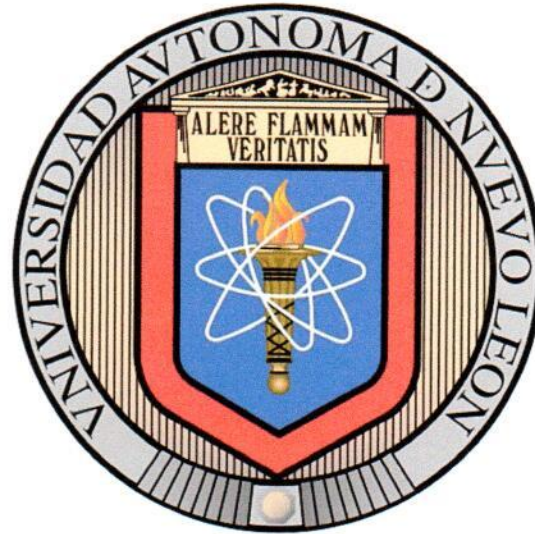


UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE MEDICINA



TESIS:

ASOCIACIÓN DEL DESARROLLO DE LESIONES INTRAEPITELIALES
CERVICALES CON LA PRESENCIA DE COINFECCIONES DEL VPH Y
OTROS PATÓGENOS ASOCIADOS A INFECCIONES VAGINALES

por

DR. DIEGO VIDAL TORRES

Como requisito para obtener el Grado de
Especialidad en Ginecología y Obstetricia

Febrero 2022

**“ASOCIACIÓN DEL DESARROLLO DE LESIONES INTRAEPITELIALES
CERVICALES CON LA PRESENCIA DE COINFECCIONES DEL VPH Y
OTROS PATÓGENOS ASOCIADOS A INFECCIONES VAGINALES”**

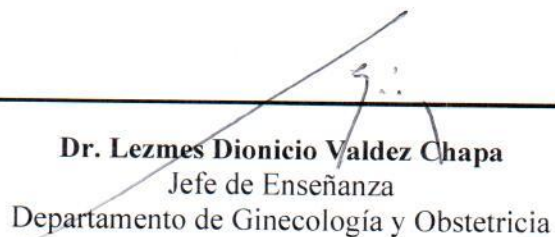
Aprobación de la tesis:



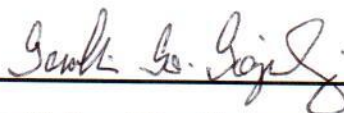
Dr. med. Oscar Vidal Gutiérrez
Director de Tesis



Dra. C. María de Lourdes Garza Rodríguez
Co-Director de Tesis




Dr. Lezmes Dionicio Valdez Chapa
Jefe de Enseñanza
Departamento de Ginecología y Obstetricia



Dra. C. Geraldina Guerrero González
Coordinadora de Investigación
Departamento de Ginecología y Obstetricia



Dr. med. Abel Guzmán López
Jefe del Departamento de Ginecología y Obstetricia



Dr. med. Felipe Arturo Morales Martínez
Subdirector de Estudios de Posgrado

“ASOCIACIÓN DEL DESARROLLO DE LESIONES INTRAEPITELIALES CERVICALES CON LA PRESENCIA DE COINFECCIONES DEL VPH Y OTROS PATOGENOS ASOCIADOS A INFECCIONES VAGINALES”

presentado por:

Dr. Diego Vidal Torres

Este estudio se desarrolló bajo la dirección del Dr. med. Óscar Vidal Gutiérrez y la co-dirección de la Dra. C. María de Lourdes Garza.

ASPECTOS ÉTICOS

Este estudio fue aprobado por el Comité de Ética en Investigación de la Facultad de Medicina y Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González” de la Universidad Autónoma de Nuevo León.

FINANCIAMIENTO DEL ESTUDIO

Para desarrollar el presente trabajo se contó con el apoyo económico del Centro Universitario Contra el Cáncer, por medio del Servicio de Oncología.

LUGARES DE TRABAJO

El presente estudio fue desarrollado en las instalaciones del Laboratorio de Investigación Básica Clínica (LIBAC) del Centro Universitario Contra el Cáncer (CUCC) a través del Servicio de Oncología – Departamento de Medicina Interna, así como el Departamento de Ginecología y Obstetricia, ambos de la Facultad de Medicina y Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González” de la Universidad Autónoma de Nuevo León (UANL).

COLABORADORES

*De la Facultad de Medicina y Hospital Universitario
"Dr. José Eleuterio González" de la Universidad Autónoma de Nuevo León*

Servicio de Oncología

Dr. med. Óscar Vidal Gutiérrez
Dra. C. María de Lourdes Garza Rodríguez
Dra. C. Diana Cristina Pérez Ibañez
M.C. Hazyadee Frejia Rodríguez Gutiérrez



Departamento de Ginecología y Obstetricia

Dr. med. Donato Saldívar Rodríguez
Dr. Mauro Antonio Macedo



Estudiantes de Pregrado

Est. med. Carolina Elizabeth Muñiz Garza
Est. med. Víctor Rodríguez González
Est. med. Yassodari Argüelles Herrera



AGRADECIMIENTOS

A las autoridades de la Facultad de Medicina y Hospital Universitario de la UANL, en especial a la Coordinación de Área Clínica de la Subdirección de Estudios de Posgrado, por las facilidades dadas para realizar el programa de Especialidad en Ginecología y Obstetricia.

A la Dra. C. María Lourdes Garza Rodríguez por su constante asesoramiento en el área de investigación clínica, ya que sin su orientación y conocimientos este proyecto no hubiera sido posible.

Al Dr. med. Donato Saldívar Rodríguez, que como jefe del Departamento de Ginecología y Obstetricia siempre apoyó a los residentes y este proyecto y toda investigación científica que pusiera en alto el nombre del departamento. De igual manera al Dr. med. José Gerardo Garza Leal y el Dr. med. Abel Guzmán López y al que, como jefes de los Servicios de Ginecología y Obstetricia respectivamente también han sido un apoyo enorme para los residentes.

Al Dr. C. Miguel Ángel Elizondo Riojas, por ser la mente maestra de muchos proyectos desarrollados en el LIBAC, y su total entrega y dedicación a la investigación y a la ciencia.

Al Dr. Mauro Antonio Macedo, ya que existen pocos doctores con su don y pasión por la docencia, herramientas insustituibles para la formación de mejores doctores.

Al Dr. med. Emilio M. Treviño Salinas, Dr. med. Ricardo Ibarra Patiño y al Dr. Juan Antonio Soria López, quienes continúan dedicando su tiempo a la docencia, especialmente en el área clínica y quirúrgica, sirviendo siempre como mentores a todos los residentes del departamento de Ginecología y Obstetricia.

A mi madre Norma Leticia Torres de Vidal que siempre me ha brindado su apoyo incondicional y confianza en cada paso que he dado en mi vida, enseñándome a trabajar siempre por lo que me apasiona.

Finalmente, a mi padre, mi mentor y mi mayor ejemplo a seguir, Dr. med. Óscar Vidal Gutiérrez, quien ha dedicado su vida a la medicina y marcó una diferencia en la Ginecología Oncológica en nuestro Hospital, siempre respetando la calidad de vida y el derecho a la salud de las personas con padecimientos oncológicos.

TABLA DE CONTENIDO

	Página
Resumen.....	1
Abstract.....	2
Capítulo I	
1. Introducción.....	3
Capítulo II	
2. Antecedentes.....	3
Capítulo III	
3. Justificación.....	21
Capítulo IV	
4. Hipótesis.....	22
Capítulo V	
5. Objetivos.....	23
Capítulo VI	
6. Estrategia General.....	24
Capítulo VII	
7. Material y Métodos.....	25
Capítulo VIII	
8. Resultados	32
Capítulo IX	
9. Discusión.....	41

Capítulo X	
10. Conclusión.....	44
Capítulo XI	
11. Anexos.....	45
11.1 Carta de Aceptación del Comité de Ética en Investigación.....	45
11.2 Cuestionario.....	46
11.3 Carta de Consentimiento Informado.....	49
11.4 Actividad Científica.....	57
Capítulo XII	
12. Bibliografía.....	59
Capítulo XIII	
13. Resumen Autobiográfico	68

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla	Página
1. Clasificación general de los tipos de VPH por su riesgo oncogénico y su asociación a enfermedades de acuerdo a la evaluación de la IARC.....	8
2. Reacción por muestra	29
3. Protocolo de ciclado de la PCR.....	30
4. Componentes de la reacción de PCR en tiempo real.....	31
5. Protocolo de ciclado de la PCR en tiempo real.....	31
6. Características sociodemográficas de las pacientes.....	32
7. Antecedentes gineco-obstétricos.....	33
8. Diagnóstico de patología vulvar.....	34
9. Correlación entre positividad de VPH y Vaginosis Bacteriana.....	39
10. Correlación entre Vaginosis Bacteriana y alteraciones histológicas en citologías cervicales.....	40
11. Correlación entre condilomatosis y presencia de Ureaplasma spp.	40

INDICE DE FIGURAS

Figura	Página
1. Integración del VPH en el genoma huésped.....	6
2. Descripción gráfica de las alteraciones producidas por la integración del VPH.....	12
3. Estrategia general.....	24
4. Factores de riesgo asociados a hábitos del paciente.....	33
5. Métodos de anticoncepción.....	34
6. Características cervicales.....	35
7. Amplificación del gen β -globina de las muestras como control de calidad.....	36
8. Distribución de muestras positivas y negativas a VPH y amplificación del gen β -globina y de la región L1 del VPH de las muestras.....	37
9. Frecuencia del tipo de VPH en las citologías exfoliativas (Papanicolaou).....	38
10. Detección de patógenos asociados a vaginosis.....	38

LISTA DE ABREVIATURAS

- ADN:** Ácido Desoxirribonucleico.
- VPH:** Virus del Papiloma Humano.
- VPH-AR:** Virus del Papiloma Humano de Alto Riesgo.
- VPH-BR:** Virus del Papiloma Humano de Bajo Riesgo.
- CACU:** Cáncer Cervicouterino.
- LCR:** Long Control Region.
- IARC:** International Agency for Research on Cancer.
- VIH:** Virus de Inmunodeficiencia Humana.
- HSV-2:** Virus del Herpes Simplex 2.
- HBV:** Virus de la Hepatitis B.
- HCV:** Virus de la Hepatitis C.
- FDA:** US Food and Drug Administration.
- PCR:** Reacción en cadena de la polimerasa.
- ddPCR:** PCR digital en nanogotas.
- qPCR:** PCR en tiempo real.
- ETS:** Enfermedades de transmisión sexual.
- NAAT:** Amplificación de ácidos nucleicos.
- SPSS:** Statistical Package for de Social Sciences.
- IMC:** Índice de masa corporal.
- UU:** Ureaplasma Urealiticum.
- UP:** Ureaplasma Parvum.
- MH:** Mycoplasma Hominis.
- MG:** Mycoplasma Genitalum.

RESUMEN

Resumen de marco teórico: La infección por virus del papiloma humano (VPH) es la enfermedad de transmisión sexual más común causa 500,000 casos de cáncer cervicouterino (CaCU) y se estima que ocasiona 250,000 muertes anuales a nivel mundial. En México la incidencia es de 23.3 casos por cada 100,000 mujeres, teniendo en primer lugar de incidencia de cáncer en mujeres de 15 a 44 años.

Además de las características virales que contribuyen a la carcinogénesis, existen otros factores externos o ambientales que han sido identificados como factores de riesgo de progresión a CaCU. Recientemente varios estudios han señalado el papel de la microbiota vaginal en el proceso de adquisición y persistencia de VPH y riesgo de desarrollo de CaCU. De manera similar, otros microorganismos de importancia ginecológica como *G. vaginalis*, *Ureaplasma* y *Mycoplasma* se incluyen en este contexto.

Propósito y método de estudio: El propósito de este estudio fue encontrar una correlación entre el desarrollo de lesiones intraepiteliales cervicales o CaCU, 28 genotipos de Virus de Papiloma Humano (VPH) y 7 patógenos asociados a infecciones vaginales incluyendo: *Chlamydia Trachomatis* (CT), *Neisseria Gonorrhoeae* (NG), *Trichomona Vaginalis* (TV), *Mycoplasma Hominis* (MH), *Mycoplasma Genitalium* (MG), *Ureaplasma Urealyticum* (UU) y *Ureaplasma Parvum* (UP).

Un total de 44 mujeres participaron en este estudio, en el cual se realizó una citología cervical en base líquida de Preservcyt con un cepillo citobrush, posteriormente se realizó una amplificación de DNA de 1 gen de la beta-globina para detección de VPH de alto riesgo (16/18) y bajo riesgo (26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68, 70, 73 and 82). También se realizó una PCR en tiempo real para la detección de los patógenos asociados a infecciones vaginales.

Conclusiones y contribuciones: Se encontró una asociación entre la presencia de condilomas y la presencia de *Ureoplasma spp.*, lo cual sugiere que la presencia de este patógeno en la flora vaginal podría estar relacionado con la infectividad de VPH y la carcinogénesis de las lesiones precursoras de cáncer.

ABSTRACT

Summary of theoretical framework: HPV infection is the most common sexually transmitted disease, and its responsible of 500,000 cases of Cervico-uterine cancer, estimating 250,000 deaths annually worldwide. In México the incidence is 23.3 cases per 100,000 women, having the first place on cancer incidence in women between 15 and 44 years old.

Besides the viral characteristics that may contribute to the carcinogenesis, there are other risk factors that have been identified as risk factors for progression to Cervico-uterine cancer. Recently several studies have indicated the role that vaginal microbiota plays in the process of acquisition and persistence of HPV and its risk for developing cancer.

In a similar way, other pathogens have been included in this context, such as *G. vaginalis*, *Ureaplasma* and *Mycoplasma*.

Purpose and method of study: The aim of this study was to find an correlation with the development of cervical intraepithelial lesions or neoplasms, 28 genotypes of human papillomavirus (HPV) through PCR and the coexistence of 7 associated vaginal infections (VI) including: *Chlamydia Trachomatis* (CT), *Neisseia Gonorrhoeae* (NG), *Trichomona Vaginalis* (TV), *Mycoplasma Hominis* (MH), *Mycoplasma Genitalium* (MG), *Ureaplasma Urealyticum* (UU) and *Ureaplasma Parvum* (UP).

A total of 44 women participated on this study, in which a cervical smear was performed with a cervical brush and contained in a Preservcyt solution, afterwards a DNA amplification of the beta-globin gene for high risk (16/18) or low risk HPV detection (26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68, 70, 73 and 82). Also, a real time PCR reaction for the detection of associated vaginal infections.

Conclusions and contributions: The only associated vaginal infection that has a correlation with HPV was UU, even though is not intentionally studied for the lack of symptoms it presents. A screening for *Ureaplasma spp.* may become a new insight for cervical intraepithelial lesions or cervical cancer forward studies.

1. INTRODUCCIÓN

La infección por VPH es un problema de salud pública importante en México. Se conocen que existen diversos factores de riesgo para la persistencia de esta infección y se han desarrollado teorías que indican que las infecciones cervicales tienen un rol en el desarrollo y progresión de cáncer cervicouterino.

2. ANTECEDENTES

2.1. Virus del Papiloma Humano.

La variante de virus de papiloma humano es un pequeño virus de ADN con un tropismo por epitelio escamoso. Una de sus características es la dependencia en la diferenciación del estado de las células epiteliales del huésped para completar el ciclo viral¹.

Epidemiología: Existe una prevalencia de 70 millones de casos y una incidencia de 14 millones nuevas transmisiones cada año. La infección de VPH en el tracto anogenital es la enfermedad de transmisión sexual más común en Estados Unidos.

Los VPH de alto riesgo son los agentes causantes a nivel mundial de 500,000 casos de Cáncer Cervicouterino (CaCU), estimándose 250,000 muertes. Se prevé que habrá un aumento de 25% de estos casos si no se toman medidas preventivas al respecto.

En las últimas dos décadas se ha encontrado una relación estrecha entre CaCU y la infección por VPH, de los 50 tipos de virus que afectan el área genital, 15 de ellos son de alto riesgo (VPH-AR) para desarrollo de CaCU, siendo estos 8 los causantes de 95% de los casos en el mundo: 16, 18, 31, 33, 35, 45, 52 y 58. El tipo 16 es el de mayor prevalencia ya que se asocia al 50-60% de los casos en el mundo.

Según datos epidemiológicos el VPH causa 100% de los casos de Cáncer de cuello uterino, 90% de los casos de cáncer anal, 40% de órganos genitales externos (vulva, vagina y pene) y al menos 12% de los cánceres orofaríngeos¹.

2.1.1. Características moleculares del VPH.

El VPH es un virus pequeño de ADN circular de doble cadena, no envuelto, que infecta la mucosa o el epitelio cutáneo. El VPH tiene un genoma de ocho mil pares de bases que codifica para ocho genes, los cuales, de acuerdo a su expresión, se dividen en tempranos (E) y tardíos (L). EL genoma del VPH se divide en tres regiones principales: la región temprana (E), codifica los genes que se expresan en etapas tempranas de la infección (*E1, E2, E4, E5, E6 y E7*), son necesarios para el ciclo viral y tienen un rol importante durante la transformación celular. La región tardía (L), contiene los genes *L1* y *L2*, los cuales codifican para las proteínas de la cápside del virus. Finalmente, la región LCR (Long Control Region), es una región no codificante río arriba que contiene el origen de replicación y los sitios de unión para los factores de transcripción².

Las proteínas E1 y E2 se expresan de manera temprana y son requeridas para la replicación del ADN viral y la regulación de la transcripción temprana. La proteína E4 se expresa en los queratocitos completamente diferenciados durante todo el ciclo, mientras que la proteína E5 participa en el ensamblaje viral y la estimulación del crecimiento. Las proteínas tardías L1 y L2 conforman la cápside menor y mayor³. Las proteínas virales E5, E6 y E7 son oncogenes virales y su expresión induce la transformación y la inmortalización celular. Particularmente E6 y E7 son las proteínas oncogénicas que inhiben la función de los genes supresores de tumores p53 y pRb, los cuales regulan el ciclo celular y su inhibición conduce al aumento de la actividad mitótica, la proliferación celular descontrolada y consecuentemente, al desarrollo del CaCU⁴.

2.1.2. Patogénesis del VPH.

El VPH infecta las células escamosas epiteliales, las cuales tienen la capacidad de proliferar y acceder a las células basales, a través de microtraumas o pequeñas lesiones. El virus llega a la capa basal, en donde las partículas virales se replican ocasionando lesiones de bajo y alto grado, las cuales pueden progresar a CaCU (Figura 1). El virus puede persistir en las células de la capa basal de forma latente o continuar replicándose mientras las capas basales se diferencian y ascienden a través del epitelio, en el cual comienzan a observarse los cambios histológicos y citológicos. El VPH se

mantiene en un número bajo de copias en las células de la capa basal, el número de copias virales aumenta hasta la diferenciación de las células epiteliales y comienza a expresar los genes *L1* y *L2* de la cápside, lo que resulta en nuevos viriones que se liberan en la superficie del epitelio. El VPH se replica y se ensambla en el núcleo de la célula. La expresión de los genes virales depende de la diferenciación celular y está regulada estrictamente a nivel traduccional y postraduccional ⁵.

Para que exista una persistencia de infección del VPH es necesario que éste infecte células basales con características similares a las células madre y que aún tengan capacidad de proliferar⁶. Lo anterior ocurre en menor frecuencia con los VPH de bajo riesgo. Las zonas de transición, como las del endo y ectocérvix y/o las uniones anorectales, son las regiones más propensas a carcinogénesis ocasionada por los VPH-AR⁷. Los VPH-AR son más propensos a activar la proliferación celular en las capas basales y diferenciadas, promoviendo la transición de una infección “productiva” a una infección “transformante/abortiva”, en la cual ya no continúa el ciclo de vida viral. La integración del genoma viral al huésped puede activar diferentes mecanismos esenciales para la transformación epitelial⁸. Una explicación puede ser la capacidad oncogénica incrementada que poseen los VPH-AR, particularmente en la actividad de las oncoproteínas E6 y E7, mientras que los VPH de bajo riesgo, estos genes están limitados al incremento del estado físico y la producción viral, que es insuficiente para desencadenar el desarrollo de lesiones pre neoplásicas y cáncer⁹.

