

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NAYARIT  
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICO  
AGROPECUARIAS**



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NAYARIT



SISTEMA DE BIBLIOTECAS

**PREVALENCIA DEL VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO EN  
MUJERES CON CÁNCER CÉRVICO-UTERINO DEL ESTADO  
DE NAYARIT**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE DOCTORA EN CIENCIAS  
PRESENTA

**M. en C. Laura Ortega Cervantes**

**DIRECTORA: Dra. Irma Martha Medina Díaz**  
**CO-DIRECTOR: Dr. Nicolás Villegas Sepúlveda**



Tepic, Nayarit a 17 de Junio de 2013.

DR. JUAN DIEGO GARCÍA PAREDES  
CORDINADOR DEL POSGRADO CBAP

PRESENTE

Por este conducto nos permitimos comunicarle que la tesis de la estudiante de doctorado Laura Ortega Cervantes titulada "Prevalencia del virus del Papiloma Humano en mujeres con cáncer cérvico-uterino del Estado de Nayarit", ha sido revisada y aprobada en contenido y formato. Por lo que consideramos que la estudiante puede continuar con los trámites para solicitar fecha de examen de grado.

Sin más por el momento reciba un cordial saludo.

Atentamente

Dra. Irma Martha Medina Díaz  
Dr. Nicolás Villegas Sepúlveda  
Dra. María de Lourdes Robledo Marengo  
Dra. Aurora Elizabeth Rojas García  
Dra. Briscia Socorro Barrón Vivanco  
Dr. Manuel Iván Girón Pérez

Cep. Archivo/IMMD



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NAYARIT  
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICO AGROPECUARIAS

CBAP/162/2013.

Xalisco, Nayarit; 20 de junio de 2013.

**ING. ALFREDO GONZÁLEZ JÁUREGUI**  
**DIRECTOR DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR**  
**P R E S E N T E.**

Con base al oficio de fecha 17 de junio del presente, enviado por la Directora de Tesis **Dra. Irma Martha Medina Díaz**, donde se indica que el trabajo de investigación cumple con lo establecido en forma y contenido, y debido a que ha cumplido con los demás requisitos que solicita el Posgrado en Ciencias Biológico Agropecuarias; dependiente de la Universidad Autónoma de Nayarit, se autoriza a la **M.C. Laura Ortega Cervantes**, continúe con los trámites necesarios para la presentación de grado de Doctorado en el Área de Ciencias Ambientales.

Sin más por el momento, reciba un cordial saludo.

ATENTAMENTE  
"POR LO NUESTRO A LO UNIVERSAL"

DR. DIEGO GARCÍA PAREDES  
COORDINADOR DEL POSGRADO



C.c.p.- Minutario

ámett

Este trabajo se realizó en el Laboratorio de Contaminación y Toxicología de la Universidad Autónoma de Nayarit, bajo la tutoría de la Dra. Irma Martha Medina Díaz y la co-tutoría del Dr. Nicolás Villegas Sepúlveda del Departamento de Biomedicina Molecular del CINVESTAV, con financiamiento del proyecto Fortalecimiento y Consolidación del Doctorado en Ciencias Biológico Agropecuarias con énfasis en Ciencias Ambientales clave: NAYARIT 2008-C01-93389, apoyado con el Fondo Mixto CONACyT-Gobierno del Estado de Nayarit.

## AGRADECIMIENTOS

Al posgrado de Ciencias Biológico Agropecuarias por aceptar el proyecto con el cual obtengo el grado.

A la Dra. Irma Martha Medina D. por todo su apoyo, paciencia y su atención brindada.

Al cuerpo académico de Contaminación y Toxicología Ambiental por todo su apoyo y amistad.

A la M. en C. Yael Yvette Bernal, la Dra. Delia Dominguez, la M. en C. Bryana Ramirez al Dr. Carlos Humberto Rodríguez por su gran amistad y los momentos inolvidables que pasamos en nuestra área de trabajo.

A mis compañeros de laboratorio por brindarme su amistad sincera.

Al Médico Ginecoobstetra Armando Jáuregui Martínez por brindarme su apoyo y disponibilidad para la toma de muestras y sobre todo por su amistad.

Al equipo de la clínica de Colposcopia del Hospital Civil conformado por Mary y Belem que son un gran equipo humanitario.

A FOMIX-CONACYT por la beca otorgada y el apoyo para llevar a cabo este proyecto.

## DEDICATORIAS

**A MIS PADRES SUSANA CERVANTES E. Y CÁNDIDO ORTEGA G.** Por darme la vida e inculcarme los valores familiares para tomar el camino correcto en mi vida.

**A MIS HIJOS GERMAN ALEJANDRO, DEIRA CORAL Y JACK DANIEL** que me dieron la fortaleza para seguir adelante y luchar contra todo obstáculo en mi carrera.

**A MI PAREJA LUIS DANIEL RODRIGUEZ Q.** Quien me brindó su amor y apoyo incondicional.

**A MIS CUÑADAS LIZBETH Y FRANCIA RODRIGUEZ Q.** Que me dieron su afecto y apoyo en todo momento.

**A MIS AMIGOS Y FAMILIARES** Por formar parte de mi vida y de mis alegrías.

## RESUMEN

El cáncer cérvico-uterino (CaCu) representa una grave amenaza para la salud de la mujer a nivel mundial. El CaCu es el segundo tipo de cáncer más común en mujeres de todo el mundo y el más común en mujeres mexicanas. Su incidencia e índice de mortalidad ha ido en aumento en las últimas dos décadas. En el año 2008, el estado de Nayarit ocupó uno de los primeros lugares a nivel nacional. El desarrollo de CaCu parece involucrar numerosos factores ambientales y genéticos. Se ha comprobado que el virus del papiloma humano (VPH) es un factor ambiental de riesgo que contribuye al desarrollo de CaCu. El objetivo del estudio fue determinar la prevalencia de genotipos de VPH y factores de riesgo que contribuyen con el desarrollo de CaCu en mujeres residentes del estado de Nayarit. Se llevó a cabo un estudio de prevalencia en mujeres con CaCu residentes del estado de Nayarit. A las pacientes que aceptaron participar en el estudio se les tomó una biopsia de cérvix en la cual se realizó la genotipificación del VPH y mediante un cuestionario estructurado se evaluaron los posibles factores de riesgo al desarrollo de CaCu. El 54.3% de las pacientes tuvo un diagnóstico histopatológico de CaCu y el 45.6% tuvo un diagnóstico histopatológico de displasia grave (NIC III). El municipio que presentó una mayor prevalencia de CaCu fue Tuxpan seguido de Acaponeta, Ruiz y el Nayar. Los genotipos de alto riesgo más prevalentes de VPH en las pacientes con CaCu fueron: el VPH16, VPH18, VPH58 y VPH31. Por otro lado, el 21% las pacientes presentó obesidad y el 42% sobrepeso, así también, se observó una correlación positiva entre el sobrepeso y ser portador de HPV16 ó 18. Estos resultados sugieren que el VPH es el principal responsable del desarrollo de CaCu en

mujeres residentes del estado de Nayarit, ya que la presencia del mismo se detectó en el 91.3 % de las muestras. Resulta importante destacar que a pesar de las limitaciones que tuvo el presente estudio, este es el primero en el estado en el que se evalúa la prevalencia de CaCu y los genotipos de VPH y que sin duda coadyuvará en la implementación de estrategias de diagnóstico temprano y prevención del CaCu por parte de las autoridades.



## ABSTRACT

Cervical cancer (CC) is a serious threat to the health of women worldwide. CC is the second most common cancer in women worldwide and the most common in Mexican women. These incidence and mortality have been increasing in the last two decades. In 2008, the state of Nayarit had one of the highest mortality rates of these types of cancers in Mexico. In the development CC numerous environmental and genetic factors are involved. The human papillomavirus (HPV) is an environmental risks factor that contributes to the development of CC. The purpose of this study was to determinate the prevalence of HPV genotypes and risk factors that contribute to the development of cervical cancer in women living in the state of Nayarit. The prevalence study was conducted in women of the state Nayarit diagnosed with CC. The patients who agreed to participate in the study were taken cervical biopsy. The HPV genotypes were determinate by PCR and the factors risk to cancer was evaluated by questionnaire. The 54.3% of patients had histopathological diagnosis of CC and 45.6% had a histopathological diagnosis of severe dysplasia (CIN III). The municipality of Tuxpan had a higher prevalence of CC followed Acaponeta, Ruiz and Nayar. The high-risk HPV (HPV 16, 18, 31 and 58) genotypes were the most prevalent in cervical cancer patients. On the other hand, 21% of patients had obese and 42% overweight, so too, a positive correlation was observed between overweight and HPV16 or 18. These results suggest that HPV is responsible for the development of cervical cancer in women living in the state of Nayarit, the presence of this was detected in 91.3% of samples. It is important to note that despite the limitations of the present study it is

first in the state in which we examined the prevalence of cervical cancer and HPV genotypes. These results may be to assist in the implementation of strategies for early diagnosis and cervical cancer prevention by the authorities.

