H., Bailey, A., Ellis, J., Prior, P., Yates, M. Schiffman et al. / *Virology* 337 (2005) 76–84 83 M., Rollason, T.P., Young, L.S., 2001. Natural history of cervical human papillomavirus infection in young women: a longitudinal cohort study. *Lancet* 357, 1831–1836.
17. Munoz, N., Bosch, F.X., de Sanjose, S., Herrero, R., Castellsague, X., Shah, K.V., Snijders, P.J., Meijer, C.J., 2003. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *N. Engl. J. Med.* 348, 518– 527.
18. Bosch F., M.M. Manos, N. Munoz, M. Sherman, A.M. Jansen, J. Peto, M.H. Shiffman, V. Moreno, R. Kurman, and K.V. Shah. 1995. Prevalence of human HPV in cervical cancer: a worldwide perspective. *J. Natl. Cancer Inst.* 87, 796-802.
19. Burd, E.M. 2003. Human papillomavirus and cervical cancer. *Clin. Microbiol. Rev.* 16, 1-17.

20. H. zur Hausen, Papillomaviruses and cancer: from basic studies to clinical application. *Nat. Rev. Cancer* 2, 342 (2002)
21. Kumar, Vinay; Abbas, Abul K.; Fausto, Nelson; Mitchell, Richard (2007). "Chapter 19 The Female Genital System and Breast". *Robbins Basic Pathology* (8 ed.). Philadelphia: Saunders. ISBN 1-4160-2973-7.
22. Roden, R.B., D.R. Lowy, and J.T. Schiller. 1997. Papillomavirus is resistant to dessication. *J. Infect Dis.* 176, 1076-1079.
23. Burk, R.D., P. Kelly, J. Feldman, J. Bromberg, S.H. Vermund, J.A. Deltovitz, and S.H. Landesman. 1996. Declining presence of cervicovaginal human papillomavirus infection with age is independent of other risk factors. *Sex Transm. Dis.* 23, 333-341.
24. Adam, E., Z. Berkova, Z. Daxnerova, J. Icenogle, W.C. Reeves, and R.H. Kaufman. 2001. Papillomavirus detection: demographic and behavioral characteristics influencing the identification of cervical disease. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 182, 257-264.
25. Jung, W.W. Et al. Strategies Against Human Papillomavirus Infection And Cervical Cancer. *The Journal of Microbiology*, December 2004, p.255-266 Vol. 42, No. 4 Copyright 2004, The Microbiological Society of Korea.
26. Bartlett & Stirling (2003)—A Short History of the Polymerase Chain Reaction. In: *Methods Mol Biol.* 226:3-6
27. Torres Tejada, A.G. Baca, B. Reacción en cadena de la polimerasa. *Elementos*, No. 23, Vol. 3, 1995, pp. 16 – 21. Disponible en (Available at): <http://www.elementos.buap.mx/num23/pdf/16.pdf>
28. Kumar V, Abbas A, Fausto N. *Robbins y Cotran Patología Estructural y Funcional*, Séptima Edición. Unidad I "Patología General". Capítulo 7 "Neoplasia". Pg. 274. Elsevier, España S.A (2007)
29. Schiffman M, Wentzensen N. Human papillomavirus infection and the multistage carcinogenesis of cervical cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2013 Apr;22(4):553-60. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-12-1406.

30. Muñoz N, Franceschi S, Bosetti C, et al. Role of parity and human papillomavirus in cervical cancer: the IARC multicentric case-control study. *Lancet* 359(9312):1093–1101 (March 30, 2002).
31. Moreno V, Bosch FX, Muñoz N, et al. Effect of oral contraceptives on risk of cervical cancer in women with human papillomavirus infection: the IARC multicentric case-control study. *Lancet* 359(9312):1085–1092 (March 30, 2002).
32. Hildesheim A, Herrero R, Castle PE, et al. HPV co-factors related to the development of cervical cancer: results from a population-based study in Costa Rica. *British Journal of Cancer* 84(9): 1219–1226 (May 4, 2001).
33. Szarewski A, Cuzick J. Smoking and cervical neoplasia: a review of the evidence. *Journal of Epidemiological Biostatistics* 3:229–256 (1998).
34. Smith JS, Herrero R, Bosetti C, et al. Herpes simplex virus-2 as a human papillomavirus cofactor in the etiology of invasive cervical cancer. *Journal of the National Cancer Institute* 94(21):1604–1613 (November 6, 2002).
35. Dos Santos IS, Beral V. Socio-economic differences in reproductive behaviour. *IARC Scientific Publications* 138:285–308 (1997).
36. de Sanjose S, Palefsky J. Cervical and anal HPV infections in HIV positive women and men. *Virus Research* 89(2):201–211 (November 2002).
37. Schiffman M, Kruger Kjaer S. Chapter 2: Natural history of Anogenital Human Papillomavirus Infection and Neoplasia. *Journal of the National Cancer Institute Monographs*. No. 31, 2003.
38. Agorastos T, Miliaras D, Lambropoulos A, Chrisafi S, Kotsis A, Manthos A, Bontis J (2005). «Detection and typing of human papillomavirus DNA in uterine cervixes with coexistent grade I and grade III intraepithelial neoplasia: biologic progression or independent lesions?». *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 121 (1): pp. 99-103.
39. Park J, Sun D, Genest D, Trivijitsilp P, Suh I, Crum C (1998). «Coexistence of low and high grade squamous intraepithelial lesions of the cervix: morphologic progression or multiple papillomaviruses?». *Gynecol Oncol* 70 (3): pp. 386-91.

40. World Health Organization, International Agency on Research for Cancer (IARC). WHO histological classification of tumours of the uterine cervix. Disponible en (available at): <http://screening.iarc.fr/atlasclassifwho.php?lang=1>
41. American Joint Committee on Cancer. 7th edition – Cervix Uteri Cancer Staging. Disponible en (Available at): <http://www.cancerstaging.org/staging/posters/cervix24x30.pdf>. Accedido (Accessed): enero 17, 2012.