Los VPH-AR han desarrollado diversos mecanismos para evadir la respuesta inmune del huésped, lo cual es importante para la persistencia viral y progresión de la neoplasia. Uno de los mecanismos para evadir la detección viral por parte del sistema inmune es que el VPH no produce ninguna lisis durante su ciclo viral, por lo que no provoca ninguna señal proinflamatoria que active a las células dendríticas ni induce su migración al sitio de infección¹⁰. Se han identificado otros mecanismos de evasión del sistema inmune como la regulación de la señal de interferón y la inhibición de las células de Langerhans por la actividad de las proteínas virales E6 y E7, entre otras¹¹⁻¹³.

Las proteínas E1 y E2 son necesarias para el inicio de la replicación. Además, la proteína E2 controla la expresión de los oncogenes *E6* y *E7* ya que es un represor transcripcional. Durante el proceso infeccioso, el virus puede encontrarse de manera

episomal, integrado o de forma combinada (episomal/integrado), en relación al genoma de las células huésped. El ADN viral se integra en el genoma de la célula huésped, linearizándose para integrarse, a menudo en la región E1 o E2; esta ruptura del gen E2, produce la desregulación de la síntesis de las proteínas de los oncogenes E6 y E7. Actualmente se ha identificado que el sitio de ruptura del genoma viral puede presentarse en otras regiones del genoma viral y no solo en E1/E2¹⁴⁻¹⁶.

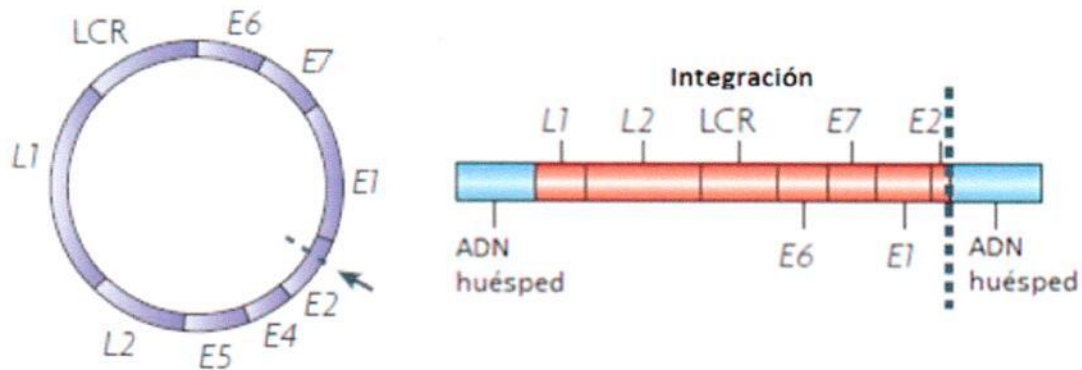


Figura 1. Integración del VPH en el genoma huésped. El ADN del VPH se escinde en el gen E2, se lineariza y se integra en el ADN huésped. Permitiendo así la sobre expresión de los oncogenes virales E6 y E7.

En la forma integrada, el virus llega a producir cambios en el sistema celular, favoreciendo la replicación de las partículas virales. Actualmente existen diversas hipótesis sobre la relación que guarda el estado del virus con el estadio de las lesiones. Se ha sugerido que en los procesos neoplásicos avanzados el virus se ha integrado por completo en el genoma, mientras que en otras investigaciones no se ha podido establecer el momento de integración.

2.2 Etiología del Cáncer.

El cáncer es el nombre dado a un conjunto de enfermedades relacionadas y son consideradas la principal causa de morbilidad y mortalidad en todo el mundo¹⁷. El cáncer puede originarse en casi cualquier parte del cuerpo humano y se caracteriza cuando las células del cuerpo comienzan a dividirse sin control¹⁸.

Este grupo de enfermedades se origina por la acumulación de mutaciones en el genoma de las células somáticas, las cuales le permiten adquirir algunas ventajas de proliferación, independencia de señales inhibitorias y disminución de los umbrales apoptóticos que llevan al crecimiento celular¹⁸. Esta acumulación de mutaciones genéticas conllevan a una expresión aberrante de proteínas, produciendo nuevos metabolitos^{19,20}, conocidos como biomarcadores tumorales, los cuales son frecuentemente producidos por el propio organismo o el sistema anfitrión en respuesta al tumor y proporcionan el material biológico para: A) Determinar el riesgo de contraer cáncer, B) Detectar el cáncer, C) Clasificar el cáncer, o D) Para proporcionar información sobre el pronóstico del tumor y por lo tanto sugerir un agente terapéutico específico del paciente (conocido como medicina personalizada). Estos biomarcadores proporcionan la oportunidad para una detección no invasiva, conocida como Biopsia Líquida (sangre, orina, saliva, entre otras) con el fin de revelar la presencia de tumores o el nivel de la carga tumoral²¹. Por lo que buscar nuevos biomarcadores o validar los existentes representa una enorme oportunidad para ofrecer un mejor tratamiento y calidad de vida a los pacientes.

2.3 Cáncer Cervicouterino (CaCU).

El cáncer cervicouterino (CaCU) es una alteración celular que se manifiesta a través de lesiones de lenta y progresiva evolución, la cual se ha asociado a la infección del Virus del Papiloma Humano (VPH) en el 99% de los casos²². Esta infección es necesaria, más no suficiente para el desarrollo de este tipo de neoplasia²³, ya que existen otros factores inmunológicos propios de las pacientes que participan en la eliminación o progresión de la infección del VPH, además de factores como la carga viral, el tipo de VPH, la integración del genoma viral en el genoma huésped, entre otros.

2.3.1. Epidemiología del CaCU.

El CaCU es el cuarto tipo de cáncer con más muertes de mujeres a nivel mundial y el segundo más común en el grupo etario de 15 a 44 años. La incidencia de muerte es de más de 200,000 casos al año²⁴. En México la incidencia es de 23.3 casos por cada

100,000 mujeres (en el 2012), teniendo el primer lugar de incidencia de cáncer en México en mujeres de 15 a 44 años de edad²⁵.

2.3.2 Etiología del CaCU.

El VPH es el causante de aproximadamente el 5% de todos los cánceres a nivel mundial²⁶. Se han identificado más de 200 tipos de VPH²⁷ y más de 40 de éstos se transmiten por contacto sexual.

Los VPH identificados a la fecha se clasifican en 4 géneros: Alpha-, Nu-/Mu-, Beta- y Gamma- papillomavirus, dependiendo de la estructura del genoma viral y el tropismo a tejidos epiteliales humanos²⁸. El género Alpha incluye los VPH que se han asociado a cáncer, mientras que el resto son asintomáticos, o en el caso de algunos estados de inmunosupresión, pueden causar papilomatosis cutánea o predisponer a cáncer de piel³.

De acuerdo con su potencial oncogénico los VPH se clasifican en dos grupos: de alto o bajo riesgo. Existen más de 15 subtipos de VPH que se consideran de alto riesgo (VPH-AR)²⁹, causando la mayoría de los casos de CaCU. Éstos han sido clasificados por la Agencia Internacional para la Investigación en Cáncer (IARC: International Agency for Research in Cancer) de acuerdo con su riesgo oncogénico (Tabla 1).

Tabla 1. Clasificación general de los tipos de VPH por su riesgo oncogénico y su asociación a enfermedades de acuerdo a la evaluación de la IARC ³⁰

Riesgo oncogénico	Tipos de VPH	Enfermedad asociada
Oncogénicos y/o de alto riesgo	VPH 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59	Lesiones precursoras y cáncer cervical, anal, vaginal, vulvar, penil, y orofaríngeo
Bajo riesgo	VPH 6, 11.	Verrugas genitales, papilomatosis recurrente respiratoria
Probable riesgo	VPH 68	Cáncer cervical
Posible carcinogénico	VPH 5, 8.	Carcinoma de células escamosas de la piel en pacientes con epidermodisplasia verruciforme
Posible carcinogénico	VPH 26, 30, 34, 53, 66, 67, 69, 70, 73, 82, 85, y 97	Incierto

Entre los VPH con mayor riesgo oncogénico, los VPH 16 y 18 se han asociado aproximadamente al 70% de los casos de CaCU ³¹. Entre los diferentes grados de lesiones, el VPH más prevalente es el 16, mientras que el VPH 18 varía entre citologías normales y cáncer invasivo, ya que para este último se ha reportado que aumenta la

prevalencia hasta en un 15%. El VPH 45 se encuentra como el tercero más frecuente en CaCU invasivo³². Mientras que los VPH de bajo riesgo (VPH-BR), como el 6 y 11, se han asociado a condilomas genitales y/o faríngeos.

La prevalencia de los VPH 16 y 18 en distintos grados de lesiones precancerosas varía a nivel mundial. En América Central, la prevalencia de éstos en citologías normales es del 4.7%, en lesiones de bajo grado es del 15%, en lesiones de alto grado es del 40.8% y en CaCU se han encontrado en cerca del 63.1%²⁴.

En México existen variaciones en la prevalencia de los tipos virales según la región, en el centro y sur los VPH 16 y 18 son los más prevalentes³³, mientras que en la región oeste, los VPH más frecuentes son 16 y 58³⁴.

La infección por el VPH progresa a CaCU en una serie de cuatro pasos: 1) transmisión, 2) infección aguda o transitoria, 3) infección persistente (que conlleva a cambios precancerosos en las células) y, por último, 4) cáncer invasivo.

El VPH puede transmitirse a través del contacto directo de piel a piel, piel a mucosa y mucosa a mucosa de personas infectadas con el VPH. La transmisión se correlaciona con las prácticas sexuales, tanto vaginales como anales y bucales³⁵. Sin embargo, con menor frecuencia, la transmisión puede darse de madre a hijo durante el parto natural³⁶, e incluso por medio de la leche materna^{37,38}.

La mayoría de las infecciones por el VPH (~70-80%) son transitorias^{39,40}, es decir, que desaparecen dentro de un año o dos sin necesidad de tratamiento⁴¹. Del 20 al 30% son infecciones persistentes, mientras que el 1-2% de éstas progresan a CaCU¹¹.

Esta persistencia se determina cuando una paciente resulta positiva en las pruebas de detección de VPH en dos o más ocasiones. Sin embargo, esto varía dependiendo del intervalo de tiempo entre las pruebas.

Resulta difícil distinguir entre las infecciones persistentes y transitorias debido a la naturaleza del mecanismo de infección del virus, ya que es imposible deducir el tiempo de infección de la paciente antes de la toma de muestra. En algunos estudios se considera infección persistente a aquella que es padecida por lo menos durante 6 meses. Sin embargo, entre más cortos sean los intervalos de tiempo de las pruebas, es más probable que la infección sea diagnosticada como persistente^{42,43}, aunque hace falta determinar si las infecciones persistentes se caracterizan por la continua detección del

VPH, o por el estadio latente durante el cual el virus permanece indetectable. Sin embargo, una mujer no puede ser diagnosticada con una infección persistente sólo por resultados positivos para VPH en dos ocasiones en tiempos diferentes, ni clasificarse como de alto riesgo para padecer CaCU. Las pacientes positivas para la presencia de un tipo de VPH específico, no necesariamente pueden considerarse libres de la infección cuando sus resultados sean negativos para el mismo tipo viral, ya que podría existir un estado latente de la infección, en la cual el virus permanece indetectable y reaparece más adelante⁴.

El riesgo de infección por VPH es del 75% en individuos sexualmente activos, aunque el riesgo de infección por VPH y la prevalencia varía según la edad y el género. La infección genital del VPH es más común en edades tempranas (<25 años), siendo estos adolescentes y adultos jóvenes los que tienen el mayor riesgo de infección por este virus^{41,44}.

2.3.3. Factores de riesgo para CaCU.

2.3.3.1. Biomarcadores virales.

La infección persistente de VPH-AR es un factor de predicción de riesgo de CaCU^{45,46}. Aquellas mujeres que no logran eliminar la infección son las que se encuentran en mayor riesgo de desarrollar una neoplasia. La infección del VPH es necesaria, más no única para el desarrollo de lesiones precancerosas o cáncer. Dentro de los tipos de VPH involucrados en el proceso carcinogénico, el VPH 16 es el mayormente asociado a una progresión más rápida a lesiones y/o cáncer invasivo^{47,48}, ya que se ha encontrado en cerca del 60% de los CaCU y en otros tipos de cáncer. Otros tipos de VPH-AR que se han detectado comúnmente en cáncer son los VPH 18, 45, 31 y 33⁴⁹.

La infección por VPH 16/18 en lesiones precancerosas progresa más rápido a cáncer que con otros tipos de VPH-AR⁵⁰. Además, la carga viral alta de los VPH 16 y 18 ha sido asociada con el grado de la lesión^{51,52}.

El valor pronóstico de la detección de infecciones persistentes por VPH se ha estudiado para medir la eficacia de los tratamientos para lesiones o CaCU^{53,54}, como biomarcador para predecir lesiones neoplásicas⁵⁵, como biomarcador de progresión⁵⁶ o como pronóstico clínico^{57,58}.

La determinación del genotipo de VPH, tienen un valor clínico que va en aumento al asociarse con el pronóstico de esta neoplasia^{59,60 61}, además del valor epidemiológico para mejorar y ampliar el sistema de inmunización⁶², tal como ocurrió con la vacuna para este virus, la cual inicialmente estaba dirigida contra dos genotipos virales (16 y 18) y que actualmente está dirigida contra nueve tipos virales (6,11, 16, 18, 31, 33, 45, 52, y 58)^{36,63-66}.

La carga viral también se ha identificado como un biomarcador de riesgo asociado a la severidad de las lesiones^{52,55,67-69}, por lo que también se asocia a un valor pronóstico de CaCu^{56-58,70}.

La expresión de los oncogenes E6 y E7 ha sido empleada como biomarcador de detección de infecciones latentes^{71,72}, para determinar el riesgo de progresión de esta neoplasia^{72,73} y como parte de las pruebas de triaje para el diagnóstico de lesiones neoplásicas⁷⁴.

El estado físico viral del VPH (episomal e integrado) varía en los diferentes estadios de esta enfermedad y se ha asociado a la severidad de las lesiones. Aunque se ha detectado que el virus se encuentra mayormente integrado en estadios más avanzados, también se ha detectado integración viral en algunos casos de lesiones tempranas⁷⁵, por lo se ha sugerido que el estado de integración puede emplearse como biomarcador de progresión^{16,51,76}.

La mayoría de los estudios de determinación del estado viral del VPH, están basados en la relación E2/E6 o E2/E7, sin embargo, el sitio de ruptura del genoma viral no siempre ocurre en la región E1/E2 como se había reportado¹⁴⁻¹⁶. Estudios recientes evidencian que este fenómeno puede ocurrir en cualquier parte del genoma del VPH, más comúnmente en el gen E1⁷⁷. Esto sugiere que existen otros mecanismos de oncogénesis independientes de la expresión de E6 y E7, como la metilación del genoma viral y/o del huésped⁷⁸, los cuales, en conjunto con la prueba del Papanicolaou sirven como biomarcadores para la predicción de la severidad de las lesiones neoplásicas⁷⁹.

La integración del genoma viral en el genoma huésped se ha propuesto como mutación conductora para la carcinogénesis^{80,81}. Este fenómeno es considerado un biomarcador de predicción de severidad de la infección por el VPH para evolucionar hacia lesiones y/o cáncer^{75,82-84}.

Una de las consecuencias de la integración viral, es la alteración de diferentes mecanismos que pueden llevar a la oncogénesis. El primer mecanismo es cuando se produce una pérdida de función de un gen supresor de tumores y así genera la expresión de una forma trunca de la proteína⁸⁵⁻⁸⁷. El segundo es cuando hay incremento de la expresión de un oncogen⁸⁵, esto debido a que la integración ocurre río arriba del oncogen y provoca la sobreexpresión de éste y/o otros genes involucrados en la vía donde participa⁸⁶. Y el tercer mecanismo oncogénico producido por la integración viral corresponde a los rearrreglos inter e intra cromosomales, los cuales ocurren en genes clave que propician la sobre expresión de oncogenes o que truncan la expresión de genes supresores de tumores⁸⁸.

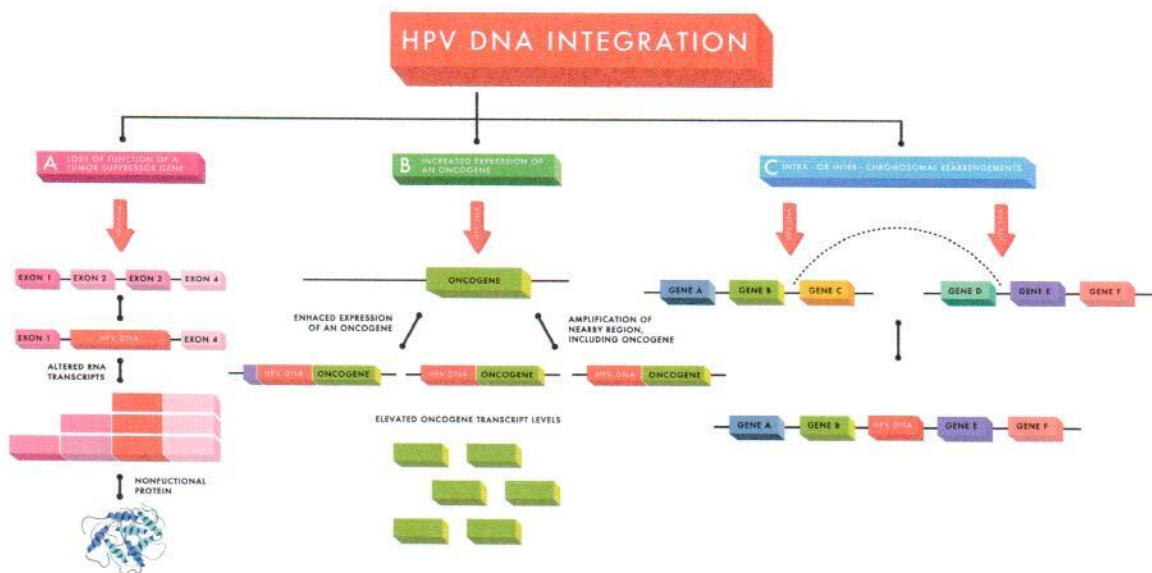


Figura 2. Descripción gráfica de las alteraciones producidas por la integración del VPH. A) Pérdida de la función de un gen supresor de tumores. B) Incremento de la expresión de un oncogen. C) Rearreglos inter o intra cromosomales.

2.3.3.2 Persistencia de la infección de VPH asociada a infecciones bacterianas

Recientemente, varios estudios han señalado el papel del microbioma vaginal en el proceso de adquisición y persistencia del VPH y el riesgo de desarrollo de CaCU.

De manera similar, otros microorganismos de importancia ginecológica como *G. vaginalis* y la clase *Mollicutes* (bacterias sin pared celular), junto con los géneros

Mycoplasma y *Ureaplasma*, se incluyen en este contexto. Los mollicutos se han descrito durante más de 30 años por estar relacionados con trastornos urogenitales. Algunas especies son la principal causa de uretritis no gonocócica y no clamidial, como en el caso de la vaginosis bacteriana. *Mollicutes* puede inducir la liberación de citoquinas y quimioquinas y puede causar una inflamación intensa. Esta respuesta se ha sugerido como un posible factor de riesgo para el desarrollo de lesiones precancerosas⁸⁹.

2.4. Factores exógenos que contribuyen al desarrollo del CaCU.

Además de las características virales que contribuyen a la carcinogénesis, existen otros factores externos o ambientales que a lo largo del tiempo han sido identificados como factores de riesgo de progresión a CaCU, tales como el tabaquismo⁹⁰, el uso prolongado de anticonceptivos orales⁹¹⁻⁹⁴, las relaciones sexuales no protegidas y la falta de circuncisión en la pareja masculina⁹⁵.

Entre otros factores que aumentan el riesgo de adquirir el virus y su probable evolución a CaCU se encuentran la multiparidad⁹⁶; la edad de inicio de vida sexual activa^{97,98}, el historial de las parejas sexuales, el número de contactos sexuales, relaciones sexuales no monógamos⁹⁷, entre otros.

Otros factores externos incluyen las coinfecciones con otros virus o enfermedades de transmisión sexual, tales como el Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH), Virus del Herpes Simplex 2 (HSV-2), Virus de la Hepatitis B (HBV), Virus de la Hepatitis C (HCV), los cuales se han asociado a un aumento del riesgo de producir lesiones por el VPH; además de otras infecciones sexuales como la gonorrea, clamidia y sífilis⁹⁹. La evolución de la infección de VPH-AR es afectada por la coinfección con VPH de bajo riesgo, ya que la presencia de verrugas genitales aumenta el riesgo de padecer cáncer relacionado a VPH, como el CaCU¹⁰⁰. Algunos factores del huésped se ven involucrados en la progresión de la infección hacia CaCU, como la inmunosupresión (como en pacientes con VIH) y algunas deficiencias en la dieta, que se han asociado como probables cofactores, aunque no se han encontrado suficientes asociaciones¹⁰¹⁻¹⁰³.