## ÍNDICE

<b>Resumen</b> .....	IV
<b>Abstract</b> .....	VI
<b>Índice de tablas</b> .....	XI
<b>Índice de figuras</b> .....	XI
<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	1
1.1 Factores de riesgo asociados al desarrollo de cáncer.....	3
1.2 Virus del Papiloma Humano (VPH).....	4
1.3 Estructura del VPH.....	5
1.4 Patogénesis del VPH.....	6
<b>2. JUSTIFICACIÓN</b> .....	10
<b>3. HIPÓTESIS</b> .....	10
<b>4. OBJETIVO GENERAL</b> .....	11
4.1 OBJETIVOS PARTICULARES.....	11
<b>5. MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	12
5.1 Población de estudio.....	12
5.2 Recolección y toma de muestras.....	13
5.3 Genotipificación del virus del papiloma humano (VPH).....	13
5.4 Extracción de ADN.....	15
5.5 Amplificación.....	16
5.6 Detección del genotipo.....	17
<b>6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO</b> .....	18
<b>7. RESULTADOS</b> .....	19
7.1 Características socio-demográficas y gineco-obstétricas de pacientes con CaCu.....	19
7.2 Genotipificación del VPH.....	24
<b>8. DISCUSIÓN</b> .....	30
<b>9. LIMITACIONES DEL ESTUDIO</b> .....	36
<b>10. CONCLUSIONES</b> .....	36
<b>11. PERSPECTIVAS</b> .....	37

<b>12. BIBLIOGRAFÍA</b> .....	<b>38</b>
<b>ANEXOS</b> .....	<b>45</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Función de los genes del Virus del Papiloma Humano (VPH).....	6
Tabla 2. Condiciones para amplificación del VPH y $\beta$ -globina.....	16
Tabla 3. Características sociales y ginecológicas de las pacientes.....	21
Tabla 4. Características sociales y demográficas de las pacientes con CaCu de acuerdo al genotipo del VPH 16 o 18.....	29
Tabla 5. Estudios de genotipificación del VPH realizados en la República Mexicana.....	34

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Factores relacionados con las etapas de desarrollo del cáncer.....	2
Figura 2. Mortalidad por cáncer cérvico-uterino en mujeres de 25 años o más por entidad federativa.....	3
Figura 3. Ciclo viral del Virus del Papiloma Humano (VPH).....	8
Figura 4. Mecanismos de la carcinogénesis del Virus del Papiloma Humano (VPH).....	9
Figura 5. Reacción de hibridación del VPH con la sonda complementaria en la membrana de Nylon.....	14
Figura 6. Prevalencia de casos de cáncer cérvico-uterino por municipio por 10,000 habitantes.....	20
Figura 7. Frecuencia de casos de CaCu en Nayarit por grupo de edad.....	23
Figura 8. Prevalencia de casos de acuerdo al índice de marginación poblacional.....	24
Figura 9. Prevalencia de los tipos virales de VPH en muestras de pacientes con cáncer cérvico-uterino de Nayarit.....	25
Figura 10. Distribución de casos por municipio de Nayarit, de acuerdo a los tipos de VPH.....	26
Figura 11. Distribución de VPH de alto riesgo en muestras de CaCu por municipio de Nayarit.....	27

## 1. INTRODUCCIÓN

El cáncer es una de las principales causas de muerte en el mundo y es producida por mutaciones, multiplicación rápida de células anormales y crecimiento tisular aberrante que pueden invadir partes adyacentes de un órgano a otros órganos o propagarse en todo cuerpo, proceso conocido como metástasis (OMS, 2013).

La aparición de cáncer es un proceso prolongado que generalmente empieza con cambios genéticos en las células y continúa con el crecimiento de éstas en el transcurso del tiempo. El desarrollo de éste ocurre en tres etapas: iniciación, promoción y progresión (Figura 1) (Zambrano-Zaragoza et al., 2012).

El desarrollo de este tipo de enfermedades es por una parte, el resultado de la interacción entre los factores genéticos y por otra, las condiciones ambientales (contaminación del aire, infecciones por virus como el de la hepatitis B y C, Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH) y el Virus del Papiloma Humano (VPH)) y exposición a ciertos xenobióticos (OMS, 2013). Dentro de los principales tipos de cáncer se encuentran el de pulmón, gástrico, hepático, colorrectal, mamario y cérvico-uterino (CaCu). A nivel mundial, de acuerdo a la Agencia Internacional para la Investigación en Cáncer (IARC), el CaCu representa el tercer tumor maligno más frecuente entre las mujeres, en el 2008 se estimaron 529,409 casos nuevos en el 2008, de los cuales 85.5% se registró en los países en vías de desarrollo y 274,883 defunciones, de las que 35,880 ocurrieron en el continente americano (<http://www.dged.salud.gob.mx/contenidos/dedss/racs.html>)

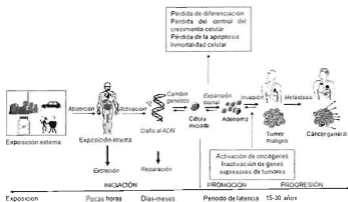
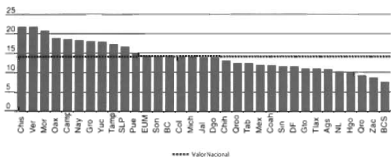


Figura 1. Factores relacionados con las etapas de desarrollo del cáncer: Iniciación, Promoción y Progresión. Fuente: Pfohl-Leszkwicz, 2008.

En México, la mortalidad por CaCu registra una tendencia descendente al pasar de 24.8 defunciones por 100 mil mujeres de 25 años o más en 1990 a 14.1 defunciones por 100 mil mujeres en el 2009 (IARC, 2008). Este tipo de cáncer afecta primordialmente a mujeres que residen en las entidades federativas menos desarrolladas del país. En el 2009, de las 4,151 muertes que causó esta enfermedad en mujeres de 25 años de edad o más, el 32% ocurrió en los siete estados (Chiapas, Durango, Guerrero, Nayarit, Oaxaca, Puebla y Veracruz) donde se ubican los 125 municipios con menor índice de desarrollo. Por entidad federativa, las tasas más altas de mortalidad por CaCu en mujeres de 25 y más años se registraron en Chiapas, Veracruz y Morelos (Figura 2) (<http://www.dged.salud.gob.mx/contenidos/dedss/rcs.html>).





Tasa de mortalidad por 100 mil mujeres de 25 años o más  
 Fuente: SEGE 2009, estimación, DGIS-SENER/Encuestas de población 2009-2030 del CONAPO

Figura 2. Mortalidad por cáncer cérvico-uterino en mujeres de 25 años o más por entidad federativa; México, 2009.

### 1.1 Factores de riesgo asociados al desarrollo de cáncer

Entre los factores de riesgo para el desarrollo de CaCu se encuentra el bajo nivel socioeconómico, inicio temprano de la vida sexual, múltiples parejas sexuales, edad temprana del primer embarazo, tres o más partos, uso de anticonceptivos hormonales, tabaquismo, entre otros (Tirado-Gómez et al., 2005). La probabilidad de desarrollar CaCu también se incrementa con el número de parejas sexuales aunado al inicio de la vida sexual activa a temprana edad, ya que son un factor primario en la infección por VPH. Estudios epidemiológicos muestran que hormonas tanto de origen endógeno como exógeno hacen a la mujer más susceptible a desarrollar CaCu en combinación con la infección por VPH. El CaCu es más común en embarazos precoces y multiparidad, ya que durante el embarazo se experimentan cambios

hormonales. Así también, la inmunosupresión relacionada al embarazo representa un riesgo mayor de nuevas infecciones por VPH, debido a que en el embarazo el cuerpo es incapaz de eliminar las infecciones existentes y es más vulnerable a la progresión neoplásica (Faridi et al., 2011).

El semen humano, también se considera como la principal base biológica en el comportamiento sexual que aumenta la infección por el VPH y CaCu. La inflamación crónica del cérvix es debida a cambios locales celulares y moleculares que son desencadenados por múltiple exposición al semen. El semen humano interactúa con el revestimiento del cérvix y células epiteliales y afecta la síntesis de citocinas/quimiocinas las cuales están involucradas en la respuesta inmune. La prostaglandina más abundante en el semen es la prostaglandina PGE2 y juega un papel común como mediador inflamatorio y como un posible promotor de la carcinogénesis cervical. También se ha observado que el semen de fumadores concentran carcinógenos relacionados con el tabaco y juegan un papel en la carcinogénesis cervical (Faridi et al., 2011).

## **1.2 Virus del Papiloma Humano (VPH)**

A partir de la década de los 80's se ha identificado al VPH como un factor ambiental causal de desarrollo de CaCu, ya que la presencia del VPH en muestras de CaCu es del 99.7% en los casos (Burd, 2003).

La familia papillomaviridae consiste en virus de ADN, la cual incluye más de 200 tipos. Los VPHs pueden infectar células del epitelio basal de la piel o revestimiento interior de los tejidos y se categorizan de acuerdo al tipo de tejido que infectan. Los tipos cutáneos son epidermotrópicos y su órgano blanco son la piel de las manos y los pies. Los tipos de VPH que infectan las mucosas tienen como órgano blanco el epitelio bucal, garganta, tracto respiratorio y epitelio anogenital (Burd, 2003).

A su vez, los VPH también se han clasificado dentro de los tipos de alto y bajo riesgo de acuerdo a su asociación con el desarrollo de cáncer cervical y lesiones precursoras. Dentro de los tipos de VPH de alto riesgo se encuentran, 15 (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73, y 82); tres tipos se clasifican como probable alto riesgo (26, 53, y 66); y 12 tipos se clasifican como de bajo riesgo (6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 70, 72, 81, y CP6108) (Muñoz et al., 2003).

### **1.3 Estructura del VPH**

El virus del papiloma humano es un virus de doble cadena de ADN, con un genoma de 8 Kb. Los VPHs son pequeñas partículas icosaédricas no envueltas con un diámetro de 52 a 55 nm, a pesar de su pequeña talla, su biología molecular es muy compleja. Tres oncogenes E5, E6 y E7, modulan el proceso de transformación celular, dos proteínas reguladoras E1 y E2 modulan el proceso de transcripción y replicación y dos proteínas estructurales L1 y L2 componen la cápside viral. Los marcos de lectura abiertos (ORFs) E1, E2, L1 y L2 son particularmente conservados entre todos los miembros de la familia (Tabla1) (De Villiers et al., 2004).

Tabla 1. Función de los genes del Virus del Papiloma Humano (VPH)

E1	Iniciación de la replicación del ADN viral
E2	Regulación de la transcripción viral con un papel auxiliar en la replicación del ADN
E3	Función desconocida
E4	Disruptores de las citoqueratinas
E5	Transformación celular (sólo en animales)
E6	Proliferación y transformación celular, degradación de la proteína supresora de tumores p53
E7	Proliferación y transformación celular, activación de la transcripción, se une a la proteína retinoblastoma
E8	Desconocida
L1	Proteína de la cápside mayor
L2	Proteína de la cápside menor

Fuente: Howley y Lowy 2001.

#### 1.4 Patogénesis del VPH

El ciclo viral del VPH difiere de otras familias de virus, la infección requiere de la disponibilidad de las células epiteliales epidérmicas o de la mucosa que tienen la capacidad de proliferar (capa de células basales) (Zur, 2002). El primer paso para la infección por el VPH es el contacto de viriones intactos con las células inmaduras del epitelio escamoso (células basales); después de la introducción del virus en el

epitelio pueden ocurrir dos clases de infecciones: latentes o productivas. En la infección latente el ADN permanece en el núcleo en su forma circular libre; el virus se mantiene en la superficie sin replicarse y no ocurren cambios morfológicos identificables. Por el contrario en la infección productiva existe una intensa actividad de replicación de ADN viral con generación de viriones, misma que se lleva a cabo principalmente en las células escamosas diferenciadas, esto es, en las capas intermedia y superficial con producción de proteínas de cápside y síntesis de gran cantidad de ADN viral que inducen cambios celulares característicos en las células infectadas, entre estos efectos citopáticos se incluyen la acantosis, vacuolización citoplásmica prominente, atipia nuclear y binucleación (Alonso et al., 2005).

La replicación viral puede ser dividida en etapas temprana y tardía. La etapa temprana ocurre en las células basales, la primera etapa es la unión del VPH al receptor de los queratinocitos basales, posteriormente el virión es transportado al núcleo y el ADN del VPH es desenvuelto (Figura 3). En la etapa tardía empieza la expresión de genes, producción de proteínas de la cápside, replicación del ADN viral vegetativo, ensamble del virus y la liberación del mismo. En esta etapa se expresan los genes tardíos L1 y L2 (Estudio Internacional de Biología de Cáncer Cervical, 2003). Las proteínas del VPH E6 y E7 están involucradas en la carcinogénesis cervical por su potencial para inactivar los productos de los genes supresores de tumores (Hougardy et al., 2005). Tanto E6 como E7 modulan la apoptosis en células infectadas con VPH para evadir respuestas inmunológicas durante la etapa de progresión. Uno de los mecanismos descritos por los cuales E6 y E7 pueden modular

progresión. Uno de los mecanismos descritos por los cuales E6 y E7 pueden modular la apoptosis es vía alteración de la expresión de genes como el factor nuclear de transcripción-kB (NF-kB) cuya expresión y actividad es mayor como resultado de la expresión de E6 y E7. El incremento de NF-kB puede activar la transcripción de inhibidores de la apoptosis (IAP) y potencialmente participar en el desarrollo de cáncer en humanos (Yuan et al., 2005).

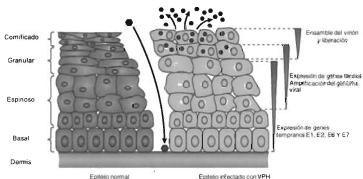


Figura 3. Ciclo viral del Virus del Papiloma Humano (VPH). Fuente: Moody et al., 2010.

En la Figura 4 se muestrade forma esquemática algunos de los principales componentes de la transición de la infección por VPH al desarrollo de CaCu. Mientras que las infecciones transitorias son en su mayor parte subclínicas, su progresión está estrechamente relacionada a la persistencia del ADN viral. Este proceso se acompaña frecuentemente con la disrupción viral en las regiones E1/E2 y

la integración dentro del ADN celular. La disrupción de E2 libera los promotores virales de E6 y E7 e incrementa la expresión de estos genes transformantes. Las proteínas virales E6 y E7 son capaces de degradar selectivamente p53 y los productos del gen de retinoblastoma (RB), respectivamente, lo que conduce a la inactivación de dichas proteínas reguladoras negativas (Bosch et al., 2002).

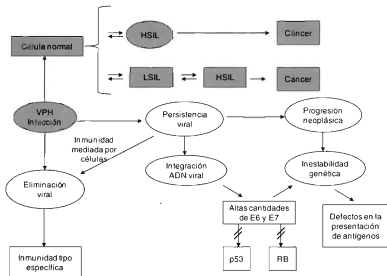


Figura 4. Mecanismos de la carcinogénesis del Virus del Papiloma Humano (VPH). HSIL, lesión intraepitelial escamosa de alto grado; LSIL, lesión intraepitelial escamosa de bajo grado; RB, gen del retinoblastoma. Fuente: Bosch et al., 2002.

## **2. JUSTIFICACIÓN**

El CaCu es una de las primeras causas de muerte en mujeres en México. En el año 2006, el estado de Nayarit ocupó uno de los primeros lugares a nivel nacional de este tipo de patología. El desarrollo del CaCu parece involucrar numerosos factores ambientales y genéticos. Se ha comprobado que el virus del papiloma humano (VPH) es un factor ambiental de riesgo que contribuye al desarrollo de CaCu.

En Nayarit, actualmente no hay ningún estudio sobre la epidemiología molecular del VPH en mujeres con CaCu, por lo que en el presente proyecto se determinaron los tipos virales presentes en la región, así como algunos factores de riesgo relacionados con el desarrollo de CaCu. Ya que es de vital importancia conocer cuál es la prevalencia y los tipos de VPH presentes en las mujeres del estado de Nayarit. Los resultados que se generen de la presente investigación, serán útiles para coadyuvar en la toma de medidas preventivas por parte de la Secretaría de Salud del estado de Nayarit.

## **3. HIPÓTESIS**

Los genotipos de VPH presentes en cada municipio del estado de Nayarit son diferentes.



#### **4. OBJETIVO GENERAL.**

Determinar la prevalencia de genotipos de VPH y factores de riesgo que contribuyen con el desarrollo de CaCu en mujeres residentes del estado de Nayarit.

##### **4.1 Objetivos Particulares**

1. Realizar la estructuración y validación de un cuestionario donde se evalúen diferentes factores asociados al desarrollo de cáncer para su aplicación en pacientes con CaCu.
2. Realizar una revisión de los expedientes clínicos de CaCu (2006-2010) del Centro Estatal de Cancerología de Nayarit.
3. Determinar la prevalencia de CaCu en las mujeres del estado de Nayarit.
4. Determinar los genotipos de VPH en biopsias obtenidas de tejido uterino de mujeres residentes del estado de Nayarit.
5. Determinar los posibles factores de riesgo que pueden contribuir con el desarrollo de CaCu en mujeres residentes del estado de Nayarit.