Uno de los factores de riesgo externos, es la baja cobertura en países en vías de desarrollo. La cultura y falta de conocimiento de esta neoplasia y su detección oportuna,

ha contribuido a la falta de atención personal para acudir a las citas periódicas de control médico. La falta de conocimiento del riesgo que generan las infecciones por el VPH, así como los periodos prolongados entre chequeos médicos, han contribuido a detectar esta neoplasia en estadios tardíos. Esto se presenta con mayor frecuencia en poblaciones con bajos ingresos económicos, por lo que un estado socioeconómico bajo representa un factor de riesgo que contribuye al desarrollo de CaCU¹⁰⁴.

2.5 Prevención del CaCU.

2.5.1. Detección de lesiones por el VPH.

Se ha establecido que para reducir la incidencia y mortalidad del CaCU son necesarios programas de detección del VPH y programas de detección de alteraciones en el Papanicolaou. En México existen estrategias de detección gratuitas, sin embargo, estos no cubren todas las zonas más alejadas y rurales, de difícil acceso. Es debido a esto que la incidencia del CaCU en nuestro país sigue siendo un problema importante de salud pública²⁵.

La prueba estándar de oro para la detección del CaCU es la citología, en la cual se observan las células cervicales fijadas y teñidas en una laminilla. En caso de encontrarse anomalías se realiza una colposcopia, donde se observa el tracto uterino a través de un colposcopio en busca de anomalías en el cérvix. Para observar las lesiones neoplásicas se realizan dos tinciones, con lugol y ácido acético para revelar posibles lesiones intraepiteliales, ya que éstas se tiñen de color blanco con el ácido acético y no absorben el color café con el lugol. Para verificar la presencia de lesiones se realiza una biopsia y se confirma por patología.

Existen dos tipos de citologías, la convencional, en la que el raspado de células de cérvix se fija directamente en un portaobjetos; y la líquida, en donde la muestra de células cervicales es colocada en un medio de transporte líquido y centrifugada para su posterior fijación en laminilla. Un frotis de Papanicolaou logra reunir entre 600,000 y 1.2 millones de células epiteliales cervicales y menos del 20% se transfieren al portaobjeto, además de que es aleatorio y sujeto a errores si las células anormales no se distribuyen de forma homogénea por toda la muestra. La prueba de citología líquida ofrece la ventaja de que la muestra de células puede ser analizada también para la

presencia de tipos de VPH-AR en una prueba conjunta de Papanicolaou y de detección del genoma del VPH. Además, se reduce la probabilidad de que una muestra no sea satisfactoria, ya que, tras su filtración a través de una membrana, retiene a las células cervicales con la finalidad de impregnarlas formando una monocapa en una laminilla.

Las pruebas de detección del VPH buscan el ADN viral de diferentes VPH-AR en las células del cérvix y pueden detectar la presencia de una infección viral antes que alguna anomalía de las células se haga visible. Existen diferentes tipos de pruebas de detección del genoma del VPH, la más común es la captura de híbridos, la cual detecta el ADN de los tipos de VPH-AR; sin embargo, no puede identificar el tipo o los tipos específicos que están presentes en la muestra. Existen otras pruebas específicas para detectar el ADN de los tipos de VPH 16 y 18, que son los que causan la mayoría de los cánceres relacionados con VPH, como el uso de sondas de tiempo real^{105,106}.

En conjunto, estos métodos de tamizaje de lesiones precancerosas se han incorporado como pruebas de triaje para la detección oportuna de lesiones precancerosas, lo cual permite aumentar la sensibilidad y especificidad y así disminuir los falsos negativos. Con el avance de la tecnología, las recomendaciones de las pruebas de tamizaje han ido cambiando. La sensibilidad del Papanicolaou puede aumentarse con la detección de biomarcadores predictivos de neoplasias. Entre estos se encuentra la detección de VPH-AR en citologías anormales y la detección de la sobreexpresión de p16/ki67^{107,108}.

Actualmente el diagnóstico del CaCU por la Secretaría de Salud en Nuevo León se realiza mediante una citología en las mujeres de 21 a 35 años. En caso de observar anomalías se prosigue a realizar una colposcopia para observar el estado de la lesión cervical; mientras que a las mujeres mayores de 35 años se les realiza la prueba de captura de híbridos (H2C), la cual detecta el ADN de VPH-AR. En caso de positividad para H2C se realiza una colposcopia para observar la citología y/o estado de la lesión cervical presente o clasificación del estadio de CaCU. Las pruebas disponibles de tamizaje ayudan a identificar a las mujeres que requieren más pruebas de diagnóstico para la confirmación de una lesión, evitando tratamientos innecesarios y disminuyendo costos en pacientes que tienen un menor riesgo de desarrollar cáncer¹⁰⁹.

2.5.2. Detección del VPH.

Actualmente, la mayoría de las pruebas de detección del VPH se basan en la detección del ADN viral mediante técnicas de amplificación, como la PCR, ya sea específica para un tipo de VPH o para varios con una PCR empleando iniciadores consenso. Existen pruebas aprobadas por la FDA (US Food and Drug Administration) de Estados Unidos¹¹⁰, como la captura de híbridos (HC2), la cual se ha vuelto la estándar de oro por la alta sensibilidad y relativamente alta especificidad. La HC2 detecta 13 tipos de VPH-AR. Existen otras pruebas de detección de VPH aprobadas como: Cervista HPV HR® y Cervista HPV16/18 ®, las cuales detectan 14 y 2 tipos de VPH respectivamente, Aptima ® que detecta el ARN de 14 tipos de VPH; y el Cobas 4800® que detecta 14 tipos de VPH por PCR en tiempo real. Estos últimos métodos de detección son costosos y no se han implementado como parte del tamizaje en México.

Las pruebas de detección de VPH de PCR empleando iniciadores consenso se basan en la amplificación del ADN viral de la región L1 del virus, ya que ésta es la más conservada entre los diferentes tipos virales, utilizando los iniciadores como los PGMY 09/11, MY 09/11, para posteriormente identificar el tipo de VPH mediante otras técnicas como hibridación reversa, secuenciación o PCR específicas para un tipo de VPH¹¹¹.

Conforme ha avanzado la tecnología, se han buscado y desarrollado nuevos métodos mucho más sensibles para la detección del ADN viral¹¹², como la PCR digital en nanogotas (ddPCR). Además de la secuenciación masiva de nueva generación que ha permitido identificar de forma más precisa la historia natural del VPH y ha modificado los conocimientos que se tenían en este campo. Estos nuevos conocimientos permiten entender mejor la evolución de las infecciones por VPH y su progresión a cáncer, con el fin de buscar formas de detectar a tiempo las lesiones precancerosas y además, determinar cuáles son las pacientes con un mayor riesgo de desarrollar este tipo de neoplasia.

2.6. Bacterias asociadas a vaginosis.

2.6.1. *Chlamydia trachomatis*.

Las clamidias son bacterias gramnegativas que carecen de los mecanismos para la producción de energía metabólica y no pueden sintetizar ATP. Esto las limita a una existencia intracelular, donde la célula hospedadora elabora productos intermedios con abundante energía. Son parásitos intracelulares estrictos.

Chlamydia trachomatis produce inclusiones intracitoplásmicas compactas que contienen glucógeno.

Los serotipos relacionados de manera específica con el tracoma endémico son A, B, Ba y C; los relacionados con las enfermedades de transmisión sexual son D-K. Los serotipos D-K causan ETS en especial en países desarrollados, como linfogranuloma venéreo, uretritis no gonocócica y epididimitis en el varón. En la mujer puede causar linfogranuloma venéreo, uretritis, cervicitis y enfermedad inflamatoria pélvica que provoca esterilidad y predispone al embarazo ectópico.

El diagnóstico se lleva a cabo mediante la toma de muestra de exudados, detección de ácidos nucleicos mediante amplificación (NAAT) o cultivos con una sensibilidad aproximada de 80% y especificidad de 100%¹¹³.

2.6.2. *Neisseria gonorrhoeae*

Las Neisserias características son diplococos Gram negativos inmóviles de casi 0.8mcg de diámetro. Los cocos individuales tienen forma de riñón que suelen disponerse en pares. Los gonococos oxidan sólo glucosa y tienen antígenos diferentes a los de otras Neisserias.

N. Gonorrhoeae es antigénicamente heterogénea y capaz de modificar sus estructuras superficiales in vitro. Contiene estructuras en su superficie como pilosidades, lipooligosacáridos y proteínas como: por, opa y rmp; las cuales alteran y aumentan su virulencia.

La gonorrea se transmite exclusivamente mediante el contacto sexual, a menudo por mujeres y varones con infecciones asintomáticas.

Los gonococos atacan a las mucosas del aparato genitourinario, el ojo, recto, y faringe produciendo supuración aguda que puede desencadenar invasión de los tejidos; estos se acompañan de inflamación crónica y fibrosis. En las mujeres la infección primaria incide en el conducto endocervical y se extiende hasta la uretra y a la vagina,

dando lugar a una secreción mucopurulenta. Posteriormente puede avanzar a las trompas uterinas y causar salpingitis, fibrosis y obliteración.

Las pruebas diagnósticas van desde muestras de secreciones que pueden ser susceptibles al sulfonato de poliantetol presente en medios de hemocultivos normales. Frotis de exudados a tinción de Gram, teniendo una sensibilidad de 50% y especificidad de 95%. Pruebas de Amplificación de Ácidos nucleicos (NAAT) y cultivo de Thayer Martin.

Las infecciones gonocócicas repetidas son frecuentes. La inmunidad protectora contra la reinfección no parece presentarse como parte del proceso patológico, por la variedad antigénica de los gonococos¹¹³.

2.6.3. *Trichomonas vaginalis*.

Es un parásito que existe únicamente en la forma de trofozoíto, su estructura es piriforme y es flagelado. En promedio mide 20mcg de largo y 10mcg de ancho. Su periodo de incubación abarca de 4 a 28 días. Es un parásito de transmisión sexual, sin embargo, puede transmitirse vía no sexual mediante toallas húmedas u otras superficies infectadas. Dentro de los sitios afectados se incluye a la vulva, vagina y cuello uterino, pero no abarca el útero. En el varón la infección es usualmente asintomática¹¹³.

La sintomatología leve, y la falta de evidencia de cualquier secuela grave, han generado que esta infección sea infradiagnosticada y poco investigada. Sin embargo, existe evidencia creciente de que la infección por este patógeno se encuentra asociada a un mayor número de enfermedades con alta morbilidad en hombres y mujeres, como cáncer de próstata, cáncer cervicouterino, amenazas de aborto y parto pretérmino e infecciones por VIH¹¹⁴.

Es la enfermedad de transmisión sexual no viral más común, con una prevalencia de 200 millones de casos anuales¹¹⁵. Los factores de riesgo son múltiples parejas sexuales y no utilizar métodos anticonceptivos de barrera.

En las mujeres la infección suele ser sintomática en 50%, y en 30% de los casos asintomáticos suelen presentar algún síntoma 6 meses posteriores a la infección. La sintomatología común incluye prurito y dispareunia, un flujo vaginal espumoso y

maloliente, vaginitis, cervicitis “cérvis en fresa” tras observarse pequeños puntos de hemorragia en la superficie cervical.

La presencia de *Trichomonas vaginalis* ocasiona cambios en la microbiota vaginal, y usualmente ocurre en conjunto con vaginosis bacteriana, alterando el balance del pH vaginal, reduciendo los números de lactobacillus, los cuales son cruciales para el mantenimiento de la microbiota vaginal¹¹⁴.

El diagnóstico se lleva a cabo en frotis del exudado vaginal en fresco, en el cual se puede observar el trofozoíto. A pesar de ser un método sencillo y bajo en costo, no es la mejor opción debido a su baja sensibilidad, estimada aproximadamente en un 60%. El cultivo de exudado requiere de 7 días con una sensibilidad estimada en el 78%. Los métodos moleculares son los mayores en sensibilidad diagnóstica, como el PCR llegando hasta un 98.4%¹¹⁴.

2.6.4. *Mycoplasma hominis*.

Se ha vinculado con diversas enfermedades como causa asociada. Las pruebas que se tienen de este agente son obtenidas de cultivos y estudios serológicos.

Se cultiva en la porción superior del aparato urinario en casi 10% de los sujetos con pielonefritis. Se encuentra estrechamente vinculado con pacientes con salpingitis y abscesos tubo-ováricos, es posible aislarlo de las trompas en 10% en mujeres con salpingitis. Se ha aislado en 10% de mujeres con fiebre después de un aborto o parto¹¹³.

2.6.5. *Mycoplasma genitalium*.

Fue aislado en cultivos de material uretral, pero es difícil cultivarlo. Hay datos de obtención de este microorganismo por medio de reacción en cadena de polimerasa. En hombres se ha aislado en casos de uretritis no gonocócica aguda y crónica. En mujeres se ha dicho que causa diversas infecciones como cervicitis, endometritis, salpingitis e infertilidad¹¹³.

2.6.6. *Ureaplasma urealyticum*.

Es probable que *U. Urealyticum* que necesita 10% de urea para crecer, cause uretritis no gonocócica en algunos varones. Es frecuente encontrarlo en el aparato genital de la mujer¹¹³.

2.6.7. *Ureaplasma parvum*.

La mayoría de las infecciones por este microorganismo cursan asintomáticas. Coloniza las vías urinarias y genitales y se encuentra relacionado a una variedad de enfermedades. Se ha relacionado con las siguientes: uretritis, prostatitis crónica, urolitiasis, corioamnionitis, infecciones de heridas quirúrgicas, enfermedad inflamatoria pélvica, pielonefritis, endometritis, nacimientos prematuros o aborto.

En la actualidad es posible detectar *Mycoplasma* spp. y *Ureaplasma* spp, mediante técnicas como NAAT y PCR en tiempo real, permitiendo una rápida detección con una elevada sensibilidad y especificidad¹¹⁶.

2.7. Tratamiento VPH.

Actualmente no existe un tratamiento médico para las infecciones por el VPH. Las lesiones cervicales y las verrugas que pueden resultar de dichas infecciones se pueden tratar por los métodos comúnmente usados para tratar las lesiones cervicales como crioterapia, escisión quirúrgica, láser, conización o histerectomía. Además, pueden administrarse algunos medicamentos para tratar las verrugas como Imiquimod (Aldara), Podofilina y podofilox (Condylox) que son modificadores del sistema inmune^{117,118}.

CAPÍTULO 3. JUSTIFICACIÓN

El cáncer es una enfermedad multifactorial que afecta a miles de personas a nivel mundial, generando un problema de salud pública de gran importancia. La detección del cáncer se da generalmente en etapas avanzadas, esto debido a la ausencia de síntomas en estadios tempranos, lo que dificulta la probabilidad de éxito de los agentes y las técnicas terapéuticas existentes. Para reducir estos niveles de mortalidad, son necesarios mejores métodos de detección temprana y de pronóstico.

Aunque el examen histológico es aún el “estándar de oro” en el diagnóstico del CaCU, este estudio está da información limitada sobre el riesgo de persistencia, progresión o regresión. Además, existe una alta variabilidad entre observadores y esta prueba no permite evaluar el riesgo de persistencia de la infección por VPH.

Por lo tanto, es importante identificar biomarcadores que nos permitan mejorar la precisión diagnóstica de lesiones cervicales, los cuales nos permitan identificar pacientes con riesgo de progresión a cáncer y nos permitan evaluar y monitorear tratamientos terapéuticos.

En este trabajo analizamos la co-infección del VPH con patógenos asociados a infecciones vaginales y su relación con la presencia de lesiones intraepiteliales.

CAPÍTULO 4. HIPÓTESIS

H1: La co-infección del VPH con patógenos asociados a infecciones vaginales está relacionada con la presencia de lesiones intraepiteliales.

H0: La co-infección del VPH con patógenos asociados a infecciones vaginales no está relacionada con la presencia de lesiones intraepiteliales.

CAPÍTULO 5. OBJETIVOS

5.1. Objetivo general

Asociar el desarrollo de lesiones intraepiteliales cervicales con la presencia de coinfecciones del VPH y otros patógenos asociados a infecciones vaginales.

5.2. Objetivos específicos

1. Generar un biobanco de ADN proveniente de citologías líquidas de pacientes con reporte histopatológico de lesiones intraepiteliales y de un grupo control con Papanicolaou negativo-normal.
2. Identificar VPHs de alto y bajo riesgo en las muestras de ADN de citologías líquidas.
3. Identificar *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Trichomonas vaginalis*, *Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma genitalium*, *Ureaplasma urealyticum* y *Ureaplasma parvum* en las muestras de ADN de citologías líquidas.
4. Correlacionar la coinfección de VPH con bacterias asociadas a infecciones vaginales con los resultados del Papanicolaou.

CAPÍTULO 6. ESTRATEGIA GENERAL

El protocolo fue sometido al Comité de Ética de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Nuevo León (GI19-00015). Después de su aprobación se tomaron muestras de Papanicolaou a las pacientes que aceptaron y firmaron la carta de consentimiento informado. Las muestras se centrifugaron y se separó el botón de células, el cual se utilizó para la extracción del ADN. A las muestras de ADN se les realizó una PCR para amplificar la región L1 del virus de VPH con los primers PGMY11/10. Las muestras que fueron positivas se genotipificaron con el kit High-risk Human Papillomavirus (HPV) Detection de Amoydx, el cual discrimina entre muestras portadoras de los genotipos 16/18 y muestras que tengan alguno de los siguientes genotipos (26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68, 70, 73 y 82). A la par se llevó a cabo la identificación de 7 patógenos asociados a la vaginosis (*Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma genitalium*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Trichomona vaginalis*, *Ureaplasma parvum* y *Ureaplasma urealyticum*) por PCR en tiempo real (qPCR) con el kit Anyplex II STI-7 Detection v1.1. Se realizó una estadística descriptiva para los datos epidemiológicos y factores de riesgo involucrados con el programa estadístico SPSS.

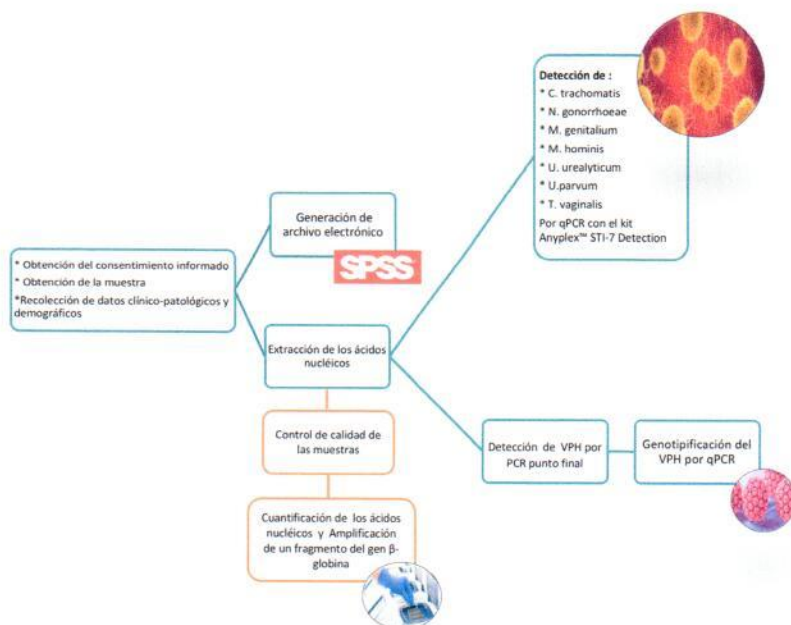


Figura 3. Estrategia general

CAPÍTULO 7. MATERIAL Y MÉTODOS

7.1. Lugar de realización del estudio e instituciones participantes.

El desarrollo experimental del proyecto tuvo como sede el Departamento de Ginecología y Obstetricia del Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González” de la UANL. Se contó con la colaboración del Laboratorio de Investigación Básica-Clinica del Servicio de Oncología del Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González” de la UANL.

7.2. Diseño del estudio.

Se diseñó un estudio observacional y descriptivo.

7.3. Aspectos éticos.

El estudio se llevó a cabo de acuerdo con lo señalado en Declaración de Helsinki, Buenas Prácticas Clínicas, y las normas establecidas en la Ley General de Salud. Para la recolección de muestras de las instituciones participantes, el proyecto contó con la aprobación del Comité de Ética el cual fue registrado bajo el número **GI19-00015**.

7.4. Población de estudio.

Mujeres diagnosticadas que acuden a la consulta de colposcopia del Departamento de Ginecología y Obstetricia del Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González”

7.5. Criterios de inclusión, exclusión y eliminación.

Se incluyeron pacientes que asistieron a la consulta de colposcopia del Departamento de Ginecología y Obstetricia del Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González”, asintomáticas sin diagnóstico de cáncer, mayores de 18 años, que manifestaron su voluntad de participar en el proyecto mediante la firma del consentimiento informado. Se excluyeron mujeres embarazadas. Se eliminaron pacientes cuando la muestra fue insuficiente.

7.6. Proceso de obtención de muestras

Las muestras citológicas fueron colectadas en la consulta de colposcopia. Una vez llevado a cabo el proceso de Consentimiento Informado se procedió a la obtención de las siguientes muestras: 1. Citología en base líquida: obtenido en una camilla especial para las tomas cervicovaginales en un área adecuada para ello, la muestra fue tomada con la ayuda de un cepillo citobrush especializado que puede coleccionar células del canal endo y exocervical. Las muestras fueron preservadas en 5 mL de medio líquido, divididas en alícuotas y se almacenaron a -70°C hasta su uso.

7.7. Material.

7.7.1. Origen de los reactivos.

Las muestras citológicas fueron preservadas en medio líquido de la marca ThinPrep PreservCyt Solution (Marlborough, MA, EUA). La extracción de ADN total de las células cervicales se realizó con el estuche comercial DNeasy Blood & Tissue Kits de la casa comercial QIAGEN. Para la realización de la PCR los reactivos fueron obtenidos de las siguientes casas comerciales: El AmpliTaq Gold 360 Master Mix de Applied Biosystems (Foster City, CA, EUA). Los oligonucleótidos utilizados fueron sintetizados por la compañía IDT Technologies (Coralville, IA, EUA). Para la realización de la PCR en tiempo real se utilizó el estuche comercial el kit High-risk Human Papillomavirus (HPV) Detection Kit de la casa comercial Amoydx y AnyplexTM II STI-7 Detection - de la casa comercial Seegene Inc.

7.7.2. Equipo.

Para la realización de este trabajo se utilizó el siguiente equipo: microcentrifugas Eppendorf modelos 5402 y 5415, fuentes de poder ISCO 494 (ISCO, Nebraska, EUA). Para visualizar los geles de agarosa se utilizó el fotodocumentador UVITEC (Cambridge, Reino Unido). Para la cuantificación del ADN y análisis de calidad se utilizó el equipo QIAexpert de QIAGEN (EUA). El termociclador utilizado fue el modelo Applied BiosystemsTM SimpliAmpTM Thermal Cycler (Foster City, CA, EUA) para la qPCR se utilizó el termociclador Rotor-Gene Q de la casa comercial QIAGEN

(EUA) y CFX96 Touch Real-Time PCR Detection System de la casa comercial BIORAD.

7.8. Generación del biobanco y archivo electrónico.

Los ácidos nucleicos extraídos de las muestras de tejidos se conservaron en 2 alícuotas a -20°C (DNA), la primer alícuota se utilizó en la identificación de patógenos asociados a la vaginosis por qPCR y la segunda alícuota se utilizó para la detección de VPH por PCR punto final y qPCR. Cada paciente contó con un archivo electrónico en donde se almacenó toda la información relevante generada, contando además con una clave de seguridad para garantizar la confidencialidad de los datos de identidad. La información fue almacenada en archivos confidenciales, a los cuales sólo tuvieron acceso los investigadores del proyecto. Por medio de estas herramientas se garantizó un manejo de muestras clínicas y sus datos asociados de manera institucional y ética.

7.9. Extracción del ADN.

Las células epiteliales son portadoras del ADN genómico humano y el caso de las muestras que presentan algún patógeno, su ADN también es extraído por este método. La extracción de ADN se realizó mediante una lisis de las células epiteliales recogidas con el cepillo cervical, utilizando proteasa K en un buffer.

1. Obtención del botón celular: Las muestras al llegar al laboratorio se agitan y se retira el cepillo cervical. La solución se centrifugó a 15,000 r.p.m. por 15 minutos, se decantó el sobrenadante y se obtuvo la pastilla celular.

2. Se agregaron 200 µl de PBS al 1X, se resuspende la pastilla celular y se homogeneizó con ayuda del vórtex y se añadieron 20 µl de proteínasa K, finalmente se le agregaron 180 µl de un tampón ATL y se incubaron por 5 min a 56°C.

3. Se añadieron 200 µl del buffer AL y se mezcló e incubó por 10 min a 56°C,

4. Ajuste de condiciones de unión: Se añadieron 200 µl de etanol a 96° y se mezclaron. Se realizó una centrifugación a 11,000 g por 1 minuto.

5. Se tomó la fase acuosa (inferior) ~450 µl y se colocó en el tubo con la columna. Se centrifugó a 2,000 g por 1 minuto. Hasta la elución completa del contenido. Se desechó el tubo de recolección.

6. Lavado y secado de la columna: Se añadieron 400 μ l del Buffer de lavado y se realizó una centrifugación a 11,000 rpm por 30 segundos. Se cambió el tubo de recolección y se repitió el lavado centrifugando por 2 minutos. Se desechó el tubo de recolección.

7. Elución de ADN: Se colocó un microtubo como tubo de recolección. Se añadieron a la columna de 20 a 30 μ l del Buffer de elución sin tocar la membrana y se centrifugó a 11,000 g por 30 segundos

7.10. Control de calidad de las muestras de ADN.

1. Cuantificación: Se tomó una alícuota de 1 μ l de cada ADN y se le midió su absorbancia en el QIAexpert.

2. Determinación de pureza: Se tomó 1 μ l de la muestra y se evaluó su pureza con los cocientes de absorptividad 260/280 y 260/230 nm. El criterio de aceptación para el cociente 260/280 fue de 1.8-2.0 y para el cociente 260/230 fue de 2.0-2.2.

3. Integridad: Se observó la integridad de la muestra en un gel de agarosa al 1% teñido con Syber Safe 4. Control de calidad del ADN por medio de PCR: Para comprobar que el ADN extraído fuera amplificable por medio de PCR se emplearon iniciadores que generaban un producto amplificado de 268 pb, correspondientes a un fragmento del gen beta-globina humano. Los iniciadores utilizados fueron los siguientes: Fwd: CAA CTT CAT CCA CGT TCA CC y Rv: GAA GAG CCA AGG ACA GGT AC. Los productos se observaron en un gel de agarosa al 1.5 % teñido con Syber safe.

7.11. Detección de VPH por PCR punto final.

La amplificación viral se llevó a cabo mediante PCR utilizando los primers MY09 (5'-CGT CCM ARR WAC TGA TC - 3', Tm= 53.9°C) y MY11(5'-GCM CAG GGW CAT AAY AAT GG- '3, Tm = 53.5°C) que reconocen la región consenso L1 del genoma viral para obtener un producto de amplificación de 450pb utilizando una concentración para PCR buffer de 1X, MgCl₂ de 4mM, dNTP's 0.2mM, TaqGold de 0.075 U/ml, MY09 de 1uM, MY11 de 1 uM, DNA 400 ng.

En una reacción paralela se amplificó un fragmento del gen b-globina para determinar la calidad del ADN y como control interno se utilizaron los primers BG1(5'-

CCA CTT CAT CCA CGT TCA CC -3', T_m = 53.9 °C) y BG2 (5'- GAA GAG CCA AGG ACA GGT AC 3' T_m = 55°C) para obtener un producto de 268 pb y se agregó un control negativo (mezcla de reacción + agua) utilizando una concentración para PCR buffer de 1X , MgCl₂ de 4mM, dNTP's 0.2mM, TaqGold de 0.075 U/ml, BG1 de 0.05 uM, BG2 de 0.05 uM, DNA 400 ng.

Las muestras de ADN se sometieron a una PCR que amplifica un fragmento de la b-globina (control) y paralela a esta reacción se llevó a cabo la amplificación de una región del VPH. En las siguientes condiciones 95°C por 12 minutos, 95°C por 1 minuto, 55°C por 1 minuto y 72°C por un minuto por 30 ciclos, con una temperatura de terminación de 4°C. La electroforesis se llevó a cabo en un gel de agarosa al 2 % a 90 Volts por 2 horas.

7.12. Genotipificación del VPH.

Para este ensayo se utilizó el sistema para qPCR Rotorgene (QIAGEN), y se siguió el protocolo del fabricante. Los reactivos necesarios y controles son provistos en el kit. El diagnóstico molecular de los tipos del VPH 16/18 y 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68, 70, 73 y 82 se lleva a cabo en una reacción por muestra. Cada reacción lleva un set de cebadores llamados HPV¹⁸ Reaction Mix y HPV¹⁸ Enzime Mix capaz de detectar 18 tipos del VPH. Los genotipos de VPH: 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68, 70, 73 y 82 están marcados con el fluoróforo FAM, mientras que CY5 se detectan dos tipos de alto riesgo de VPH, 16 y 18 y con el fluoróforo HEX /VIC se detecta el control interno. En cada reacción se utilizaron los siguientes componentes mostrados en la Tabla 2, para los controles se utilizó control negativo: Agua ultrapura libre de ARNasa. Control positivo: Una vez que las reacciones estuvieron hechas y posicionadas adecuadamente, se configuró el protocolo de ciclado (Tabla 3), protocolo de la placa y se ejecutó la corrida.

Tabla 2. --- Reacción de PCR por muestra.	
Componente	Volumen (µl)
HPV ¹⁸ Reaction Mix	35

HPV ¹⁸ Enzime Mix	0.48
Muestra	5
Volumen total de reacción:	40

Tabla 3. ---- Protocolo de termociclado de la PCR

Segmento	Nº Ciclo	Temperatura	Tiempo	Recolección de datos
1	1	50 °C	2 min	/
		95 °C	5 min	/
2	10	95 °C	5s	/
		40 °C	30s	/
		72 °C	30s	/
3	35	95 °C	5s	/
		60°C	30s	FAM,HEX/VIC y CY5
		72°C	30s	/

7.13. Detección de patógenos asociados a la vaginosis

Se identificaron de 7 principales patógenos causantes de ITS - *Chlamydia trachomatis* (CT), *Neisseria gonorrhoeae* (NG), *Trichomonas vaginalis* (TV), *Mycoplasma hominis* (MH), *Mycoplasma genitalium* (MG), *Ureaplasma urealyticum* (UU), y *Ureaplasma parvum* (UP) en una sola reacción de PCR en tiempo real. Este ensayo se basó en la tecnología probada de RPD™ Seegene y su tecnología TOCE™. En cada reacción se utilizaron los siguientes componentes mostrados en la Tabla 4, para los controles se ocupó: Control negativo: Agua ultrapura libre de ARNasa. Control positivo: Una vez que las reacciones estén hechas y posicionadas adecuadamente, se configura el protocolo de ciclado (Tabla 5), protocolo de la placa y se ejecuta la corrida.

7.14. Análisis estadístico

En este estudio se utilizó estadística descriptiva. En el caso de los genotipos del VPH se efectuó el cálculo de frecuencias, proporciones y porcentajes. Para la caracterización de la población, cuando se describieron variables cuantitativas se

calcularon medidas de tendencia central y dispersión, y para variables cualitativas se efectuó el cálculo de frecuencias, proporciones y porcentajes.

Tabla 4. ---- Componentes de la reacción de PCR en tiempo real		
Componente	Concentración	Volumen (μl)
STI-7TOM	4X	5
Agua libre de RNAsas	4X	5
Anyplex PCR Master Mix con UDG	4X	5
Muestra	400 ng	5
Volumen total de reacción:		20

Tabla 5. ---- Protocolo de termociclado de la PCR en tiempo real			
Segmento	Nº Ciclo	Temperatura	Tiempo
1	1	50 °C	4 min
2	1	95 °C	15 min
3	30	95 °C	30s
4		60 °C	1 min
5		72 °C	30s
6	1	55 °C	30s
7	1	Curva de fusión 55°C - 85°C (5s/0.5°C)	
8	10	95°C	30s
9		60°C	1 min
10		72°C	30s
11	1	55°C	30s
12	1	Curva de fusión 55°C - 85°C (5s/0.5°C)	
13	10	95°C	30s
14		60°C	1min
15		72°C	30s
16	1	55°C	30s

CAPÍTULO 8. RESULTADOS

8.1. Características socio-demográficas de las pacientes

Participaron 44 pacientes femeninas, se evaluaron los factores de riesgo asociados al desarrollo de lesiones. Se analizó la edad de las pacientes al momento de la toma, la edad de menarquia, la edad de menopausia, la edad del inicio de vida sexual activa, el número de parejas sexuales, número de gestas, entre otros. Las pacientes tienen un rango de edad de 20-60 años y una edad promedio de 35 ± 11.5 años, con Índice de Masa Corporal (IMC) de 25.78 ± 3.61 , el 47.7% fue casada y el 54.2% eran amas de casa, así mismo 11.4% de las participantes en este estudio, presentaban antecedentes de cáncer (Tabla 6).

Tabla 6. Características sociodemográficas de las pacientes	
Promedio de edad	35.39 \pm 11.5 años
Rango de edad	20 a 60 años
IMC	25.78 \pm 3.61
Ocupación	
Empleado	41.7%
Estudiante	4.2%
Ama de casa	54.2%
Estado civil	
Soltera	31.8%
Casada	47.7%
Unión libre	15.9%
Divorciada	4.5%
Antecedentes de cáncer	
Si	11.4%
No	88.6%

Además, se analizaron los factores de riesgo asociados a hábitos del paciente, como el tabaquismo. El 12.5% de las pacientes mencionó tener o haber tenido el hábito de fumar o exposición al humo de tabaco. Otro de los hábitos analizados como factor de riesgo fue el consumo de alcohol, el 29.2 % de las pacientes mencionó tener el hábito de tomar bebidas alcohólicas ocasionalmente (Figura 4).

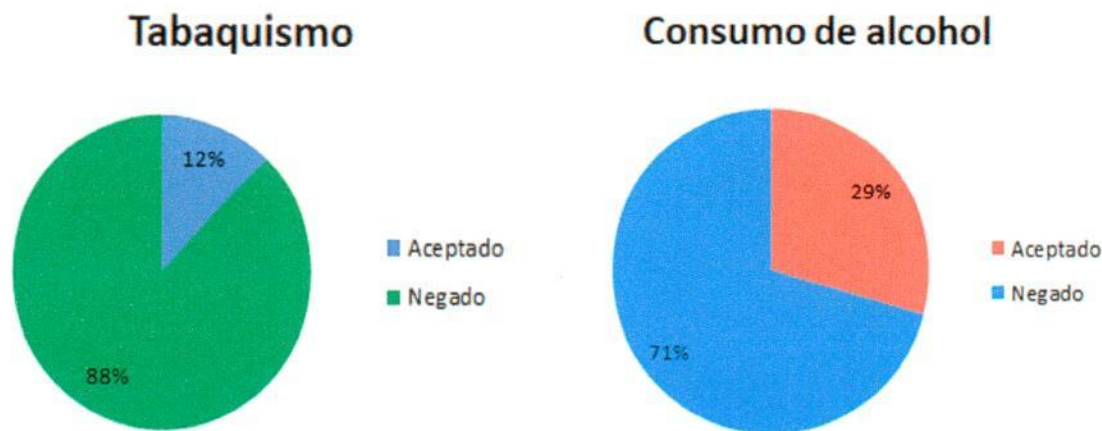


Figura 4. ---- Factores de riesgo asociados a hábitos del paciente.

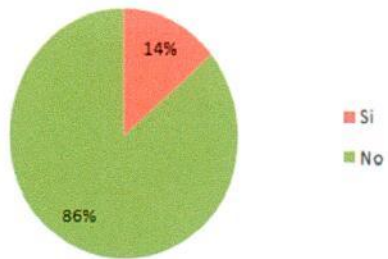
8.2. Distribución de las pacientes, según los antecedentes obstétricos.

La edad promedio de menarquia fue de 12.61 ± 1.6 años, en promedio los ciclos menstruales tienen una duración de $28.5 \pm 10.8 \times 4.1 \pm 1.7$ días. Entre los datos obtenidos como factores de riesgo se encontró que la mayoría de las pacientes mencionó haber iniciado su vida sexual activa a una edad temprana (menores a 18 años), además se refiere haber tenido parejas sexuales entre 1 y 4 con una media de 2.3 ± 1.4 (± 1.3) y el inicio de la vida sexual activa promedio fue de 19.3 ± 5.4 . El 73.3% de las pacientes tienen al menos una gesta y en promedio el número de gestas fue de 2.1 ± 1.8 , predominando los partos naturales con una frecuencia del 60.6% (Tabla 7).

Tabla 7. Antecedentes gineco-obstétricos	
Edad de la menarquia	12.61 ± 1.6 años
Ciclos menstruales	Cada $28.5 \pm 10.8 \times 4.1 \pm 1.7$ días
Edad de inicio de vida sexual activa	19.3 ± 5.4
Parejas sexuales	2.3 ± 1.4
Número de gestas	2.1 ± 1.78

El uso de anticonceptivos orales se analizó como factor de riesgo, encontrando que el 13.3% de las pacientes mencionó que utilizaban anticonceptivos orales como método de planificación familiar, siendo el más frecuente el condón masculino Figura 5.

Uso de Anticonceptivos Orales



Metodos Anticonceptivos

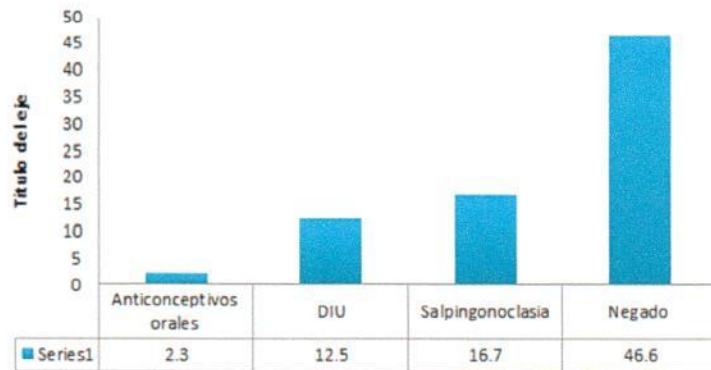


Figura 5. ---- Métodos de anticoncepción.

8.3. Distribución porcentual del diagnóstico de patología vulvar, vaginitis y vaginosis

Dentro de la población estudiada se encontró que el 25.0% de las pacientes presentaban alteraciones en la vulva, el 16.7% una vagina atrófica, el 45.5% de las pacientes presentó leucorrea (Tabla 8).

Así mismo se evaluó como parte de la consulta de colposcopia el estado de cérvix en el cual se vio que el 70.8% de las pacientes presentaba un cérvix eutrófico y el 37.5% presentó una superficie del cérvix alterada (Figura 6) y el 35.3% de las pacientes presentaron una colposcopia no satisfactoria (Tabla 8).

Tabla 8. ----Diagnóstico de patología vulvar.	
Alteraciones en la vulva	
Presentes	25.0%
Ausentes	75.0%
Vagina	
Eutrófica	83.3%
Atrófica	16.7%
Leucorrea	
Presente	45.5%
Ausente	54.5%

Colposcopia	
Satisfactoria	64.7%
No satisfactoria	35.3%

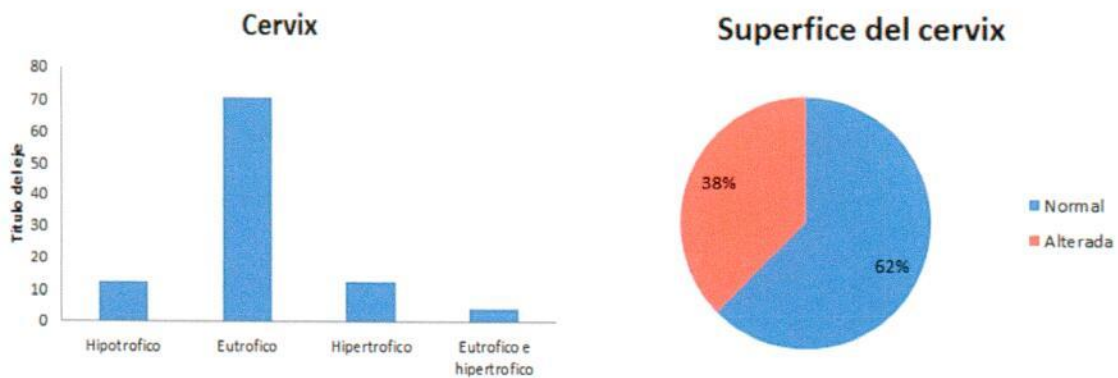


Figura 6. ----Características cervicales.