## **5. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **5.1 Población de estudio**

Se llevó a cabo un estudio de prevalencia en el cual participaron 57 mujeres residentes del estado de Nayarit con diagnóstico de cáncer cérvico-uterino que acudieron al Hospital Antonio González Guevara de Tepic, Nayarit. Este estudio fue aprobado por el Comité de Bioética del Hospital Civil Antonio González Guevara. A las pacientes que acudieron al Hospital con diagnóstico de CaCu se les invitó a participar en el estudio, se les explicó sobre los objetivos del mismo, así como los posibles riesgos del estudio. A las pacientes que aceptaron participar se les pidió firmar una carta de consentimiento y posteriormente, se les aplicó una encuesta (anexo1) para recopilar información sobre características sociodemográficas, antropométricas, grado de estudios, ocupación, nivel socioeconómico, estilo de vida, hábitos alimenticios, hábitos nocivos, antecedentes clínicos, antecedentes familiares, antecedentes gineco-obstétricos y exposición a ciertos compuestos.

Cabe mencionar que la encuesta aplicada a las pacientes fue previamente validada. La validación del cuestionario estructurado se realizó en dos etapas: en la primera etapa el cuestionario se aplicó a un grupo de 30 personas ajenas al estudio. A partir de los resultados obtenidos, se hicieron las modificaciones pertinentes y se realizó una segunda etapa de validación en otro grupo de 30 personas. Ya validado el cuestionario fue aplicado a las pacientes que aceptaron participar en el estudio.

## 5.2 Recolección y toma de muestras

Las muestras fueron colectadas durante el periodo de junio del 2011 a mayo del 2012. Las muestras fueron tomadas por el médico colposcopista del Hospital con un *Cervex Brush* del cuello uterino e inmediatamente fueron colocadas en medio de transporte *PreservCit* para su posterior análisis. Durante este periodo se lograron coleccionar un total de 57 muestras

## 5.3 Genotipificación del virus del papiloma humano (VPH)

### Principio

La prueba *Linear Array Genotyping Test (ROCHE)* es una prueba cualitativa para la detección del virus del papiloma humano en muestras de cérvix, detecta 37 genotipos de ADN del VPH y el gen de la  $\beta$ -globina de humano. Esta prueba se basa en la amplificación del ADN diana mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR); la cual utiliza oligonucleótidos biotinilados para definir una secuencia de nucleótidos en la región L1 polimórfica del genoma del VPH, con una longitud de aproximadamente 450 pares de bases, un par de primers adicional se dirige al gen de la  $\beta$ -globina con una longitud de 268 pares bases para controlar la adecuación de las células, la extracción y la amplificación.

Después de la amplificación mediante PCR, se desnaturaliza el amplicón del VPH y de la  $\beta$ -globina. El amplicón marcado con biotina, se pone a hibridar con alguna de las sondas de oligonucleótidos. Una vez que se lleva a cabo la reacción de hibridación se añade el conjugado de estreptavidina y peroxidasa de rábano picante.

hibridación se añade el conjugado de estreptavidina y peroxidasa de rábano picante. El conjugado se une al amplicón marcado con biotina e hibridado con las sondas oligonucleótidas y se añade a cada tira la solución sustrato que contiene peróxido de hidrógeno y 3,3',5,5'-tetrametilbencidina (TMB). En presencia de peróxido de hidrógeno, el conjugado de estreptavidina y peroxidasa de rábano picante catalizan la oxidación de la TMB para formar un complejo de color azul que se precipita en las posiciones de las sondas donde tiene lugar la hibridación(Figura 5). La tira de genotipificación del VPH se lee visualmente al comparar el patrón de las líneas azules con una guía de referencia.

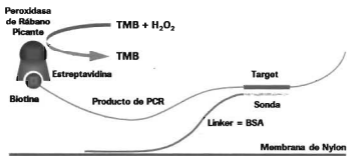


Figura 5. Reacción de hibridación del VPH con la sonda complementaria en la membrana de Nylon.

## 5.4 Extracción de ADN

### Procedimiento

Las muestras obtenidas con *Cervex Brush* y conservadas en solución de transporte PreservCyt se procesaron mediante el Kit de extracción de ADN "AmpliLute Liquid Media Extraction Kit". Se etiquetaron para cada una de las muestras en tubos Eppendorf y se les agregó 80  $\mu\text{L}$  de buffer de lisis de tejido (ATL) a cada tubo. Posteriormente se agitó en vortex cada una de las muestras (conservadas en PreservCyt) y se agregaron 250  $\mu\text{L}$  de la misma a los tubos que contenían ATL, así también se añadieron 20  $\mu\text{L}$  de Proteínasa K (PK) y se mezcló por inversión. Posteriormente se añadieron 250  $\mu\text{L}$  de buffer de lisis de trabajo a cada tubo, se agitó por pipeteo y se mezcló en vortex. Los tubos se incubaron a  $70^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  durante 15 minutos en un bloque de calor en seco con agitación (Thermomixer confort Eppendorf). Una vez terminada la incubación se añadieron 300  $\mu\text{L}$  de etanol absoluto, se agitaron mediante vortex por 15 seg y se incubaron a temperatura ambiente durante 5 minutos. La fase líquida se transfirió a una columna de membrana de sílica con tubo colector, se incubó un minuto a temperatura ambiente y se centrifugó a 12,000 rpm durante un minuto. Después de la centrifugación se agregaron 750  $\mu\text{L}$  de buffer de lavado (AW2) a cada columna, se incubó un minuto a temperatura ambiente y se centrifugó a 12,000 rpm durante un minuto. Se agregaron 750  $\mu\text{L}$  de etanol absoluto a cada columna, se dejó reposar a temperatura ambiente un minuto y se centrifugó a 12,000 rpm durante un minuto. Se reemplazó el tubo colector y se centrifugó nuevamente a 12,000 rpm durante tres minutos.

Se agregaron 120  $\mu\text{L}$  de buffer de elución (AVE) a cada columna, se incubaron a temperatura ambiente durante 5 minutos y se centrifugó a 12,000 rpm durante un minuto (anexo 2). Una vez obtenido el ADN, se cuantificó en un espectrofotómetro de placa (BioTek).

## 5.5 Amplificación

### Procedimiento

En un tubo previamente marcado, se añadieron 50  $\mu\text{L}$  de MMX de trabajo preparada (MMX+  $\text{Mg}^{2+}$ ) y 50  $\mu\text{L}$  de cada muestra de ADN. La amplificación se realizó en un termociclador (GeneAmp PCR System 9700) bajo las condiciones mostradas en la Tabla 2. Una vez finalizada la amplificación se colocó a cada tubo de reacción 100  $\mu\text{L}$  de solución DN.

Tabla 2. Condiciones para amplificación del VPH y  $\beta$ -globina

Temperatura $^{\circ}\text{C}$	Tiempo min	Ciclos
50	2	1
95	9	1
95	30 seg	40
55	1	40
72	1	40
72	5	1
72	$\infty$	

## 5.6 Detección del genotipo

### Procedimiento

Se rotuló cada tira de genotipificación y se colocaron en una placa especial de genotipificación de forma que las líneas de la sonda quedarán hacia arriba en los carriles de la placa. Se añadieron 4 mL de buffer de hibridación (previamente calentado a 53 °C) en cada carril e inmediatamente se agregó todo el producto de PCR desnaturalizado (100 µL), se tapó la placa y se incubó por 30 minutos a 53 °C ± 2 °C en un baño de agua con agitación (Hot Shaker) a 60 rpm. Una vez terminada la incubación se extrajo el buffer de hibridación de los carriles mediante aspiración por vacío. Se añadieron 4 mL de buffer de lavado, se agitó por balanceo cuatro veces y se aspiró el buffer por vacío. Se añadieron 4 mL de buffer de lavado astringente (buffer de lavado previamente calentado a 53 °C ± 2 °C) y posteriormente se introdujo la placa en un baño de agua con agitación constante a 60 rpm durante 15 minutos a 53 °C ± 2 °C. Después de la incubación se extrajo el buffer de lavado astringente por vacío, se añadieron 4 mL de conjugado de trabajo y se colocó la placa en el agitador orbital (Barnstead Lab Line SHKE2000 Maxq 2000) a 60 rpm durante 30 minutos a temperatura ambiente. Se aspiró el conjugado de trabajo por vacío, se añadieron 4 mL de buffer de lavado, se agitó por balanceo cuatro veces y se retiró el buffer de lavado por aspiración. Se añadieron 4 mL de buffer de lavado, se tapó y se colocó en el agitador orbital a temperatura ambiente durante 10 minutos a 60 rpm. Una vez terminada la incubación se extrajo el buffer del lavado por aspiración al vacío y se repitió el lavado. Posteriormente se añadieron 4 mL de citrato se tapó nuevamente la

placa y se colocó en el agitador orbital a temperatura ambiente durante 5 minutos a 60 rpm. El citrato fue retirado por aspiración al vacío, se añadieron 4 mL de sustrato de trabajo se tapó la placa y se colocó en el agitador orbital a temperatura ambiente durante 5 minutos a 60 rpm. Posteriormente se retiró el sustrato de trabajo por vacío, se añadieron 4 mL de agua destilada se extrajeron las tiras de los carriles con ayuda de unas pinzas, se colocaron sobre una superficie seca y se dejaron secar al aire durante una hora. Finalmente se compararon las bandas de la tira de genotipificación con la guía de referencia.