8.4. Determinación de la calidad y control de amplificación del ADN por PCR

Se obtuvo una pureza promedio de nuestro ADN de 1.92 de relación 260/280, y 2.77 de relación 260/230. Para valorar la integridad del ADN de las muestras se realizó la amplificación de un fragmento del gen de β -globina (Figura 7). Todas las muestras presentaron una banda característica de 268 pb, con la cual se verificó la integridad de las muestras. La banda característica aparece en todas las muestras (Figura 7), lo cual indica que éstas son de suficiente calidad para amplificar con otras variaciones de la PCR como qPCR.

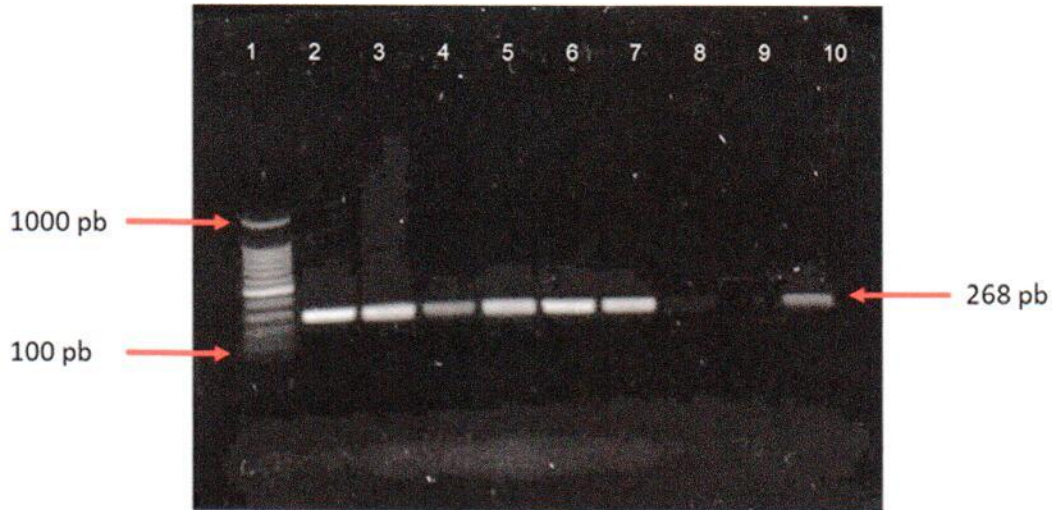


Figura 7. Amplificación del gen β -globina de las muestras como control de calidad. Se identificó la banda de 268 pb para el gen humano β -globina en todas las muestras abalizadas. Este gen se utilizó para evaluar la calidad de ADN extraído y para verificar que no existía ningún tipo de inhibidores de la PCR en la muestras.

8.5. Detección del VPH por PCR punto final.

Se analizaron 44 muestras obtenidas del área genital de pacientes femeninas con una edad promedio de estas muestras se obtuvo el ADN, en reacciones a la par se amplificó un fragmento del gen de β -globina como un control interno y para la detección del VPH se utilizaron los primers universales MY09/11, se utilizó un marcador de 100pb para identificar las bandas características de beta- globina (268pb) y la banda de VPH (450pb) Figura 8. De las 44 muestras analizadas, 22 muestras presentan el virus del papiloma humano, es decir que el 50% de las pacientes que acudieron a la consulta de colposcopia presentaron infección por el virus de papiloma humano Figura 8.

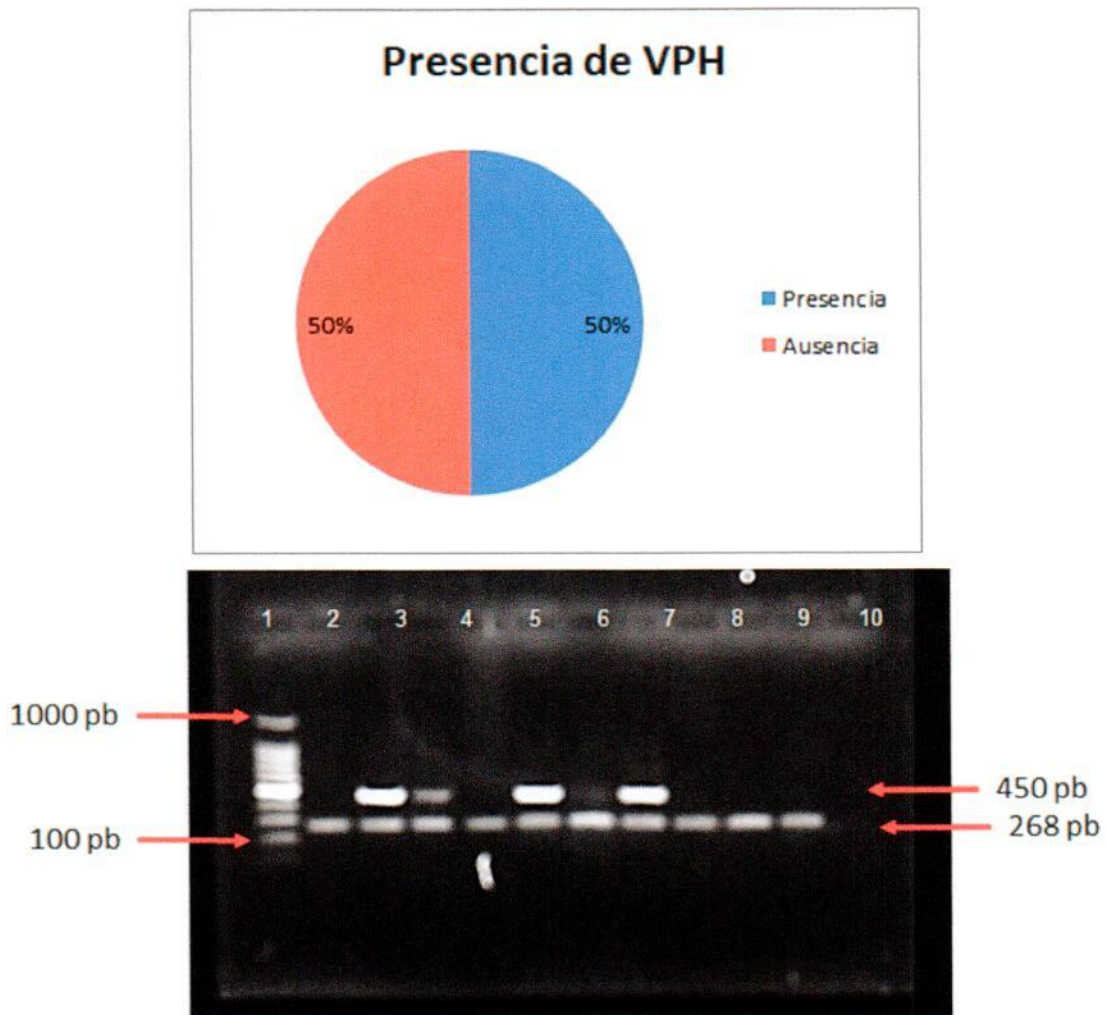


Figura 8. Distribución de muestras positivas y negativas a VPH y amplificación del gen β -globina y de la región L1 del VPH de las muestras. En los carriles 3,5 y 7 se muestran dos bandas que corresponden a una muestra positiva.

8.6. Genotipificación del VPH por qPCR.

Se identificó al virus del VPH en un total de 22 muestras. En la figura 9 se observan los tipos de VPH identificados en las muestras que pertenecían a un grupo de alto riesgo (16/18) o a un grupo de bajo riesgo (26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68, 70, 73 y 82), como resultado se encontraron 11 muestras que presentaron algún genotipo de bajo riesgo mientras que una muestra presentó un genotipo de alto riesgo y de bajo riesgo.

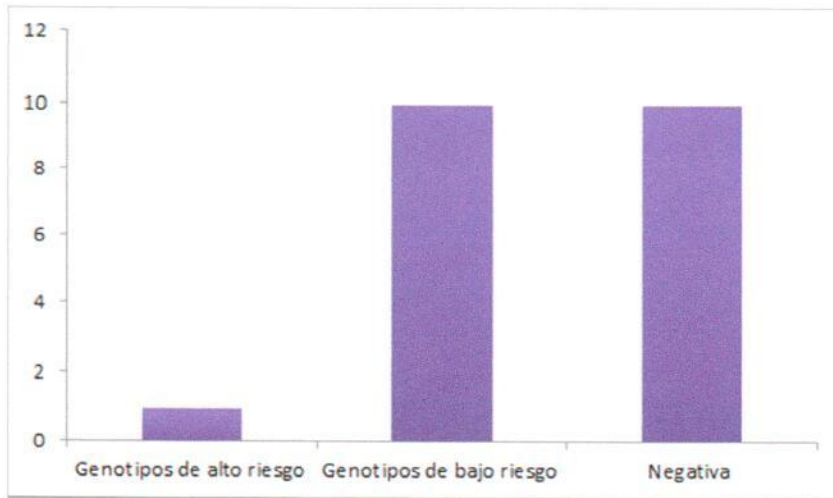


Figura 9. Frecuencia del tipo de VPH en las citologías exfoliativas (Papanicolaou).

8.7. Detección de patógenos asociados a la vaginosis

En cuanto a los microorganismos relacionados con infecciones de transmisión sexual se evidencia mayor incidencia de *Ureaplasma parvum*, ya que fue diagnosticado en 50.0% (16/32) de las mujeres diagnosticadas con vaginosis, seguido de 16.6 % de las portadoras de *Ureaplasma urealyticum* (UU), 6.7% eran portadoras de *Mycoplasma hominis* (MH), 3.4 % mujeres portadoras de *Neisseria gonorrhoeae* (NG) y 0.55% de *Mycoplasma genitalium* (MG) (Figura 10).

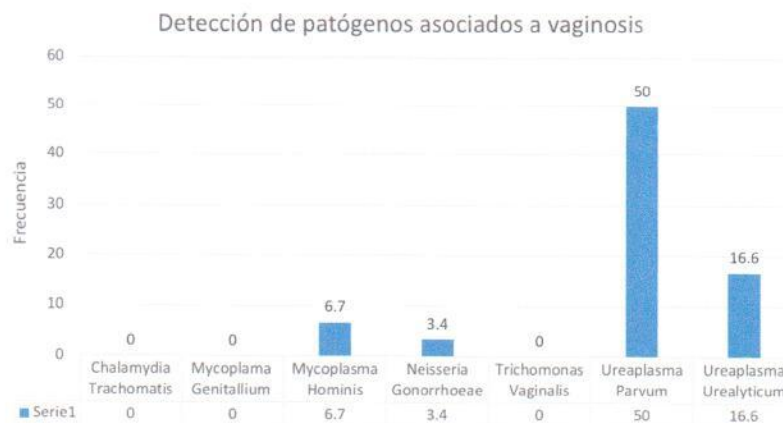


Figura 10. Detección de patógenos asociados a vaginosis.

8.8. Correlación de la confección de VPH con bacterias asociadas a infecciones vaginales con los resultados del Papanicolaou.

Se analizó una posible asociación entre la presencia de patógenos vaginales y la presencia de VPH. Nos propusimos investigar si los pacientes presentaban co-infecciones con *Chlamydia Trachomatis*, *Ureaplasma* y *Mycoplasma*, patógenos bacterianos de transmisión sexual frecuentemente encontrados en el tracto genito-urinario femenino estaban asociados con la prevalencia del VPH y la presencia de lesiones en este sitio. Las pacientes VPH+ que presentaban co-infecciones con *Ureaplasma urealyticum* y *Ureaplasma parvum* se asociaban con un riesgo significativamente mayor a desarrollar condilomas por VPH, y que, a su vez, *Ureaplasma urealyticum* estaban fuertemente asociados a infecciones por VPH de alto riesgo (Tabla 9).

No se encontró una asociación entre la presencia de patógenos vaginales y VPH, diagnóstico histológico y lesiones intraepiteliales (Tablas 9,10,11).

Tabla 9. --- Correlación entre positividad de VPH y Vaginosis Bacteriana				
Bacterias-Vaginosis	Status de VPH, n(%)			P-value
	Positivo	Negativo	Total	
Positivo	13(72.2)	9(75.0)	22(73.3)	0.604
Negativo	5(27.8)	3(25.0)	8(26.7)	
Total	18	12	30	

Tabla 10. --- Correlación entre Vaginosis bacteriana y alteraciones histológicas en citologías cervicales

Vaginosis-Bacteriana	Diagnóstico Histológico, n(%)			
	Positivo para anormalidades en células escamosas	Negativo para anormalidades en células escamosas	Total	P-value
Positivo	13(72.2)	9(75.0)	22(73.3)	0.604
Negativo	5(27.8)	3(25.0)	8(26.7)	
Total	18	12	30	

Tabla 11. Correlación entre condilomatosis y presencia de Ureaplasma spp

Presencia de Ureoplasma spp.	Diagnóstico de condilomatosis, n(%)			
	Positivo	Negativo	Total	P-value
Positivo	11(57.9)	2(18.2)	13(43.3)	0.040
Negativo	8(42.1)	9(81.8)	17(56.7)	
Total	19	11	30	

CAPÍTULO 9. DISCUSIÓN

En México, a partir del año 2006 el cáncer cervicouterino es la segunda causa de muerte por cáncer en la mujer después del cáncer de mama y a nivel mundial ocupa el cuarto lugar de muerte por cáncer de la mujer. Es el cáncer más comúnmente diagnosticado en 28 países, por lo que es ampliamente estudiado en diversas partes del mundo.

El cáncer cervicouterino es una enfermedad que afecta más a países en vías de desarrollo y que mejora con una adecuada respuesta de los sistemas de salud. Por eso en países en vías de desarrollo se diagnostican estadios más avanzados en edades más tempranas.

Es por eso, que la importancia de la relación que se ha encontrado en diversos trabajos de co-infecciones con VPH, ya que es algo que debe considerarse a futuro en el control ginecológico para la detección oportuna de cáncer en nuestro país.

Dentro del canal vaginal y exocervix, coexisten millones de microorganismos tanto aerobios como anaerobios, los cuales se encuentran en un balance dinámico ¹¹⁹. Las especies dominantes en personas sanas son los *Lactobacillus*, estos juegan un importante papel dentro de los mecanismos de defensa contra algunas infecciones de transmisión sexual, esto debido a la generación de ácido láctico y H₂O₂, lo cual provoca un ambiente hostil para algunos microorganismos potencialmente patógenos¹²⁰.

Las infecciones bacterianas provocan un desequilibrio en el microambiente vaginal, desarrollándose una vaginosis bacteriana, esta alteración es de las más frecuentes en mujeres en edad reproductiva y está estrechamente relacionada con padecimientos inflamatorios, lo cual puede provocar que microorganismos oportunistas como *Bacteroides* spp., *Mycoplasma hominis*, *G. vaginalis*, *A. vaginae* y *Ureaplasma* spp. invadan el microambiente¹²¹. Se cree que la coinfección de estos patógenos puede reactivar la infección de VPH o afectar el balance inmunológico al producir citocinas como interleucina 1B e interleucina 10. También enzimas producidas por algunas bacterias pueden alterar señales inmunológicas al promover la degradación de factores inmunológicos, lo que hace más susceptibles a las mujeres de contraer infecciones por VPH¹²².

En nuestro estudio encontramos que el 50% de las pacientes resultaron positivas para VPH y 50% también para *Ureaplasma* spp., sin embargo, no se constató una relación estadísticamente significativa por el total de pacientes incluidos dentro de este estudio. Durante la pandemia de COVID-19 hubo un decremento de pacientes que acudieron a consulta por medidas establecidas por Secretaría de Salud, por lo que nos vimos obligados a detener el reclutamiento de pacientes, ya que las pruebas de PCR no podían continuar siendo procesadas. Cabe mencionar que la coinfección de *Ureaplasma* spp. y VPH es objeto de estudio por tener una relación estadística en diferentes estudios, con la sospecha de que la inflamación crónica generada por este patógeno puede favorecer el ambiente para contraer una infección por VPH y también para la aparición de lesiones displásicas^{123,124}.

Sin embargo, de acuerdo a nuestros hallazgos, se encontró una relación estadísticamente significativa con la presencia de condilomatosis vulvovaginal y la coinfección con *Ureaplasma* spp. La infección con *Ureaplasma* spp. se considera una patología benigna. Estudios previos sugieren que esta infección puede ser un factor de riesgo para el desarrollo de lesiones cervicales por VPH y de cáncer cervicouterino. La estrecha relación del VPH y otros patógenos no sintomáticos transmitidos sexualmente sugiere que las co-infecciones deben investigarse para identificar cómo afecta en el desarrollo de la carcinogénesis de las lesiones por VPH¹²⁵.

En base a los resultados obtenidos se propone el uso de antibioticoterapia empírica a pacientes con condilomatosis vulvovaginal como parte de su abordaje, ya que la infección por *Ureaplasma* spp no es sintomática. Teniendo en cuenta que la prevención y diagnóstico temprano son esenciales para abordar lesiones precursoras de cáncer, y sumando a esto los hallazgos de este trabajo, es posible considerar que la antibioticoterapia empírica podría ser de utilidad para evitar los efectos que pueda tener la coinfección de *Ureaplasma* spp. y VPH.

Existen cuatro clases de antibióticos reconocidos para el tratamiento de infecciones por *Ureaplasma*, como: Fluoroquinolonas, tetraciclinas, cloranfenicol y macrólidos. Sin embargo, hay que considerar las restricciones de estos medicamentos por efectos adversos y la resistencia antimicrobiana reportada¹²⁶.

El tratamiento más usado es la azitromicina 1g vía oral como dosis única o Doxiciclina 100mg vía oral 2 veces al día por 7 días. Sin embargo, es conocido que puede haber causas persistentes, por lo que el complemento con estudios de cultivo o técnicas moleculares puede ser necesario para asegurar la efectividad del tratamiento¹²⁷.

CAPÍTULO 10. CONCLUSIÓN

Como conclusión mediante los resultados de este estudio:

Objetivo general: No se asoció el desarrollo de lesiones intraepiteliales cervicales con la presencia de coinfecciones del VPH y otros patógenos asociados a infecciones vaginales.

Objetivos específicos:

1. Se generó un biobanco de ADN proveniente de citologías líquidas de pacientes con reporte histopatológico de lesiones intraepiteliales y de un grupo control con Papanicolaou negativo-normal.
2. Se identificaron VPHs de alto y bajo riesgo en las muestras de ADN de citologías líquidas.
3. Se lograron identificar *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Trichomonas vaginalis*, *Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma genitalium*, *Ureaplasma urealyticum* y *Ureaplasma parvum* en las muestras de ADN de citologías líquidas.
4. No fue posible correlacionar la coinfección de VPH con bacterias asociadas a infecciones vaginales con los resultados del Papanicolaou.

Sin embargo, se encontró una asociación estadísticamente significativa con la presencia de condilomatosis vulvovaginal y la coinfección de *Ureoplasma* spp, lo cual sugiere que la presencia de este patógeno en la flora vaginal podría estar relacionado con la infectividad de VPH y la carcinogénesis de las lesiones precursoras de cáncer.

CAPÍTULO 11. ANEXOS

11.1 Carta de Aceptación del Comité de Ética en Investigación.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



FACULTAD DE MEDICINA Y HOSPITAL UNIVERSITARIO

DR. MED. OSCAR VIDAL GUTIERREZ
Investigador principal
Departamento de Ginecología y Obstetricia
Presente -

Estimado Dr. Vidal:

En respuesta a su solicitud con número de Ingreso **PI19-00356** con fecha del **14 de Octubre del 2019**, recibida en las Oficinas de la Secretaría de Investigación Clínica de la Subdirección de Investigación, se extiende la siguiente **DICTAMEN FAVORABLE** con fundamento en los artículos 4º párrafo cuarto y 16 de la Constitución Política de los Estados Unidos Mexicanos; así como los artículos 14-16, 99 párrafo tercero, 102, 106 del Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la salud; así como de los artículos 111, 112 y 119 del Decreto que modifica a la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la salud publicado el día 2 de abril del 2014; Además Punto 4.4, 4.7, 6.2, 8 de la Norma Oficial Mexicana NOM-012-SSA3-2012, que establece los criterios para la ejecución de proyectos de investigación para la salud en seres humanos, así como por el Reglamento interno de Investigación de Nuestra Institución.

Se le informa que el Comité a mi cargo ha determinado que su Protocolo de Investigación clínica abajo mencionado cuenta con la calidad técnica y mérito científico que la Sociedad Mexicana demanda.