## **6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Sobre la base de la información obtenida, la prevalencia se calculó mediante la división del número de casos con CaCu entre el número de población femenina por 10 000 habitantes. Los datos obtenidos de las características sociales y gineco-obstétricas fueron analizados con la prueba Kolmogorov-Smirnov para determinar la normalidad de los datos; en los casos donde se encontró normalidad se realizó una prueba de ANOVA y Bonferroni y en caso contrario se llevó a cabo la prueba de U Mann-Whitney y Kruskal-Wallis. Así también se realizó una prueba de correlación de Pearson entre los portadores de VPH 16 ó 18 y las características sociales y gineco-obstétricas. Los datos fueron analizados con el software STATA versión 10.1 (Stata Corp LP, College Station, TX). Se consideraron diferencias significativas cuando el valor de p fue  $\leq 0.05$ .



## **7. RESULTADOS**

### **7.1 Características socio-demográficas y gineco-obstétricas de pacientes con CaCu**

El 54.4% de las pacientes tuvo un diagnóstico histopatológico de CaCu y el 45.6% tuvo un diagnóstico histopatológico de displasia grave (NIC III).

La mayoría de las pacientes son originarias del estado de Nayarit (82.4%) y el 17.6% de otros estados de la República Mexicana. En promedio las pacientes tenían 1.7 años viviendo en Nayarit.

En la Figura 6, se muestra la prevalencia de CaCu por municipio del estado de Nayarit. En el municipio de Tuxpan se presentó una mayor prevalencia, seguido de Acahoneta, Ruiz y el Nayar. Si bien, en algunos municipios no se observan casos, es porque no hubo muestras de pacientes de estos municipios.

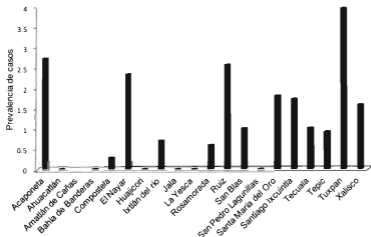


Figura 6. Prevalencia de casos de cáncer cérvico-uterino por municipio por 10,000 habitantes.

La tabla 3 se muestran algunas características socio-demográficas y gineco-obstétricas de las pacientes incluidas en este estudio. El rango de edad fue de 17 a 79 años con un promedio de 37 años. El peso promedio fue de  $26.5 \pm 4.3$ ; de acuerdo al los estándares del índice de masa corporal propuesto por la OMS (Organización Mundial de la Salud), el 52% de las pacientes presentó pre-obesidad y obesidad.

Dentro de los hábitos nocivos se observó que el 23% de las pacientes tenían el hábito de fumar y el 33% el hábito de ingerir bebidas embriagantes.

Tabla 3. Características sociales y ginecológicas de las pacientes.

Tabla 3. Características sociales y ginecológicas de las pacientes.

	No.	%
<b>Nivel de educación</b>		
Analfabeta	8	14
Primaria incompleta	3	5
Primaria completa	10	18
Secundaria	25	43
Preparatoria/bachillerato	6	11
Universidad/profesional	5	9
<b>Ocupación</b>		
Ama de casa	41	72
Estudiante	2	4
Empleada	11	19
Otro	3	5
<b>Estado civil</b>		
Soltera	9	16
Casada	19	33
Viuda	2	4
Divorciada	3	5
Unión libre	24	42
<b>Alcoholismo</b>		
Si	19	33
No	38	67
<b>Tabaquismo</b>		
Si	13	23
No	44	77
<b>Menarca</b>	12.9 ± 1.43	
<b>Edad de la primera relación sexual</b>	16.8 ± 2.5	
<b>Índice de masa corporal</b>	26.5 ± 4.3	
<b>Parejas sexuales</b>	2.5 ± 2.3	
<b>Embarazos</b>	4 ± 3	

<b>Abortos</b>		
Si	19	33
No	38	67
<b>Prueba de Papanicolaou</b>		
Si	48	79
No	12	21
<b>Anticonceptivos hormonales</b>		
Si	34	60
No	23	40

En cuanto a los hábitos alimenticios, el 66% de las pacientes consumían embutidos, 16% alimentos enlatados, 78% alimentos asados y 66% consumía grasas saturadas. De acuerdo a la historia familiar de cáncer, se observó que las pacientes tuvieron antecedentes familiares de cáncer particularmente de la parte materna (12%). En promedio la edad de la menarca fue de 12 años (rango: 9-15 años), el inicio de la sexualidad fue de 16 años (rango: 13-27 años), con un promedio de parejas sexuales de 2.5 (rango: 1 a 15 parejas) y el promedio de edad del primer embarazo fue a los 18 años (rango: 14-29). El 60% de las pacientes usaron anticonceptivos hormonales y solo el 33% usó condón en sus relaciones sexuales.

En cuanto a la realización de la prueba del Papanicolaou, el 79% de las pacientes se realizaron la prueba con una frecuencia de 1.5 años, sin embargo el 4.4% de las pacientes se realizaron la prueba solo una vez en 6 años.

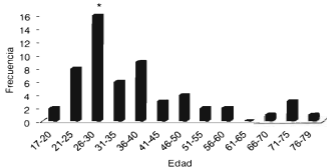


Figura 7. Frecuencia de casos de CaCu en Nayarit por grupo de edad.\* ( $p < 0.05$ ) U Mann Whitney.

De acuerdo al municipio de procedencia de las pacientes con CaCu, estos fueron agrupados por índice de marginación propuesto por la CONAPO(2010) para Nayarit. La clasificación abarca cinco categorías: índice de marginación muy alto (Huajicori, El Nayar y La Yesca), alto (ninguno), medio (Acaponeta, Tecuala, Rosamorada, Ruiz, Santiago, Santa María del Oro, Jala y Amatlán de Cañas), bajo (Tuxpan, San Blas, Compostela, Ahuacatlán y San Pedro Lagunillas) y muy bajo (Tepic, Xalisco, Ixtlándel Río y Bahía de Banderas). Sobre la base de esta clasificación los municipios que tuvieron una mayor prevalencia de CaCu fueron los municipios que se encuentran dentro del grupo de índice de marginación medio (Figura 8).

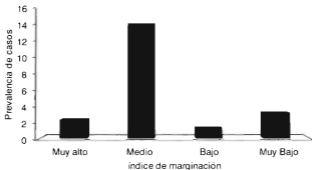


Figura8. Prevalencia de casos de acuerdo al índice de marginación poblacional. Ajustado por población femenina por 10000 habitantes.

## 7.2 Genotipificación del VPH.

Se detectó la presencia del VPH en el 91.3% de las muestras de las pacientes con CaCu, de las cuales el 82.4% fueron VPH de alto riesgo y el 8.77% de bajo riesgo. El 52.6% de las pacientes, presentó coinfecciones con dos o más tipos virales.

En cuanto a la prevalencia viral (número de casos VPH/población femenina por 100 000 habitantes) el tipo de virus que tuvo una mayor prevalencia fue el VPH16, seguido del VPH58, VPH18 y VPH31; todos considerados de alto riesgo. También, se detectaron genotipos de VPH de bajo riesgo como el VPH70 y VPH66 (Figura 9).

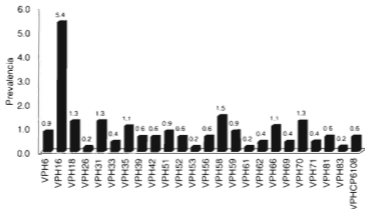


Figura9. Prevalencia de los tipos virales de VPH en muestras de pacientes con cáncer cérvico-uterino de Nayarit. Ajustado por 100, 000 habitantes.

En la Figura 10, se muestran los tipos de VPH de bajo y alto riesgo prevalentes en las pacientes de los diferentes municipios de Nayarit. En los municipios de Xalisco y Santa María del Oro en el 50% de las muestras se detectó VPH de alto riesgo, además, en los municipios de Ixtlán del río, Rosamorada y Tecualasolo se detectó la presencia de VPH de alto riesgo.

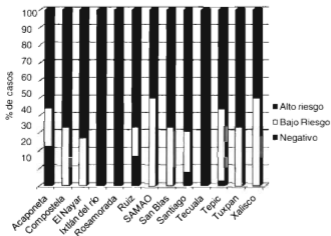


Figura 10. Distribución de casos por municipio de Nayarit, de acuerdo a los tipos de VPH.

En cuanto a los genotipos de VPH por región del estado de Nayarit, estos se muestran en la Figura 11. El municipio de Tepic, se obtuvo el mayor número de VPH de alto riesgo, específicamente se encontraron ochogenotipos (16, 18, 31, 35, 39, 56, 58 y 59 ). Así también, se encontraron cinco tipos de VPH de alto riesgo en el municipio de El Nayar (16, 18, 31, 39 y 58) y cuatro tipos en Santiago Ixcuintla (16, 31, 33 y 58 ). Por otra parte en la mayoría de los municipios se detectó la presencia del VPH 16, a excepción de los municipios de Rosamorada (VPH 18) e Ixtlán del río (VPH 35).





Figura 11. Distribución de VPH de alto riesgo en muestras de CaCupor municipio de Nayarit.

Los tipos de VPH comúnmente relacionados con el CaCu a nivel mundial, son los tipos 16 y 18. Sobre la base de esta información, se realizó un análisis en el presente estudio en el cual se hicieron dos grupos: el primer grupo debía portar el VPH 16

18; y el segundo ninguno de estos; lo anterior con la finalidad de establecer diferencias entre la presencia de VPH 16 ó 18 con respecto a las características sociales y gineco-obstétricas de las pacientes. En la Tabla 4 se muestra dicho análisis, en el cuál se encontraron diferencias significativas para el IMC ( $p=0.03$ ) y el número de embarazos ( $p=0.04$ ).

Por otro lado, se realizó un análisis donde se agruparon el número de casos por índice de marginación poblacional para ver la correlación de las características ginecológicas y obstétricas con el índice de marginación, en dicho análisis solo la edad de inicio de la sexualidad tuvo diferencia significativa ( $p=0.01$ ).

Tabla 4. Características sociales y demográficas de las pacientes con CaCu de acuerdo al genotipo del VPH 16 o 18

	VPH16 o 18 Negativo N (%)	VPH 16 o 18 positivo N (%)	U Mann-Whitney P
IMC ≥18 ≤38	28 (50)	28 (50)	p= 0.03
Embarazos ≥ 1 ≤18	25 (47.2)	28 (52.8)	p= 0.04
Partos naturales ≥ 1 ≤14	22 (45.8)	26 (49.1)	p= 0.11
Abortos	29 (50.8)	28 (49.1)	p= 0.3
Uso de condón	29 (50.8)	28 (49.1)	p= 0.19
Menstruación	28 (50)	28 (50)	p= 0.3
Parejas sexuales ≥1 ≤15	29 (50.8)	28 (49.1)	p= 0.2
Papanicolaou	29 (50.8)	28 (49.1)	p= 0.9
Edad de inicio de la sexualidad ≥13 ≤27	28 (50)	28 (50)	p=0.3
Tratamiento hormonal	29 (50.8%)	28 (49.1%)	p= 0.5
Alimentos Asados	29 (50.8%)	28 (49.1%)	p=0.1
Grasas saturadas	29 (50.8%)	28 (49.1%)	p=0.3
Cafeína	29 (50.8%)	28 (49.1%)	p= 0.6
Tabaquismo	29 (50.8%)	28 (49.1%)	p= 0.8
Alcoholismo	29 (50.8%)	28 (49.1%)	p= 0.4
Ejercicio	29 (50.8%)	28 (49.1%)	p= 0.9

n total= 57

## 8. DISCUSIÓN

El CaCu persiste como un problema de salud no resuelto a nivel mundial; más del 85% de este tipo de cáncer ocurre en países en desarrollo (IARC, 2008; Ferlay et al., 2010). En Latinoamérica, la población femenina es considerada como una población de alto riesgo para desarrollar CaCu (Hidalgo-Martínez 2006). Así también, se ha descrito que el CaCu afecta predominantemente a las clases sociales bajas y el riesgo de desarrollo de este tipo de enfermedad es cinco veces más que en otras clases sociales (Escandón-Romero et al., 1992). En el presente estudio se observó una alta prevalencia de CaCu en los municipios con un índice de marginación medio (Acaponeta, Tecuala, Rosamorada, Ruiz, Santiago Ixcuintla, Santa María del Oro, Jala y Amatlán de Cañas) de acuerdo a la CONAPO (2010).

La edad, también es un factor importante en el desarrollo de este tipo de patologías. En el estudio realizado en la ciudad de México por López-Rivera et al (2012) se menciona que el grupo de mujeres jóvenes (<20 años) tuvo una alta incidencia de infección por VPH. Estos resultados, concuerdan con los encontrados en el presente estudio, ya que el grupo de edad que tuvo una mayor frecuencia de CaCu fue el de 26 a 30 años y también se observaron casos en mujeres muy jóvenes (17 años).

Estudios realizados en países de Latinoamérica han descrito como un factor de riesgo de CaCu, al parto de manera vaginal (natural) (Tirado-Gómez et al., 2005; Almonte et al., 2008; Orozco-Colin et al., 2010). Así también, otros estudios han señalado que las mujeres que han tenido de cuatro a siete partos vaginales tienen un riesgo a desarrollar CaCu de 2.4 y 2.4, respectivamente (Fernández-Molinari et al.,

2008 y Bosch et al., 2012). En este estudio se observó que el 38.5% de las pacientes tuvieron más de cuatro partos vaginales, sin embargo debido al tamaño de muestra de la población y al tipo de estudio realizado, no se pudo calcular el riesgo relativo entre el desarrollo de CaCu y el número de partos.

Por otra parte Castellsagué y Muñoz (2003), han descrito que un alto número de partos puede incrementar el riesgo de CaCu porque mantiene la zona de transformación cervical en el exocervix por varios años. Lo que facilita la exposición directa a VPH, además de los cambios hormonales que se presentan durante el embarazo (incremento en los niveles de estrógeno y progesterona) también pueden modular la respuesta inmune al VPH e influir en el riesgo de persistencia o progresión de las lesiones cervicales.

En cuanto al nivel de escolaridad, en este estudio, se registró la educación secundaria como la escolaridad mínima. La falta de educación y la formación familiar que han recibido las pacientes es un factor muy importante a considerar, ya que no les permite estimar la importancia de la revisión ginecológica (Hidalgo-Martínez et al., 2006).

La obesidad es considerada una enfermedad que está asociada al desarrollo de otras enfermedades. Entre las que se encuentran, enfermedades de tipo reproductivo, así como el aumento en los niveles de hormonas endógenas, mismas que promueven el crecimiento tisular y tumoral de carcinomas hormona dependiente.

De acuerdo a estudios, las mujeres obesas de  $IMC \geq 30$  y con sobrepeso  $IMC \geq 25$  parecen tener hasta dos veces más riesgo de desarrollar CaCu (Key et al., 2001; Lacey et al., 2003). En este estudio, se observó que el 21% las pacientes presentó obesidad y 42% tuvo sobrepeso.

Otro factor adicional relacionado con el CaCu, es el inicio de la vida sexual activa a temprana edad (Louie et al., 2009). Para el presente estudio se encontró que la mayoría de las pacientes iniciaron su vida sexual activa en promedio a los 16 años de edad. En otros estudios, se ha demostrado que el riesgo de desarrollo de CaCu es de hasta dos veces más en mujeres que inician su vida sexual antes de los 15 años (Castañeda-Iñiguez et al., 1998; Louie et al., 2009).

A partir de la década de los años 80's se identificó al virus del papiloma humano como un factor de riesgo para el desarrollo de CaCu (Bosch y Muñoz 2002; Tirado-Gómez et al., 2005; Faridi et al., 2011). En el presente estudio, el 91.3% de las pacientes presentó VPH y el 45.1% de estos corresponde a VPH16. Estos resultados son consistentes a los reportados en el Estudio Internacional de Biología de Cáncer Cervical en el cual se detectó al VPH en el 99.7% de los más de 1000 casos de CaCu invasor en 22 países, lo que sugiere que el VPH es el principal responsable del desarrollo de CaCu (Estudio Internacional de Biología de Cáncer Cervical, 2003).

Así también, en este estudio se observó que el 52.6% de las pacientes presentó coinfecciones con más de dos tipos virales. Peitsaro et al (2002) reportan que la carga viral de VPH incrementa la probabilidad de desarrollar CaCu invasor. Estos

mismos autores, establecieron que una alta carga viral incrementa el riesgo de los eventos iniciadores de displasias, como es la integración viral independientemente de si se refleja la extensión de la infección o el incremento del número de copias virales. Sobre la base de lo anterior, se podría decir que las pacientes del presente estudio que presentaron más de dos tipos virales, podrían tener mayor probabilidad a desarrollar cáncer invasor.

Actualmente, en México, los servicios de Salud ofrecen la prueba de Papanicolaou como un método para la detección primaria de los cambios en células del cuello uterino que son precursoras de cáncer cervical (Othman y Otman, 2012). Sin embargo, el Papanicolaou es una técnica poco sensible para detectar la presencia de VPH, ya que sólo puede identificar correctamente 15% del total de casos ADN VPH positivos (Schneider et al., 1987, Hidalgo-Martínez, 2006). En México, son pocos los estudios donde se ha utilizado una prueba sensible para la genotipificación del VPH en muestras de cérvix. Dentro de estos, algunos han usado oligonucleótidos universales para la detección de VPH y solo tipifican el VPH 16 y 18. En otros, se ha utilizado la técnica de captura de híbridos, en la cual sólo tipifica si es virus de VPH es de alto o bajo riesgo. En este estudio se realizó la genotipificación del VPH mediante un método sensible mismo que detecta 37 genotipos del VPH (Tabla 5). De acuerdo a Coutlée et al (2006) la prueba de genotipificación Linear Array HPV es de gran valor para los estudios epidemiológicos y los ensayos clínicos para monitorear infecciones por VPH a nivel genotipo en muestras genitales. Con esta capacidad, se puede determinar si un resultado positivo VPH es recurrente, debido a la persistencia

de un determinado genotipo, dado que la persistencia del VPH de alto riesgo es el predictor más importante de cáncer de cuello uterino, la genotipificación del VPH resulta útil para evaluar la persistencia viral (Stevens et al., 2006).