"Asociación del desarrollo de lesiones intraepiteliales cervicales con la presencia de coinfecciones del VPH y otros patógenos asociados a infecciones vaginales", registrado con la clave **GI19-00015**.

A continuación se enlistan los documentos aprobados:

- Protocolo en extenso, versión 1.0 de fecha Octubre del 2019.

Le reitero que es obligación del Investigador principal presentar a este Comité de Investigación un informe técnico final.

Será nuestra obligación realizar visitas de seguimiento a su sitio de investigación para que todo lo anterior este debidamente consignado, en caso de no apegarse, este Comité tiene la autoridad de suspender temporal o definitivamente la investigación en curso, todo esto con la finalidad de resguardar el beneficio y seguridad de todo el personal y sujetos en investigación.

Atentamente -
"Aere Flammam Veritatis"
Monterrey, Nuevo León 05 de Diciembre del 2019

DR. C. GUILLERMO ELIZONDO RIOJAS
Presidente del Comité de Investigación



Comité de Investigación

Av. Francisco I. Madero y Av. Gonzalitos s/n, Col. Mitras Centro, C.P. 64460, Monterrey, N.L. México
Teléfonos: 818329 4050, Ext. 2870 a 2874. Correo Electrónico: investigacionclinica@meduanel.com



September 18, 2017

Número de Folio: _____	Fecha: _____
Nombre: _____	Registro HU: _____
Edad: _____	Código Postal: _____
Ocupación: _____	
Estado Civil: _____	Escolaridad: _____
Número de Muestra: _____	

11.2 Cuestionario

Antecedentes Heredo Familiares:

Antecedentes Personales no Patológicos:

Alcoholismo: _____

Tabaquismo: _____

Drogas: _____

Antecedentes Personales Patológicos:

Antecedentes Ginecológicos y Obstétricos:

Menarquia: ___ Ritmo: _____ IVSA: ___ NCS: ___

MPF: _____ Especificaciones: _____

Numero de Gestas: ___ P ___ C ___ A ___ Fecha de ultimo evento obstétrico: _____

Citologías Ginecológicas previas SI ___ NO ___

Inmunización contra VPH: SI ___ NO ___

Cervarix: ___ Dosis: _____ *Gardasil*: ___ Dosis: _____

Fecha de ultima Citología: _____ Interna (H.U.): ___ Externa: ___

Resultado: _____

Colposcopia: SI ___ NO ___

Fecha de ultima Colposcopia: _____ Interna (H.U.): _____ Externa: _____

Resultado: _____

IPAS:

Sx digestivos: SI__ NO__ ¿Cuál? _____

Sx urinarios: SI__ NO__ ¿Cuál? _____

Sx vulvares: SI__ NO__ ¿Cuál? _____

Sx vaginales: SI__ NO__ ¿Cuál? _____

Sx perianales: SI__ NO__ ¿Cuál? _____

Exploración Física:

Peso: _____ **Talla:** _____ **IMC:** _____

Vulva: Sin alteraciones: _____ Lesiones visibles: SI__ NO__

Tipo de lesión: _____

Sitio de lesión: _____

Tratamientos previos: SI__ NO__ Cual: _____

Vagina:

Eutrófica: _____ Atrófica: _____

Leucorrea: SI: _____ NO: _____

Características:

Cantidad: Escasa: _____ Moderada: _____

Abundante: _____

Consistencia: Liquida: _____ Espesa: _____

Grumosa: _____

Coloración: Blanquecina: _____ Amarillenta: _____

Verdosa: _____ Grisácea: _____

Olor: Fétido: _____ Inodora: _____



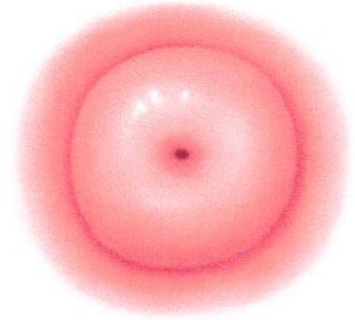
Cérvix:

Tamaño: Hipotrófico: _____ Eutrófico: _____

Hipertrófico: _____

Superficie: Normal: _____ Alterada: _____

Tipo de alteración: _____



Colposcopia:

Satisfactoria: _____ No Satisfactoria: _____

Ácido Acético: _____

Lugol: _____

Comentarios:

11.3 Carta de Consentimiento Informado.

FORMATO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Título del Estudio	Detección simultanea de 28 tipos de VPH y 7 patógenos de enfermedades de transmisión sexual por PCR en tiempo real
Nombre del Investigador Principal	Dr. med. Oscar Vidal Gutiérrez
Servicio / Departamento	Servicio de Oncología
Teléfono de Contacto	83-33-81-11 Ext. 1306,1307 y 1301 ó al 81-82-54-35-04
Persona de Contacto	Dr. C. Lourdes Garza Rodríguez
Versión de Documento	1.1
Fecha de Documento	

Usted ha sido invitado(a) a participar en un estudio de investigación. Este documento contiene información importante acerca del propósito del estudio, lo que Usted hará si decide participar, y la forma en que nos gustaría utilizar su información personal y la de su salud.

Puede contener palabras que Usted no entienda. Por favor solicite a su médico o al personal del estudio que le explique cualquier palabra o información que no le quede clara.

¿CUÁL ES EL PROPÓSITO DEL ESTUDIO?

Usted está participando en el protocolo titulado: “Detección simultanea de 28 tipos de VPH y 7 patógenos de enfermedades de transmisión sexual por PCR en tiempo real”. El presente documento es una carta de consentimiento informado que tiene por objetivo que usted nos autorice almacenar las muestras biológicas que se le tomen durante el estudio, las cuales pueden ser de sangre, orina, saliva, citologías líquidas (muestras de cepillados del cuello del útero o examen de Papanicolaou) y cepillados bucales (muestras tomadas del carrillo bucal con un pequeño cepillo). El propósito de este estudio es identificar fragmentos de ADN de virus y bacterias presentes en el cuello del útero con una finalidad diagnóstica.

Se le pide participar porque usted está siendo atendido en conjunto con los departamentos de Ginecología y Obstetricia y en el Centro Universitario Contra el Cáncer, en el cual estamos realizando estudios para crear nuevas pruebas de laboratorio que ayuden a la detección oportuna de enfermedades infecciosas y detección temprana del cáncer, para poder ofrecer tratamientos oportunos.

¿CUÁL SERÁ LA DURACIÓN DEL ESTUDIO Y CUÁNTOS PARTICIPANTES HABRÁ EN ESTE ESTUDIO?

La duración del estudio será de 3 años.

Se incluirán 600 sujetos de investigación cada año, y todos los pacientes serán reclutados en el Departamento de Ginecología y Obstetricia y en el Centro Universitario Contra el Cáncer.

¿CUÁLES SON LOS REQUISITOS QUE SE TOMARÁN EN CUENTA PARA MI PARTICIPACIÓN?

Criterios de inclusión:

Tener una edad mayor o igual a 18 años.

Que usted esté dispuesto a participar en el estudio y donar sus muestras biológicas al Laboratorio de Investigación Básica-Clínica (LIBAC).

Criterios de Exclusión:

Tener una edad menor de 18 años.

Estar cursando un embarazo.

Que usted no esté dispuesto a participar en el estudio y donar sus muestras biológicas al Laboratorio de Investigación Básica-Clínica (LIBAC).

¿CUÁL ES EL TRATAMIENTO DEL ESTUDIO?

Usted no requerirá algún tipo de medicamento en esta investigación.

¿CUÁLES SON LOS PROCEDIMIENTOS QUE SE ME REALIZARÁN?

Los procedimientos que se le realizarán serán los siguientes:

Se guardará y dispondrá de las muestras biológicas que se le extraigan durante el proceso asistencial (citologías cervicales en base líquida), sin que este hecho le cause molestias adicionales ni interfiera con los demás estudios que se le están realizando. En este proyecto participarán pacientes con infecciones de transmisión sexual y sin infecciones de transmisión sexual. El proyecto tendrá una vigencia de aproximadamente 3 años. Cualquier muestra que se le solicite será de origen líquido y ninguna toma de muestra será de naturaleza invasiva o que requiera internamiento. Se coleccionará información de su expediente clínico, el cual incluirá su edad, diagnóstico, historial de enfermedades, historial familiar, tratamientos médicos previos y/o actuales, etc. Las muestras se almacenarán y la información asociada a las mismas se custodiará en el Laboratorio de Investigación Básica-Clínica (LIBAC) del Servicio de Oncología del Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González” por 3 años o menos. Las muestras biológicas que usted donará al Laboratorio podrán ser utilizadas para fines de investigaciones biomédicas a nivel nacional e internacional. Aunque sus muestras biológicas serán utilizadas en diferentes investigaciones, solo el LIBAC tendrá acceso a su información personal y es el LIBAC quien se encargará de la protección de sus datos personales.

El LIBAC se encuentra localizado en el tercer piso del Centro Universitario Contra el Cáncer, en el Servicio de Oncología, del Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González” de la Universidad Autónoma de Nuevo León, en Av. Francisco I. Madero y Av. Gonzalitos s/n, Col. Mitras Centro, Monterrey, Nuevo León México, CP 64460. Las muestras almacenadas servirán para realizar estudios genéticos, de proteínas y de células

que permitan identificar infecciones por VPH y otros patógenos causantes de enfermedades de transmisión sexual.

¿Cómo se manejarán mis muestras y mis registros médicos?

- Las muestras de biopsia líquida colectadas y los registros médicos serán marcados con un código (codificados) para su seguimiento y con el fin de mantener su confidencialidad de sus datos personales, de modo que su nombre no aparecerá en ninguno de nuestros registros.
- Todos los datos serán depositados en una base de datos segura, donde nadie que no esté autorizado podrá tener acceso a su información.
- Solamente un reducido grupo de investigadores y médicos autorizados, que se han comprometido a proteger los datos de los participantes en el estudio, tendrán acceso a la base de datos.
- El procesamiento de las muestras implica la obtención del material genético de las muestras. Las muestras no serán utilizadas con fines comerciales ni para generar líneas celulares comerciales.
- Sus muestras estarán almacenadas en el LIBAC durante 3 años. Después de ese período las muestras serán destruidas por medio de incineración.

¿En dónde se depositarán los resultados de los análisis del estudio?

- Los datos codificados de su expediente clínico estarán disponibles solamente para los investigadores de este protocolo. Ni sus datos, ni sus muestras serán utilizados en el presente o en el futuro con fines comerciales.

¿QUÉ VA A HACER SI USTED DECIDE PARTICIPAR EN ESTE ESTUDIO?

Si usted da su consentimiento para participar, se le pedirá que done una muestra de citología cervical en base líquida. Ninguna de estas muestras representará un riesgo para su salud.

Sus responsabilidades consistirán principalmente en donar la muestra y contestar las preguntas que le haga el investigador.

¿CUÁLES SON LOS POSIBLES RIESGOS O MOLESTIAS?

Participar como donador de muestras biológicas en este proyecto de investigación no causará molestias adicionales a las propias causadas por los procedimientos que se le realizarán con fines asistenciales, entre ellos estaría la presencia de dolor al realizar al colocar el espejo vaginal.

¿CUÁLES SON LOS POSIBLES BENEFICIOS PARA USTED O PARA OTROS?

Usted puede verse beneficiado por su participación en este estudio, aunque no hay garantías de que tenga un beneficio directo por participar en el mismo.

Los conocimientos obtenidos gracias a los estudios llevados a cabo a partir de su muestra y de muchas como la suya donada, podrán ayudar a la búsqueda de nuevas pruebas para la detección temprana de infecciones por VPH o enfermedades de transmisión sexual que pueden ser precursoras cáncer, con el propósito de dar un tratamiento oportuno y evitar diagnosticar esta enfermedad en etapas avanzadas. Estos

estudios se realizarán utilizando muestras líquidas, las cuales son menos invasivas (Citología cervical).

¿QUÉ OTROS PROCEDIMIENTOS O TRATAMIENTOS PODRÍAN ESTAR DISPONIBLES PARA USTED?

En este estudio no se ofrece ningún tratamiento o procedimiento adicional para los participantes. En caso de que por medio de los estudios genéticos se identificara que usted es candidato a un nuevo tratamiento, alguno de los investigadores lo contactará para informarle de los resultados.

¿SU PARTICIPACIÓN EN ESTE ESTUDIO LE GENERARÁ ALGÚN COSTO?

No habrá costos para Usted por participar en este estudio.

¿SE LE PROPORCIONARÁ ALGUNA COMPENSACIÓN ECONÓMICA PARA GASTOS DE TRANSPORTACIÓN?

A usted no se le proporcionará ninguna compensación para sus gastos de transportación.

¿RECIBIRÁ ALGÚN PAGO POR SU PARTICIPACIÓN EN ESTE ESTUDIO?

Usted no recibirá ningún pago por la participación en este estudio.

¿SE ALMACENARÁN MUESTRAS DE SANGRE O TEJIDOS PARA FUTURAS INVESTIGACIONES?

Autorizar el almacenamiento de sus muestras de sangre o tejidos para futuras investigaciones de su enfermedad no le generará un costo a Usted. Sus muestras serán utilizadas sólo para esta investigación y no se comercializarán ni serán usadas para crear líneas celulares inmortales. La investigación que se realice con ellas puede llevar al desarrollo de nuevos productos o medicamentos en un futuro. Usted no recibirá ninguna compensación ahora o en el futuro por el uso de estas muestras. Las muestras serán almacenadas en Laboratorio de Investigación Básica-Clínica (LIBAC) por un lapso de 3 años. Después de ese período las muestras serán destruidas por medio de incineración.

¿QUÉ DEBE HACER SI LE PASA ALGO COMO RESULTADO DE PARTICIPAR EN ESTE ESTUDIO?

Si Usted sufre una lesión o enfermedad durante su participación en el estudio, debe buscar tratamiento a través de su médico de cabecera o centro de atención médica de elección y debe informárselo inmediatamente al médico del estudio.

Los gastos que genere dicha lesión o enfermedad sólo le serán pagados si el médico del estudio ha decidido que la lesión/enfermedad está directamente relacionada con los procedimientos del estudio, y no es el resultado de una condición pre-existente de la progresión normal de su enfermedad, o porque no se han seguido las indicaciones que el médico de estudio ha recomendado.

Si se enferma o se lesiona debido a una complicación o adversidad que sea resultado directo del procedimiento en estudio, deberá usted notificar al Investigador Principal para que reciba la atención médica necesaria en el Hospital Universitario “Dr. José

Eleuterio González”. Contacte al Dr. med. Oscar Vidal Gutiérrez al Tel: (81)83-33-81-11 ext. 1306,1307 y 1301 del Servicio de Oncología. El tratamiento recibido no tendrá ningún costo y será cubierto por la Institución, así como la indemnización a la cual tendría derecho en caso de requerirla.

¿CUÁLES SON SUS DERECHOS COMO SUJETO DE INVESTIGACIÓN?

Si decide participar en este estudio, Usted tiene derecho a ser tratado con respeto, incluyendo la decisión de continuar o no su participación en el estudio. Usted es libre de terminar su participación en este estudio en cualquier momento.

¿PUEDE TERMINAR SU PARTICIPACIÓN EN CUALQUIER MOMENTO DEL ESTUDIO?

Su participación es estrictamente voluntaria. Si desea suspender su participación, puede hacerlo con libertad en cualquier momento. Si elige no participar o retirarse del estudio, su atención médica presente y/o futura no se verá afectada y no incurrirá en sanciones ni perderá los beneficios a los que usted tendría derecho de algún otro modo.

Su participación también podrá ser suspendida o terminada por el médico del estudio, sin su consentimiento, por cualquiera de las siguientes circunstancias:

- Que el estudio haya sido cancelado.
- Que el médico considere que es lo mejor para Usted.
- Que necesita algún procedimiento o medicamento que interfiere con esta investigación.
- Que no ha seguido las indicaciones del médico lo que pudiera traer como consecuencias problemas en su salud.

Si Usted decide retirarse de este estudio, deberá realizar lo siguiente:

- Notificar a su médico tratante del estudio
- Deberá de regresar todo el material que su médico le solicite.

Si su participación en el estudio se da por terminada, por cualquier razón, por su seguridad, el médico continuará con seguimientos clínicos. Además, su información médica recabada hasta ese momento podrá ser utilizada para fines de la investigación.

¿CÓMO SE PROTEGERÁ LA CONFIDENCIALIDAD DE SUS DATOS PERSONALES Y LA INFORMACIÓN DE SU EXPEDIENTE CLÍNICO?

Si acepta participar en la investigación, el médico del estudio recabará y registrará información personal confidencial acerca de su salud y de su tratamiento. Esta información no contendrá su nombre completo ni su domicilio, pero podrá contener otra información acerca de Usted, tal como iniciales y su fecha de nacimiento. Toda esta información tiene como finalidad garantizar la integridad científica de la investigación. Su nombre no será conocido fuera de la Institución al menos que lo requiera nuestra Ley.

Usted tiene el derecho de controlar el uso de sus datos personales de acuerdo a la Ley Federal de Protección de datos Personales en Posición de Particulares, así mismo de solicitar el acceso, rectificación, corrección y oposición de su información personal. La

solicitud será procesada de acuerdo a las regulaciones de protección de datos vigentes. Sin embargo, cierta información no podrá estar disponible hasta que el estudio sea completado, esto con la finalidad de proteger la integridad del Estudio.

La Facultad de Medicina y Hospital Universitario, así como el Investigador serán los responsables de salvaguardar la información de acuerdo con las regulaciones locales.

Usted tiene el derecho de solicitar por escrito al médico un resumen de su expediente clínico.

La información personal acerca de su salud y de su tratamiento del estudio podrá procesarse o transferirse a terceros en otros países para fines de investigación y de reportes de seguridad, incluyendo agencias reguladoras locales y nacionales (Secretaría de Salud SSA y COFEPRIS), así como al Comité de Ética en Investigación y al Comité de Investigación de nuestra Institución.

Para los propósitos de este estudio, autoridades sanitarias como la Secretaría de Salud y el Comité de Ética en Investigación y/o el Comité de Investigación de nuestra Institución, podrán inspeccionar su expediente clínico, incluso los datos que fueron recabados antes del inicio de su participación, los cuales pueden incluir su nombre, domicilio u otra información personal.

En caso necesario estas auditorías o inspecciones podrán hacer fotocopias de parte o de todo su expediente clínico. La razón de esto es asegurar que el estudio se está llevando a cabo apropiadamente con la finalidad de salvaguardar sus derechos como sujeto en investigación.

Los resultados de este estudio de investigación podrán presentarse en reuniones o en publicaciones.

La información recabada durante este estudio será recopilada en bases de datos del investigador, los cuales podrán ser usados en otros estudios en el futuro. Estos datos no incluirán información médica personal confidencial. Se mantendrá el anonimato.

Al firmar este documento, Usted autoriza el uso y revelaciones de la información acerca de su estado de salud y tratamiento identificado en esta forma de consentimiento. No perderá ninguno de sus derechos legales como sujeto de investigación. Si hay cambios en el uso de su información, su médico le informará.

SI TIENE PREGUNTAS O INQUIETUDES ACERCA DE ESTE ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN, ¿A QUIÉN PUEDE LLAMAR?

En caso de tener alguna pregunta relacionada a sus derechos como sujeto de investigación de la Facultad de Medicina y Hospital Universitario podrá contactar al **Dr. med. José Gerardo Garza Leal**, Presidente del Comité de Ética en Investigación de nuestra Institución o al **Lic. Antonio Zapata de la Riva** en caso de tener dudas en relación a sus derechos como paciente.

Comité de Ética en Investigación del Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González”.

Av. Francisco I. Madero y Av. Gonzalitos s/n

Col. Mitras Centro, Monterrey, Nuevo León México.

CP 64460

Teléfonos: (81) 83294000 ext. 2870 a 2874

Correo electrónico: investigacionclinica@meduanl.com

RESUMEN CONSENTIMIENTO.

PARA LLENAR POR EL SUJETO DE INVESTIGACIÓN

- Mi participación es completamente voluntaria.
- Confirmando que he leído y entendido este documento y la información proporcionada del estudio.
- Confirmando que se me ha explicado el estudio, que he tenido la oportunidad de hacer preguntas y que se me ha dado el tiempo suficiente para decidir sobre mi participación. Sé con quién debo comunicarme si tengo más preguntas.
- Entiendo que las secciones de mis anotaciones médicas serán revisadas cuando sea pertinente por el Comité de Ética en Investigación o cualquier otra autoridad regulatoria para proteger mi participación en el estudio.
- Acepto que mis datos personales se archiven bajo códigos que permitan mi identificación.
- Acepto que mis materiales biológicos (sangre, orina, tejidos) recolectados puedan usarse para los fines que convengan a este estudio.
- Acepto que mi médico general sea informado de mi participación en este estudio.
- Acepto que la información acerca de este estudio y los resultados de cualquier examen o procedimiento pueden ser incluidos en mi expediente clínico.
- Confirmando que se me ha entregado una copia de este documento de consentimiento firmado.