Tabla 5 Estudios de genotipificación del VPH realizados en la República Mexicana.

Estado	Tipo de prueba	de VPH detectado	Referencia
<b>Cd. México</b>	PCR universal primers	16 y 18	Carrillo et al., 2004
<b>Morelos, Veracruz y DF</b>	Captura de Híbridos II	16	Tirado-Gómez et al., 2005
<b>Durango</b>	PCR universal Primers	16 y 18	Sanchez-Anguiano et al., 2006
<b>Guanajuato y San Luis Potosi</b>	PCR-RFLP	16, 31, 18, 35, 52 y 33	López-Revilla et al., 2008
<b>Guerrero</b>	PCR-RFLP	33, 16 y 18	Illades-Aguilar et al., 2009
<b>DF</b>	PCR Screening Kit	18 y 16	López-Rivera et al., 2012
<b>Nayarit</b>	Linear Array HPV genotyping test	16, 18, 31, 58, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 59, 68, 6, 11, 26, 40, 42, 53, 54, 55, 61, 62, 64, 66, 67, 69, 70, 71, 72, 73, 81, 82, 83, 84, IS39 y CP6108	Este estudio



En México, el Programa Nacional de detección para CaCu, no considera el ensayo molecular del VPH y existe mucha controversia concerniente a su costo-beneficio cuando éste es usado como una prueba de detección en la población mundial. Sin embargo, Piña-Sánchez et al (2006) sugiere que este método combinado con intervención clínica directa podría dar un resultado sustancial en la reducción de CaCu en países en vías de desarrollo.

Actualmente, los Servicios de Salud de Nayarit llevan a cabo la aplicación de la vacuna contra el VPH (GARDASIL) en niñas a partir de los nueve años, dicha vacuna sólo protege para los tipos de VPH de alto riesgo VPH16 y VPH18 y los tipos de bajo riesgo VPH6 y VPH11. En el presente estudio, se observó una alta prevalencia del VPH16 y VPH18; sin embargo, también se observó una alta prevalencia de los tipos VPH 58 y VPH31. Algunos autores han sugerido que las diferencias geográficas en la distribución de VPH pueden tener un impacto en la efectividad de la vacuna contra el VPH en diferentes poblaciones (Mammas et al., 2008; Orozco-Colin et al., 2010). Sobre la base de los resultados obtenidos en este estudio y a la distribución heterogénea de los genotipos de VPH, es necesario seguir realizando estudios que permitan conocer la distribución de los genotipos de VPH en todos los estados de la República Mexicana para que a través de la Secretaría de Salud, se implemente medidas de intervención; específicamente en el desarrollo de vacunas que confieran protección de acuerdo al los tipos de VPH que prevalecen en cada estado, lo cual podría reducir la incidencia del CaCu.

## 9. LIMITACIONES DEL ESTUDIO

Las limitaciones del presente estudio son: el tamaño de muestra, la falta de controles necesarios para poder realizar una evaluación completa de factores ambientales de riesgo y el riesgo relativo al desarrollo de CaCu. Otra limitación es que no se puede evaluar la validez externa del estudio debido a la falta de registros actualizados en la entidad, así también, que la población de estudio solo es representativa de una de las tres instituciones del Sector Salud que hay en Nayarit.

Cabe también mencionar que debido a la falta de recursos no se pudo llevar a cabo un estudio de casos y controles, así como algunos de los objetivos que al inicio del estudio fueron planteados.

Finalmente, resulta importante destacar que a pesar de las limitaciones mencionadas, este es el primer estudio en el Estado en el que se evalúa la prevalencia de CaCu y los genotipos de VPH y que sin duda coadyuvará en la implementación de estrategias de diagnóstico temprano y prevención del CaCu por parte de las autoridades.

## 10. CONCLUSIONES

- El 21% las pacientes presentó obesidad y el 42% sobrepeso, factores que pueden promover el crecimiento tumoral.
- El índice de masa corporal y el número de embarazos mostraron una correlación positiva con el genotipo de VPH 16 ó 18.

- Los municipios de Tuxpan, Acaponeta, Ruiz y El Nayar tuvieron una mayor prevalencia de CaCu, lo cual confirma que el CaCu afecta principalmente a grupos vulnerables, ya que dichos municipios se encuentran dentro de la clasificación de índice de marginación medio y muy alto.
- En el 91.3% de las pacientes con CaCu se detectó la presencia de VPH, lo que sugiere que el VPH es el principal responsable del desarrollo de CaCu.
- Los tipos de VPH que prevalecen en el estado son los tipos VPH16, VPH58, VPH18 y VPH31.

## 11. PERSPECTIVAS

- Evaluar los niveles de proteínas antiapoptóticas (clAP1, clAP2 Y XIAP) en muestras de cérvix con cáncer cervicouterino diagnosticadas como positivas para el virus de papiloma humano.
- Realizar un estudio prospectivo de casos y controles en mujeres con lesiones cervicales y calcular el riesgo relativo entre los genotipos de HPV con las enfermedades de transmisión sexual ocasionada por bacterias.

## 12. BIBLIOGRAFÍA

- Almonte, M., Albero, G., Molano, M., Carcamo, C., Garcia, P. y Pérez, G. (2008) Risk factors for human papillomavirus exposure and co-factors for cervical cancer in Latin America and the Caribbean. *Vaccine*, 26:L16–36.
- Alonso, P., Lazcano, E. y Hernández, M. (2005) *Cáncer cervicouterino. Diagnóstico, prevención y control*. 2ª Ed. Editorial Panamericana. México D.F.387pp.
- Bosch, F.X. y Muñoz, N. (2002) The viral etiology of cervical cancer. *Virus Research*, 89:183-190.
- Bosch, F.X., Lorincz, A., Muñoz, N., Meijer, C.J.L.M. y Shah, K.V. (2002) The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer. *Journal of clinical pathology*, 55:244–265.
- Bosch, F.X., Lorincz, A., Muñoz, N., Meijer, C.J.L.M. y Shah, K.V. (2012) The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer. *Journal of clinical pathology*, 55:244–265.
- Burd, E.M. (2003) Human Papillomavirus and Cervical Cancer. *Clinical Microbiology Reviews*, 6:1–17.
- Carrillo, A., Mohar, A., Meneses, A., Frias-Mendivil, M., Solorza, G. y Lizano, M. (2004) Utilidad en la Combinación de Oligonucleótidos Universales para la Detección del Virus del Papiloma Humano en Cáncer Cervicouterino y Lesiones Premalignas. *Salud Pública de México*, 46:7-15.

- Castañeda-Íñiguez, M.S., Toledo-Cisneros, R. y Aguilera-Delgadillo, M. (1998) Factores de riesgo para cáncer cervicouterino en mujeres de Zacatecas. *Salud Pública de México*, 40:330-338.
- Castellsagué, X. y Muñoz, N. (2003) Cofactors in Human Papillomavirus Carcinogenesis Role of Parity, Oral Contraceptives, and Tobacco Smoking. *Journal of the National Cancer Institute Monographs*. No. 31, Oxford University Press 2003.
- CONAPO (2010) Consultado Octubre 3 2012 en: [http://www.conapo.gob.mx/work/models/CONAPO/indices\\_margina/mf2010/CapitulosPDF/Anexo%20B3.pdf](http://www.conapo.gob.mx/work/models/CONAPO/indices_margina/mf2010/CapitulosPDF/Anexo%20B3.pdf).
- De Villiers, E.M., Fauquet, C., Broker, T.R., Bernard, H.U. y Zur Hausen, H. (2004) Classification of papillomaviruses *Virology*, 324: 17– 27.
- Escandón-Romero, C., Benitez-Martinez, M.G. y Navarrete-Espinoza, J. (1992) Epidemiología del cáncer cervicouterino en el Instituto Mexicano del Social. *Salud Pública de México*, 34:607-614.
- Estudio Internacional de Biología de Cáncer Cervical (2003) Consultado el Marzo 21 2012 en: [http://ntp-server.niehs.nih.gov/ntp/newhomeroc/roc11/HPV\\_RG2\\_Public.pdf](http://ntp-server.niehs.nih.gov/ntp/newhomeroc/roc11/HPV_RG2_Public.pdf).
- Faridi, R., Zahra, A., Khan, K. y Idrees, M. (2011) Oncogenic potential of Human Papillomavirus (HPV) and its relation with cervical cancer. *Virology Journal*, 8:269.