Nombre del Sujeto de Investigación

Firma

Fecha

PRIMER TESTIGO

Nombre del Primer Testigo

Firma

Dirección

Fecha

Relación con el Sujeto de Investigación

SEGUNDO TESTIGO

Nombre del Segundo Testigo

Firma

Dirección

Fecha

Relación con el Sujeto de Investigación

PERSONA QUE OBTIENE CONSENTIMIENTO

He discutido lo anterior y he aclarado las dudas. A mi más leal saber y entender, el sujeto está proporcionando su consentimiento tanto voluntariamente como de una manera informada, y él/ella posee el derecho legal y la capacidad mental suficiente para otorgar este consentimiento.

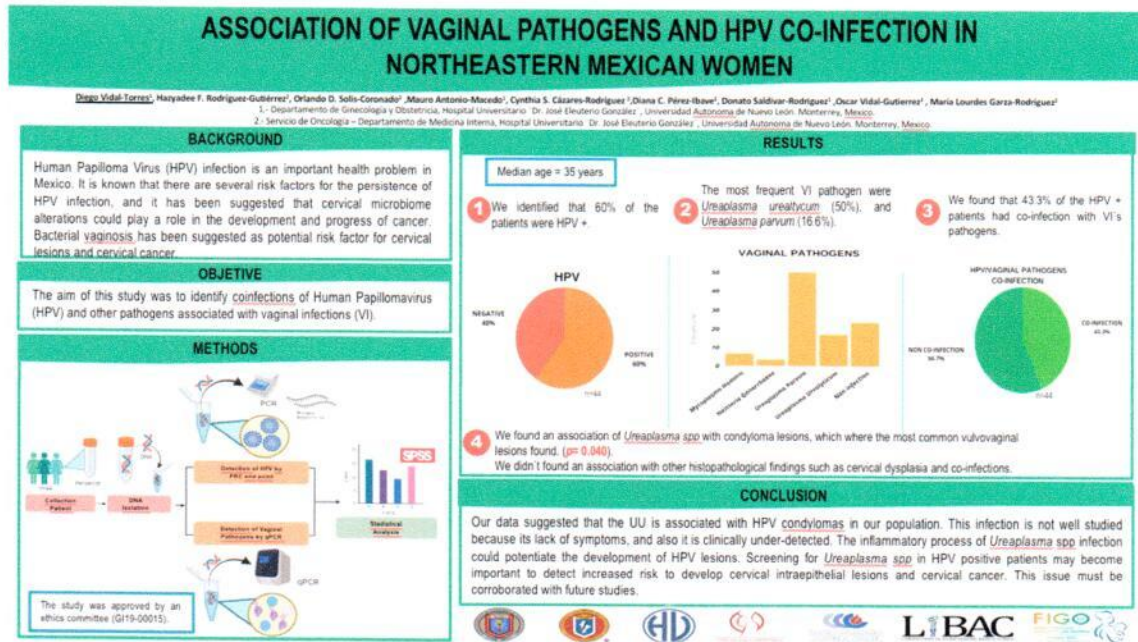
Nombre de la Persona que obtiene el Consentimiento

Firma

Fecha

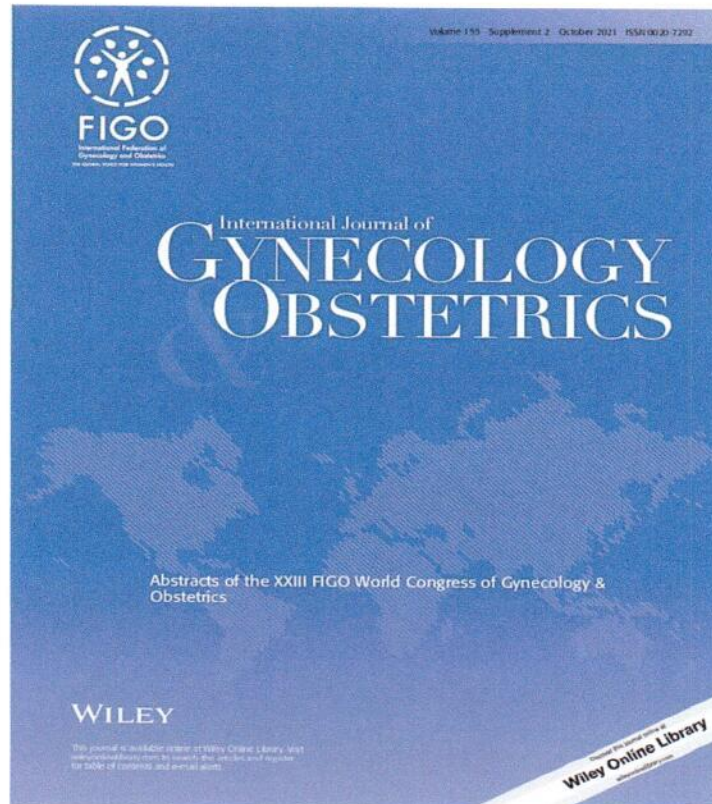
11.4 Actividad científica.

Este trabajo se publicó en formato de e-Poster, con el número #P0847 en el “XXIII FIGO World Congress of Gynecology and Obstetrics” Que tuvo lugar de manera virtual del 21-28 de octubre 2021.



De igual manera los trabajos en formato de e-Poster en este congreso se publicaron en la revista “Abstracts of the XXIII FIGO World Congress of Gynecology & Obstetrics” *International Journal of Gynecology and Obstetrics* volume 155, Supplement 2, p.322 October 2021.

Esta revista está indexada en el JCR con factor de impacto de **3.561**.



P0487 | ASSOCIATION OF VAGINAL PATHOGENS AND HPV CO-INFECTION IN NORTHEASTERN MEXICAN WOMEN
THEME: AB 3 GENERAL GYNAECOLOGY/SUB-THEME: AB 3.5 INFECTIONS IN GYNAECOLOGY

Diego Vidal-Torres¹, Hazyadee F. Rodríguez-Gutiérrez²,
Orlando D. Solís-Coronado², Mauro Antonio-Macedo¹,
Cynthia S. Cazares-Rodríguez², Diana C. Pérez-Ibave²,
Donato Saldívar-Rodríguez¹, Oscar Vidal-Gutiérrez²,
María Lourdes Garza-Rodríguez²

¹Departamento de Ginecología y Obstetricia, Hospital Universitario "Dr. José Eleuterio González", Universidad Autónoma de Nuevo Leon, MONTERREY, NUEVO LEON, Mexico; ²Servicio de Oncología - Departamento de Medicina Interna, Hospital Universitario "Dr. José Eleuterio González", Universidad Autónoma de Nuevo Leon, MONTERREY, NUEVO LEON, Mexico

CAPÍTULO 12. BIBLIOGRAFÍA

- 1 Zhao, S. *et al.* Distribution of high-risk human papillomavirus genotype prevalence and attribution to cervical precancerous lesions in rural North China. *Chin J Cancer Res* **31**, 663-672, doi:10.21147/j.issn.1000-9604.2019.04.10 (2019).
- 2 Zheng, Z.-M. & Baker, C. C. Papillomavirus genome structure, expression and post-transcriptional regulation. *Frontiers in bioscience : A journal and virtual library* **11**, 2286-2302 (2006).
- 3 Doorbar, J. *et al.* The Biology and Life-Cycle of Human Papillomaviruses. *Comprehensive Control of HPV Infections and Related Diseases* **30**, F55-F70 (2012).
- 4 Woodman, C. B. J., Collins, S. I. & Young, L. S. The natural history of cervical HPV infection: unresolved issues. *Nature Reviews Cancer* **7**, 11-22, doi:10.1038/nrc2050 (2007).
- 5 Li Y., Xu C. (2017) Human Papillomavirus-Related Cancers. In: Cai Q., Yuan Z., Lan K. (eds) Infectious Agents Associated Cancers: Epidemiology and Molecular Biology. Advances in Experimental Medicine and Biology, vol 1018. Springer, Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-10-5765-6_3
- 6 Egawa, N., Egawa, K., Griffin, H. & Doorbar, J. Human Papillomaviruses; Epithelial Tropisms, and the Development of Neoplasia. *Viruses* **7**, 3863-3890 (2015).
- 7 Yang, E. J. *et al.* Microanatomy of the cervical and anorectal squamocolumnar junctions: a proposed model for anatomical differences in HPV-related cancer risk. *Modern pathology : an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc* **28**, 994-1000 (2015).
- 8 Kranjec, C. *et al.* Modulation of basal cell fate during productive and transforming HPV-16 infection is mediated by progressive E6-driven depletion of Notch. *The Journal of Pathology* **242**, 448-462 (2017).
- 9 Schiffman M, Doorbar J, Wentzensen N, de Sanjosé S, Fakhry C, Monk BJ, Stanley MA, Franceschi S. Carcinogenic human papillomavirus infection. *Nat Rev Dis Primers*. 2016 Dec 1;2:16086. doi: 10.1038/nrdp.2016.86. PMID: 27905473.
- 10 Shreya, K. & Laura, M. F. a. W. M. K. Mechanisms Used by Human Papillomaviruses to Escape the Host Immune Response. **7**, 79-89 (2007).
- 11 Sasagawa, T., Takagi, H. & Makinoda, S. Immune responses against human papillomavirus (HPV) infection and evasion of host defense in cervical cancer. *J Infect Chemother* **18**, 807-815, doi:10.1007/s10156-012-0485-5 (2012).
- 12 Fausch, S. C., Fahey, L. M., Da Silva, D. M. & Kast, W. M. Human Papillomavirus Can Escape Immune Recognition through Langerhans Cell Phosphoinositide 3-Kinase Activation. *The Journal of Immunology* **174**, 7172 (2005).
- 13 Tummers, B. *et al.* The interferon-related developmental regulator 1 is used by human papillomavirus to suppress NFκB activation. *Nature communications* **6**, 6537-6537 (2015).
- 14 Choo, K. B., Pan, C. C. & Han, S. H. Integration of human papillomavirus type 16 into cellular DNA of cervical carcinoma: preferential deletion of the E2 gene and invariable retention of the long control region and the E6/E7 open reading frames. *Virology* **161**, 259-261 (1987).

- 15 Cricca, M. *et al.* Disruption of HPV 16 E1 and E2 genes in precancerous cervical lesions. *J Virol Methods* **158**, 180-183, doi:10.1016/j.jviromet.2009.01.005 (2009).
- 16 Kahla, S., Kochbati, L., Chanoufi, M. B., Maalej, M. & Oueslati, R. HPV-16 E2 physical status and molecular evolution in vivo in cervical carcinomas. *Int J Biol Markers* **29**, e78-85, doi:10.5301/jbm.5000051 (2014).
- 17 Institute, N. C. *What is cancer?*, <<https://www.cancer.gov/about-cancer/understanding/what-is-cancer>> (2015).
- 18 D, H. & RAW. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* **144**, 29, doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2011.02.013 (2011).
- 19 Alcazar-González GA *et al.* Comparative study of polymorphism frequencies of the CYP2D6, CYP3A5, CYP2C8 and IL-10 genes in Mexican and Spanish women with breast cancer. *Pharmacogenomics*. **14**, 9 (2013).
- 20 Black MH & EP, D. The diagnostic and prognostic utility of prostate-specific antigen for diseases of the breast. *Breast Cancer Res Treat* **59**, 14 (2000).
- 21 MA, T. Genomic and proteomic biomarkers for cancer: a multitude of opportunities. *Biochim Biophys Acta*. **1796**, 17 (2009).
- 22 Schwarz, E. *et al.* Structure and transcription of human papillomavirus sequences in cervical carcinoma cells. *Nature* **314**, 111-114 (1985).
- 23 Walboomers, J. M. M. *et al.* Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *Journal of Pathology* **189**, 12-19, doi:10.1002/(sici)1096-9896(199909)189:1<12:aid-path431>3.0.co;2-f (1999).
- 24 Bruni L *et al.* Human Papillomavirus and Related Diseases in the World. Summary Report 24 November 2017., (ICO/IARC Information Centre on Papillomavirus and Cancer (HPV Information Centre), 2017).
- 25 Bruni L *et al.* Human Papillomavirus and Related Diseases in Mexico. Summary Report 27 July 2017. (ICO/IARC Information Centre on HPV and Cancer (HPV Information Centre), 2017).
- 26 de Martel, C. *et al.* Global burden of cancers attributable to infections in 2008: a review and synthetic analysis. **13**, 607-615 (2012).
- 27 Van Doorslaer, K. *et al.* The Papillomavirus Episteme: a central resource for papillomavirus sequence data and analysis. *Nucleic Acids Research* **41**, D571-D578 (2013).
- 28 de Villiers, E.-M. Cross-roads in the classification of papillomaviruses. *Special Issue: The Papillomavirus Episteme* **445**, 2-10 (2013).
- 29 Bansal, A., Singh, M. & Rai, B. Human papillomavirus-associated cancers: A growing global problem. *International Journal of Applied and Basic Medical Research* **6**, 84-89 (2016).
- 30 de Martel, C., Plummer, M., Vignat, J. and Franceschi, S. (2017), Worldwide burden of cancer attributable to HPV by site, country and HPV type. *Int. J. Cancer*, 141: 664-670. <https://doi.org/10.1002/ijc.30716> *Fact Sheets by Cancer*, <http://globocan.iarc.fr/Pages/fact_sheets_cancer.aspx> (2014).
- 31 de Sanjosé S, Diaz M, Castellsagué X, Clifford G, Bruni L, Muñoz N, Bosch FX. Worldwide prevalence and genotype distribution of cervical human papillomavirus DNA in women with normal cytology: a meta-analysis. *Lancet Infect Dis*. 2007 Jul;7(7):453-9. doi: 10.1016/S1473-3099(07)70158-5. PMID: 17597569.
- 32 Guan, P. *et al.* Human papillomavirus types in 115,789 HPV-positive women

- A meta-analysis from cervical infection to cancer, *International Journal of Cancer* Volume 131, Issue 10. *International Journal of Cancer* **131**, 2349-2359 (2012). <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ijc.27485/abstract>>.
- 33 Illades-Aguilar, B. *et al.* Prevalence and distribution of human papillomavirus types in cervical cancer, squamous intraepithelial lesions, and with no intraepithelial lesions in women from Southern Mexico. *Gynecol Oncol* **117**, 291-296, doi:S0090-8258(10)00099-5 [pii] 10.1016/j.ygyno.2010.01.036 (2010).
 - 34 Peralta-Rodriguez, R. *et al.* Prevalence of human papillomavirus in the cervical epithelium of Mexican women: meta-analysis. *Infectious agents and cancer* **7**, 34, doi:10.1186/1750-9378-7-34 (2012).
 - 35 Valentino, K. & Poronsky, C. B. Human Papillomavirus Infection and Vaccination. *J Pediatr Nurs.* Mar-Apr 2016;31(2):e155-66. doi:10.1016/j.pedn.2015.10.005. Epub 2015 Nov 14.
 - 36 Markowitz, L. E. *et al.* Human papillomavirus vaccination: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR Recomm Rep* **63**, 1-30 (2014).
 - 37 Yoshida, K. *et al.* The possibility of vertical transmission of human papillomavirus through maternal milk. *Journal of Obstetrics and Gynaecology* **31**, 503-506 (2011).
 - 38 Louvanto, K. *et al.* Breast Milk Is a Potential Vehicle for Human Papillomavirus Transmission to Oral Mucosa of the Spouse. *The Pediatric Infectious Disease Journal* **36** (2017).
 - 39 Mant, C. *et al.* Buccal exposure to human papillomavirus type 16 is a common yet transitory event of childhood. *J Med Virol* **71**, 593-598, doi:10.1002/jmv.10529 (2003).
 - 40 Telesheva, L. F. *et al.* [Cytokine status of cervical mucus in women with transitory and persistent course of papillomavirus infection]. *Zh Mikrobiol Epidemiol Immunobiol*, 118-121 (2012).
 - 41 Dunne, E. F., Unger, E. R., Sternberg, M. & *et al.* Prevalence of hpv infection among females in the united states. **297**, 813-819 (2007).
 - 42 Trottier, H. *et al.* Human papillomavirus infection and reinfection in adult women: the role of sexual activity and natural immunity. *Cancer Res* **70**, 8569-8577, doi:10.1158/0008-5472.can-10-0621 (2010).
 - 43 Rositch, A. F. *et al.* Patterns of persistent genital human papillomavirus infection among women worldwide: a literature review and meta-analysis. *Int J Cancer* **133**, 1271-1285, doi:10.1002/ijc.27828 (2013).
 - 44 Matkins, P. P. Sexually transmitted infections in adolescents. *N C Med J* **74**, 48-52 (2013).
 - 45 Ronco, G. *et al.* Efficacy of HPV-based screening for prevention of invasive cervical cancer: follow-up of four European randomised controlled trials. **383**, 524-532 (2014).
 - 46 Xi, L. F. *et al.* Variant-Specific Persistence of Infections with Human Papillomavirus Types 31, 33, 45, 56 and 58 and Risk of Cervical Intraepithelial Neoplasia. *International journal of cancer* **139**, 1098-1105 (2016).

- 47 Khan, M. J. *et al.* The Elevated 10-Year Risk of Cervical Precancer and Cancer in Women With Human Papillomavirus (HPV) Type 16 or 18 and the Possible Utility of Type-Specific HPV Testing in Clinical Practice. **97**, 1072-1079 (2005).
- 48 Kim, M.-J., Kim, J. J. & Kim, S. Type-specific prevalence of high-risk human papillomavirus by cervical cytology and age: Data from the health check-ups of 7,014 Korean women. *Obstetrics & Gynecology Science* **56**, 110-120 (2013).
- 49 de Sanjosé S, Brotons M, Pavón MA. The natural history of human papillomavirus infection. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2018 Feb; 47:2-13. doi: 10.1016/j.bpobgyn.2017.08.015. Epub 2017 Sep 6. PMID: 28964706.
- 50 Monnier-Benoit S, Dalstein V, Riethmuller D, Lalaoui N, Mougin C, Prétet JL. Dynamics of HPV16 DNA load reflect the natural history of cervical HPV-associated lesions. *J Clin Virol.* 2006 Mar;35(3):270-7. doi: 10.1016/j.jcv.2005.09.001. Epub 2005 Oct 7. Erratum in: *J Clin Virol.* 2006 Oct;37(2):137. PMID: 16214397.
- 51 Shukla, S. *et al.* Physical state & copy number of high risk human papillomavirus type 16 DNA in progression of cervical cancer. *Indian J Med Res* **139**, 531-543 (2014).
- 52 Botezatu, A. *et al.* The relationship between HPV16 and HPV18 viral load and cervical lesions progression. *Roum Arch Microbiol Immunol* **68**, 175-182 (2009).
- 53 Kahla, S. *et al.* Molecular detection of human papillomavirus and viral DNA load after radiotherapy for cervical carcinomas. *Tumori Journal* **102**, 521-526 (2016).
- 54 Song YJ, Kim JY, Lee SK, Lim HS, Lim MC, Seo SS, Kang S, Lee DO, Park SY. Persistent human papillomavirus DNA is associated with local recurrence after radiotherapy of uterine cervical cancer. *Int J Cancer.* 2011 Aug 15;129(4):896-902. doi: 10.1002/ijc.25741. Epub 2010 Dec 8. PMID: 21064095.
- 55 Bencomo-Alvarez, A. E. *et al.* Human papillomavirus viral load in cervical intraepithelial neoplasia as a prognostic factor in a Mexican population. *Genet Mol Res* **11**, 4720-4727, doi:10.4238/2012.October.4.2 (2012).
- 56 Huang CG, Lee LA, Tsao KC, Liao CT, Yang LY, Kang CJ, Chang KP, Huang SF, Chen IH, Yang SL, Lee LY, Hsueh C, Chen TC, Lin CY, Fan KH, Chang TC, Wang HM, Ng SH, Yen TC. Human papillomavirus 16/18 E7 viral loads predict distant metastasis in oral cavity squamous cell carcinoma. *J Clin Virol.* 2014 Oct;61(2):230-6. doi: 10.1016/j.jcv.2014.07.007. Epub 2014 Jul 22. PMID: 25097016.
- 57 Kim, J.-Y. *et al.* Low Initial Human Papilloma Viral Load Implicates Worse Prognosis in Patients With Uterine Cervical Cancer Treated With Radiotherapy. *Journal of Clinical Oncology* **27**, 5088-5093 (2009).
- 58 Cao M, Shah W, Qi J, Zhou Y, Wang Y, Chen H. Prognostic significance of human papillomavirus viral load in correlation with different therapeutic modalities in cervical cancer patients. *Pathol Res Pract.* 2016 Sep;212(9):804-10. doi: 10.1016/j.prp.2016.06.011. Epub 2016 Jun 25. PMID: 27461827.
- 59 Kang, W. D. *et al.* HPV-18 is a poor prognostic factor, unlike the HPV viral load, in patients with stage IB–IIA cervical cancer undergoing radical hysterectomy. **121**, 546-550 (2011).
- 60 Song, J. S., Kim, E. J., Choi, J., Gong, G. & Sung, C. O. Significance of HPV-58 Infection in Women Who Are HPV-Positive, Cytology-Negative and Living in a

- Country with a High Prevalence of HPV-58 Infection. *PLoS ONE* **8**, (2013). doi:10.1371/journal.pone.0058678
- 61 Quddus MR, Manna P, Sung CJ, Kerley S, Steinhoff MM, Lawrence WD. Prevalence, distribution, and viral burden of all 15 high-risk human papillomavirus types in adenosquamous carcinoma of the uterine cervix: a multiplex real-time polymerase chain reaction-based study. *Hum Pathol.* 2014 Feb;45(2):303-9. doi: 10.1016/j.humpath.2013.07.048. Epub 2013 Oct 1. PMID: 24355194.
- 62 Vargas H, Sánchez J, P, Guerrero M, L, Ortiz L, T, Rodríguez D, M, Amaya J, Diaz L, P, Gómez S, L, Golijow C: Type-Specific Identification of Genital Human Papillomavirus Infection in Women with Cytological Abnormality. *Acta Cytologica* 2016;60:211-216. doi: 10.1159/000446389
- 63 Han, K. T. & Sin, J. I. DNA vaccines targeting human papillomavirus-associated diseases: progresses in animal and clinical studies. *Clin Exp Vaccine Res* **2**, 106-114, doi:10.7774/cevr.2013.2.2.106 (2013).
- 64 Harper, D. *et al.* HPV Vaccine Study group. Sustained efficacy up to 4.5 years of a bivalent L1 virus-like particle vaccine against human papillomavirus types 16 and 18: follow-up from a randomized control trial. *Lancet* **367**, 55 - 1247 (2006).
- 65 Group, F. I. S. Quadrivalent vaccine against human papillomavirus to prevent high-grade cervical lesions. *N Engl J Med* **356**, 27 - 1915 (2007).
- 66 Pils S, Joura EA. From the monovalent to the nine-valent HPV vaccine. *Clin Microbiol Infect.* 2015 Sep;21(9):827-33. doi: 10.1016/j.cmi.2015.05.001. Epub 2015 May 14. PMID: 25980355.
- 67 Chang MS, Oh S, Jung EJ, Park JH, Jeon HW, Lee TS, Kim JH, Choi E, Byeon SJ, Park IA. High-risk human papillomavirus load and biomarkers in cervical intraepithelial neoplasia and cancer. *APMIS.* 2014 May;122(5):427-36. doi: 10.1111/apm.12163. Epub 2013 Sep 11. PMID: 24020724.
- 68 Briolat, J. *et al.* HPV prevalence, viral load and physical state of HPV-16 in cervical smears of patients with different grades of CIN. *Int J Cancer* **121**, 2198-2204, doi:10.1002/ijc.22959 (2007).
- 69 Sundström, K. *et al.* PROSPECTIVE STUDY OF HPV16 VIRAL LOAD AND RISK OF IN SITU AND INVASIVE SQUAMOUS CERVICAL CANCER. *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention : a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology* **22**, 150-158 (2013).
- 70 Deng, T., Feng, Y., Zheng, J., Huang, Q. & Liu, J. Low initial human papillomavirus viral load may indicate worse prognosis in patients with cervical carcinoma treated with surgery. *Journal of Gynecologic Oncology* **26**, 111-117 (2015).
- 71 Argyri, E. *et al.* A cross sectional study of HPV type prevalence according to age and cytology. *BMC Infectious Diseases* **13**, 53 (2013).
- 72 Duvlis S, Popovska-Jankovic K, Arsova ZS, Memeti S, Popeska Z, Plaseska-Karanfilska D. HPV E6/E7 mRNA versus HPV DNA biomarker in cervical cancer screening of a group of Macedonian women. *J Med Virol.* 2015 Sep;87(9):1578-86. doi: 10.1002/jmv.24199. Epub 2015 Apr 16. PMID: 25880030.
- 73 Lie, A. K. & Kristensen, G. Human papillomavirus E6/E7 mRNA testing as a predictive marker for cervical carcinoma. *Expert Review of Molecular Diagnostics* **8**, 405-415 (2008).

- 74 Liu TY, Xie R, Luo L, Reilly KH, He C, Lin YZ, Chen G, Zheng XW, Zhang LL, Wang HB. Diagnostic validity of human papillomavirus E6/E7 mRNA test in cervical cytological samples. *J Virol Methods*. 2014 Feb; 196:120-5. doi: 10.1016/j.jviromet.2013.10.032. Epub 2013 Nov 9. PMID: 24216236.
- 75 Wei, W. F. *et al.* [Study of integrated state of HPV-16 infection in cervical cancer and precancerous tissues]. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao* **35**, 47-50 (2015).
- 76 Kahla, S., Kochbati, L., Maalej, M. & Oueslati, R. Situation of HPV16 E2 gene status during radiotherapy treatment of cervical carcinoma. *Asian Pac J Cancer Prev* **15**, 2869-2873 (2014).
- 77 Hu, Z. *et al.* Genome-wide profiling of HPV integration in cervical cancer identifies clustered genomic hot spots and a potential microhomology-mediated integration mechanism. *Nat Genet* **47**, 158-163, doi:10.1038/ng.3178 (2015).
- 78 Hsu, Y.-W. *et al.* Genotype-specific methylation of HPV in cervical intraepithelial neoplasia. *Journal of Gynecologic Oncology* **28**, e56 (2017).
- 79 Lai, H.-C. *et al.* PAX1/SOX1 DNA methylation and cervical neoplasia detection: a Taiwanese Gynecologic Oncology Group (TGOG) study. *Cancer Medicine* **3**, 1062-1074 (2014).
- 80 Badaracco, G., Venuti, A., Sedati, A. & Marcante, M. L. HPV16 and HPV18 in genital tumors: Significantly different levels of viral integration and correlation to tumor invasiveness. *J Med Virol* **67**, 574-582, doi:10.1002/jmv.10141 (2002).
- 81 Hopman, A. H. *et al.* Transition of high-grade cervical intraepithelial neoplasia to micro-invasive carcinoma is characterized by integration of HPV 16/18 and numerical chromosome abnormalities. *J Pathol* **202**, 23-33, doi:10.1002/path.1490 (2004).
- 82 Kiseleva, V. I. *et al.* [The significance of physical status of human papillomavirus type 16 for predicting the effectiveness of invasive cervical cancer treatment]. *Vopr Onkol* **59**, 756-760 (2013).
- 83 Li, Y. *et al.* [Viral load, genomic integration frequency of human papillomavirus 16 in cervical cancer and precancerous lesions]. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi* **91**, 906-910 (2011).
- 84 Arias-Pulido, H., Peyton, C. L., Joste, N. E., Vargas, H. & Wheeler, C. M. Human papillomavirus type 16 integration in cervical carcinoma in situ and in invasive cervical cancer. *J Clin Microbiol* **44**, 1755-1762, doi:10.1128/jcm.44.5.1755-1762.2006 (2006).
- 85 Ojesina, A. I. *et al.* Landscape of genomic alterations in cervical carcinomas. *Nature*, doi:10.1038/nature12881 (2013).
- 86 Parfenov, M. *et al.* Characterization of HPV and host genome interactions in primary head and neck cancers. *Proc Natl Acad Sci U S A* **111**, 15544-15549, doi:10.1073/pnas.1416074111 (2014).
- 87 Houry, J. D. *et al.* Landscape of DNA virus associations across human malignant cancers: analysis of 3,775 cases using RNA-Seq. *J Virol* **87**, 8916-8926, doi:10.1128/jvi.00340-13 (2013).
- 88 Rusan, M., Li, Y. Y. & Hammerman, P. S. Genomic landscape of human papillomavirus-associated cancers. *Clin Cancer Res* **21**, 2009-2019, doi:10.1158/1078-0432.ccr-14-1101 (2015).

- 89 Suehiro, T. T. *et al.* Association of human papillomavirus and bacterial vaginosis with increased risk of high-grade squamous intraepithelial cervical lesions. *Int J Gynecol Cancer*, doi:10.1136/ijgc-2018-000076 (2019).
- 90 Appleby, P. *et al.* Carcinoma of the cervix and tobacco smoking: collaborative reanalysis of individual data on 13,541 women with carcinoma of the cervix and 23,017 women without carcinoma of the cervix from 23 epidemiological studies. *Int J Cancer* **118**, 1481-1495, doi:10.1002/ijc.21493 (2006).
- 91 Vesco, K. K. *et al.* Risk Factors and Other Epidemiologic Considerations for Cervical Cancer Screening: A Narrative Review for the U.S. Preventive Services Task Force. *Annals of Internal Medicine* **155**, 698-705 (2011).
- 92 Luhn, P. *et al.* The role of co-factors in the progression from human papillomavirus infection to cervical cancer. *Gynecol Oncol* **128**, 265-270, doi:10.1016/j.ygyno.2012.11.003 (2013).
- 93 Castellsagué X, Bosch FX, Muñoz N. Environmental co-factors in HPV carcinogenesis. *Virus Res.* 2002 Nov;89, 191 - 199 (2):191-9. doi: 10.1016/s0168-1702(02)00188-0. PMID: 12445659.
- 94 Ramachandran, B. Functional association of oestrogen receptors with HPV infection in cervical carcinogenesis. *Endocrine-Related Cancer* **24**, R99-R108 (2017).
- 95 Zhu, Y.-P. *et al.* Relationship between circumcision and human papillomavirus infection: a systematic review and meta-analysis. *Asian Journal of Andrology* **19**, 125-131 (2017).
- 96 Muñoz N, Franceschi S, Bosetti C, Moreno V, Herrero R, Smith JS, Shah KV, Meijer CJ, Bosch FX; International Agency for Research on Cancer. Multicentric Cervical Cancer Study Group. Role of parity and human papillomavirus in cervical cancer: the IARC multicentric case-control study. *Lancet.* 2002 Mar 30;359(9312):1093-1101. doi: 10.1016/S0140-6736(02)08151-5. PMID: 11943256.
- 97 Chelimo C, Wouldes TA, Cameron LD, Elwood JM. Risk factors for and prevention of human papillomaviruses (HPV), genital warts and cervical cancer. *J Infect.* 2013 Mar;66(3):207-217. doi: 10.1016/j.jinf.2012.10.024. Epub 2012 Oct 26. PMID: 23103285.
- 98 Castaneda-Iniguez, M. S., Toledo-Cisneros, R. & Aguilera-Delgadillo, M. [Risk factors for cervico-uterine cancer in women in Zacatecas]. *Salud Pública Mex* **40**, 330-338 (1998).
- 99 McCloskey JC, Kast WM, Flexman JP, McCallum D, French MA, Phillips M. Syndemic synergy of HPV and other sexually transmitted pathogens in the development of high-grade anal squamous intraepithelial lesions. *Papillomavirus Res.* 2017 Dec;4: 90-98. doi: 10.1016/j.pvr.2017.10.004. Epub 2017 Nov 7. PMID: 29179876; PMCID: PMC5883243.
- 100 Cho, C.-Y. *et al.* Risk of cancer in patients with genital warts: A nationwide, population-based cohort study in Taiwan. *PLOS ONE* **12**, e0183183 (2017).
- 101 Lopes, R. d. V. C. *et al.* Dietary intake of selected nutrients and persistence of HPV infection in men. *PLOS ONE* **141**, 757-765 (2017). Aug 14;12(8):e0183183. doi: 10.1371/journal.pone.018318

- 102 Lei, X. *et al.* [Association between life style, diet intake and high risk-human papillomavirus persistent infection among rural women in Xinmi City, Henan Province]. *Wei Sheng Yan Jiu* **45**, 45-50 (2016).
- 103 Blumenthal, M. J., Ujma, S., Katz, A. A. & Schäfer, G. The Role of Type 2 Diabetes for the Development of Pathogen-Associated Cancers in the Face of the HIV/AIDS Epidemic. *Frontiers in Microbiology* **8**, doi:10.3389/fmicb.2017.02368 (2017).
- 104 Lee, M. *et al.* Socioeconomic disparity in cervical cancer screening among Korean women: 1998-2010. *BMC Public Health* **13**, 553, doi:10.1186/1471-2458-13-553 (2013).
- 105 Ricci A, P., Perucca P, E., Koljanin V, J. & Baeriswyl T, E. CITOLOGÍA DE BASE LÍQUIDA: REVISIÓN DE LA HISTORIA Y LOS ESTUDIOS AL RESPECTO. *Revista chilena de obstetricia y ginecología* **69**, 256-262 (2004).
- 106 Mills, A., Balasubramaniam, R., Longacre, T. A., Kong, C. S. & Pinsky, B. A. Laboratory-developed L1 sequencing and type-specific, real-time polymerase chain reaction for the detection and typing of human papillomaviruses in formalin-fixed, paraffin-embedded tissues. *Arch Pathol Lab Med* **137**, 50-54, doi:10.5858/arpa.2011-0392-OA (2013).
- 107 Schmidt D, Bergeron C, Denton KJ, Ridder R; European CINtec Cytology Study Group. p16/ki-67 dual-stain cytology in the triage of ASCUS and LSIL papanicolaou cytology: results from the European equivocal or mildly abnormal Papanicolaou cytology study. *Cancer Cytopathol.* 2011 Jun 25;119(3):158-166. doi: 10.1002/cncy.20140. Epub 2011 Mar 25. PMID: 21442767.
- 108 Petry KU, Schmidt D, Scherbring S, Luyten A, Reinecke-Lüthge A, Bergeron C, Kommos F, Löning T, Ordi J, Regauer S, Ridder R. Triaging Pap cytology negative, HPV positive cervical cancer screening results with p16/Ki-67 Dual-stained cytology. *Gynecol Oncol.* 2011 Jun 1;121(3):505-9. doi: 10.1016/j.ygyno.2011.02.033. Epub 2011 Mar 21. PMID: 21420158.
- 109 Vargas-Hernández, Víctor Manuel; Vargas-Aguilar, Víctor Manuel; Tovar-Rodríguez, José María Detección primaria del cáncer cervicouterino. *Cirugía y Cirujanos*, vol. 83, núm. 5, septiembre-octubre, 2015, pp. 448-453 Academia Mexicana de Cirugía, A.C. Distrito Federal, México
- 110 Ikenberg, H. Laboratory diagnosis of human papillomavirus infection. *Curr Probl Dermatol* **45**, 166-174, doi:10.1159/000356515 (2014).
- 111 Castle PE, Schiffman M, Gravitt PE, Kendall H, Fishman S, Dong H, Hildesheim A, Herrero R, Bratti MC, Sherman ME, Lorincz A, Schussler JE, Burk RD. Comparisons of HPV DNA detection by MY09/11 PCR methods. *J Med Virol.* 2002 Nov;68(3):417-23. doi: 10.1002/jmv.10220. PMID: 12226831.
- 112 Lillsunde Larsson, G. & Helenius, G. Digital droplet PCR (ddPCR) for the detection and quantification of HPV 16, 18, 33 and 45 - a short report. *Cellular Oncology (Dordrecht)* **40**, 521-527 (2017).
- 113 Brooks, G. F., Jawetz, E., Melnick, J. L., & Adelberg, E. A. (2013). *Jawetz, Melnick & Adelberg's medical microbiology* (26th edition.). New York : London: McGraw-Hill Medical ; McGraw-Hill 316,753
- 114 Edwards, T., Burke, P., Smalley, H. & Hobbs, G. *Trichomonas vaginalis*: Clinical relevance, pathogenicity and diagnosis. *Crit Rev Microbiol* **42**, 406-417, doi:10.3109/1040841X.2014.958050 (2016).

- 115 Van Gerwen, O. T. & Muzny, C. A. Recent advances in the epidemiology, diagnosis, and management of *Trichomonas vaginalis* infection. *F1000Res* **8**, doi:10.12688/f1000research.19972.1 (2019). Sep 20;8:F1000 Faculty Rev-1666. doi: 10.12688/f1000research.19972.1.
- 116 Retamal, J., Sanchez, R. & Breb, P. [Non symptomatic sexually transmitted infections: urine sample allows an adequate detection]. *Rev Chilena Infectol* **32**, 283-288, doi:10.4067/S0716-10182015000400005 (2015).
- 117 Saitoh, T. *et al.* Podophyllotoxin directly binds a hinge domain in E2 of HPV and inhibits an E2/E7 interaction in vitro. *Bioorg Med Chem* **16**, 5815-5825, doi:10.1016/j.bmc.2008.03.053 (2008).
- 118 Stern, P. L. *et al.* Therapy of Human Papillomavirus-Related Disease. *Comprehensive Control of HPV Infections and Related Diseases* 30, Vaccine Volume 30, Supplement 5, 20 November 2012, Pages F71-F82 (2012).
- 119 Mastromarino, P., Vitali, B. & Mosca, L. Bacterial vaginosis: a review on clinical trials with probiotics. *New Microbiol* **36**, 229-238 (2013).
- 120 Mardh, P. A. The vaginal ecosystem. *Am J Obstet Gynecol* **165**, 1163-1168, doi:10.1016/s0002-9378(12)90721-8 (1991).
- 121 Shipitsyna, E. *et al.* Composition of the vaginal microbiota in women of reproductive age--sensitive and specific molecular diagnosis of bacterial vaginosis is possible? *Plos One* **8**, e60670, doi:10.1371/journal.pone.0060670 (2013).
- 122 Lu, H. *et al.* Characteristics of bacterial vaginosis infection in cervical lesions with high risk human papillomavirus infection. *Int J Clin Exp Med* **8**, 21080-21088 (2015).
- 123 Liang, Y., Chen, M., Qin, L., Wan, B. & Wang, H. A meta-analysis of the relationship between vaginal microecology, human papillomavirus infection and cervical intraepithelial neoplasia. *Infect Agent Cancer* **14**, 29, doi:10.1186/s13027-019-0243-8 (2019).
- 124 de Villiers, E. M. *et al.* A specific class of infectious agents isolated from bovine serum and dairy products and peritumoral colon cancer tissue. *Emerg Microbes Infect* **8**, 1205-1218, doi:10.1080/22221751.2019.1651620 (2019).
- 125 Mortaki, D. *et al.* Prevalence of Cervico-vaginal High-risk HPV Types and Other Sexually Transmitted Pathogens in Anogenital Warts Patients. *Anticancer Res* **40**, 2219-2223, doi:10.21873/anticancer.14183 (2020).
- 126 Beeton, M. L. & Spiller, O. B. Antibiotic resistance among *Ureaplasma* spp. isolates: cause for concern? *J Antimicrob Chemother* **72**, 330-337, doi:10.1093/jac/dkw425 (2017).
- 127 Kokkayil, P. & Dhawan, B. *Ureaplasma*: current perspectives. *Indian J Med Microbiol* **33**, 205-214, doi:10.4103/0255-0857.154850 (2015).

CAPÍTULO 13. RESUMEN AUTOBIOGRÁFICO

DIEGO VIDAL TORRES

Candidato para el Grado de
Especialista en Ginecología y Obstetricia

Tesis: “ASOCIACIÓN DEL DESARROLLO DE LESIONES INTRAEPITELIALES CERVICALES CON LA PRESENCIA DE COINFECCIONES DEL VPH Y OTROS PATÓGENOS ASOCIADOS A INFECCIONES VAGINALES”.

Campo de estudio: Ginecología – Infecciones ginecológicas.

Datos personales: Nacido en Monterrey, Nuevo León, México, el 29 de diciembre de 1992, hijo de Norma Leticia Torres de Vidal y Óscar Vidal Gutiérrez.

Educación: Egresado de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Nuevo León (UANL), con el título de Médico Cirujano y Partero en el período 2010-2016.

Servicio Social en el Servicio de Ginecología del Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González”, UANL agosto 2016 – julio 2017.

Actualmente, Médico Residente del 4to año del Programa de Especialización en Ginecología y Obstetricia en el Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González”, UANL.