- Ferlay, J., Shin, H.R., Bray, F., Forman, D., Mathers, C. y Parkin, D.M. (2010) Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. *International journal of cancer*, 127:2893–2917.
- Fernández-Molinari, L., Iyo-Shiguiyama, A. y Paredes-Villanueva, F. (2008) Asociación entre el parto vaginal y parto exclusivamente por cesárea, con el cáncer epidermoide de cérvix y sus precursores. *Revista Peruana de Ginecología y Obstetricia*, 54:264-269.
- Hidalgo-Martínez, A.C. (2006) El cáncer cérvico-uterino, su impacto en México y el porqué no funciona el programa nacional de detección oportuna. *Revista Biomédica*, 17:81-84.
- Hougardy, M.T.B., Van der Zee, A.G.J., Van den Heuvel, F.A.J., Timmer, T., De Vries, E.G.E. y De Jong, S. (2005) Sensitivity to Fas-mediated apoptosis in high-risk VPH-positive human cervical cancer cells: Relationship with Fas, caspase-8, and Bid. *Gynecologic Oncology*. 97:353–364.
- IARC (2008) Consultado el Marzo 11 del 2013 en: <http://globocan.iarc.fr>.
- Illades-Aguilar, B., Alarcón-Romero, L.C., Antonio-Véjar, V., Zamudio-López, N., Sales-Linares, N., Flores-Alfaro, E., Fernández-Tilapa, G., Vences-Velázquez, A., Muñoz-Valle, J.F. y Leyva-Vázquez, M.A. (2010) Prevalence and distribution of human papillomavirus types in cervical cancer, squamous intraepithelial lesions, and with no intraepithelial lesions in women from Southern Mexico. *Gynecologic Oncology*, 117: 291–296.

- Key, T.J., Allen, N.E., Verkasalo, P.K. y Banks, E. (2001) Energy balance and cancer: the role of sex hormones. *The Proceedings of the Nutrition Society*, 60:81–89.
- Lacey, J.V., Swanson, C.A., Brinton, L.A., Altekruze, S.F., Barnes, W.A., Gravitt, P.E., Greenberg, M.D., Hadjimichael, O.C., McGowan, L., Mortel, R., Schwartz, P.E., Kurman, R.J. y Hildesheim A. (2003) Obesity as a potential risk factor for Adenocarcinomas and Squamous Cell Carcinomas of the Uterine Cervix. *Cancer*, 98: 814–821.
- López-Revilla, R., Martínez-Contreras, L.A. y Sánchez-Garza, M. (2008) Prevalence of high-risk human papillomavirus types in Mexican women with cervical intraepithelial neoplasia and invasive carcinoma. *Infectious agents and cancer*, 3:3.
- López-Rivera, M.G., Medel-Flores, M.O., Villalba-Magdaleno, J.D.A. y Sánchez-Monroy, V. (2012) Prevalence of Human Papillomavirus in Women from Mexico City. *Infectious Diseases in Obstetrics and Gynecology*, 4pp.
- Louie, K.S., De Sanjose, S., Diaz, M., Castellsagué, X., Herrero, R., Meijer, C.J., Shah, K., Franceschi, S., Muñoz, N. y Bosch, F.X. (2009) Early age at first sexual intercourse and early pregnancy are risk factors for cervical cancer in developing countries. *British Journal of Cancer*, 100:1191–1197.
- Mammas, I.N., Vageli, D. y Spandidos, D.A. (2008) Geographic variations of human papilloma virus infection and their possible impact on the effectiveness of the vaccination programme. *Oncology Reports*, 20:141–5.

- Moody, C.A. y Laimins, L.A. (2010) Human papillomavirus oncoproteins: pathways to transformation. *Nature reviews. Cancer*, 10: 550-560.
- Muñoz, N., Bosch, F.X., De Sanjose, S., Herrero, R., Castellsague, X., Shah, K.V., Snijders, P.J.F. y Meijer, C.J.L.M. (2003) Epidemiologic Classification of Human Papillomavirus Types Associated with Cervical Cancer. *The New England journal of medicine*, 348 518-27.
- OMS (2013) Nota descriptiva Consultado Diciembre 10 2012, disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/es/index.html>.
- Orozco-Colin, A., Carrillo-Garcia, A., Méndez-Tenorio, A., Ponce-de-León, S., Mohar, A., Maldonado-Rodríguez, R., Guerra-Arias, R., Flores-Gil, O., Sotelo-Regil, R. y Lizano, M. (2010) Geographical variation in human papillomavirus prevalence in Mexican women with normal cytology. *International Journal of Infectious Diseases*, 14 e1082–e1087.
- Othman, N. y Othman, N.H. (2012) Adequacy of cellular material in split-sampling of cervical scrapings for routine cancer screening: an analysis of 702 smears. *The Malaysian journal of pathology*, 34: 115 – 121.
- Peitsaro, P., Johansson, B. y Syrjänen, S. (2002) Integrated human papillomavirus type 16 is frequently found in cervical cancer precursors as demonstrated by a novel quantitative real-time PCR technique. *Journal of Clinical Microbiology*, 40: 886-91.



- Pfohl-Leszkwicz, A. (2008) Formation, Persistence and Significance of DNA Adduct Formation in Relation to Some Pollutants from a Broad Perspective. *Advances in Molecular Toxicology*, vol 2. Elsevier, 246 pp.
- Piña-Sánchez, P., Hernández-Hernández, D.M., López-Romero, R., Vázquez-Ortiz G., Pérez-Plasencia, C., Lizano-Soberón, M., González-Sánchez, J.L., Cruz-Talonia, F., SALCEDO, M. (2006). Human papillomavirus-specific viral types are common in Mexican women affected by cervical lesions. *International Journal of Gynecological Cancer*, 16:1041–1047
- Rendición de cuentas en salud (2009) Consultado Octubre 17 2012 en:<http://www.dged.salud.gob.mx/contenidos/dedss/rccs.html>.
- Sánchez-Anguiano, L.F., Alvarado-Esquivel, C., Reyes-Romero, M.A. y Carrera-Rodríguez, M. (2006) Human papillomavirus infections in women seeking cervical Papanicolaou cytology of Durango, Mexico: prevalence and Genotypes. *BMC Infectious Diseases*, 6:27.
- Schneider, A., Sawada, E., Gissmann, L. y Shah, K. (1987) Human papillomaviruses in women with a history of abnormal Papanicolaou smear and their male partners. *Obstetrics and Gynecology*, 69:554-562.
- Stevens, M.P., Rudland, E., Garland, S.M. y Tabrizi, S.N. (2006) Assessment of MagNA Pure LC Extraction System for Detection of Human Papillomavirus (HPV) DNA in PreservCyt Samples by the Roche AMPLICOR and LINEAR ARRAY HPV Tests. *Journal of Clinical Microbiology*, 44: 2428–2433.

- Tirado-Gómez, L.L., Mohar-Betancourt, A., López-Cervantes, M., García-Carrancá, A., Franco-Marina, F. y Borges, G. (2005) Factores de riesgo de cáncer cérvicouterino invasor en mujeres mexicanas. *Salud Pública de México*, 47:342-350.
- Yuan, H., Fu, F., Zhuo, J., Wang, W., Nishitani, J., An, D.S., Chen, I.S.Y. y Liu, X. (2005) Human papillomavirus type 16 E6 and E7 oncoproteins upregulate c-IAP2 gene expression and confer resistance to apoptosis. *Oncogene*, 24:5069-5078.
- Zambrano-Zaragoza, J.F., Ortega-Cervantes, L. y Rojas-García, A.E. (2012) *Fundamentos de Toxicología*. Primera Edición. Editorial Universidad Autónoma de Nayarit. Nayarit, México. Parte 6, 145-161 pp.
- Zur Hausen, H. (2002) Papillomaviruses and cancer: from basic studies to clinical application. *Nature*, 2: 342-350.

**ANEXO 1**

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NAYARIT  
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO  
CUESTIONARIO

No. FOLIO:   

Fecha de la entrevista

DÍA / MES / AÑO

Hora de inicio de la entrevista

Hora/Min

 **I. FICHA DE IDENTIFICACIÓN**

1. Nombre del entrevistado.

1     

Apellido paterno	Apellido materno	Nombre(s)
------------------	------------------	-----------

2. ¿Qué edad tiene usted?

2  

\_\_\_\_\_ años

3. ¿Cuál es su fecha de nacimiento?

El (día) \_\_\_\_\_ de (mes) \_\_\_\_\_ de (año) \_\_\_\_\_

4. ¿Cuál es la dirección donde vive regularmente?

Calle	No. Externo	No. Interno	Colonia
-------	-------------	-------------	---------

C.P.	Población	Municipio	Estado
------	-----------	-----------	--------

5. ¿Cuántos años lleva viviendo en ese lugar?

5  

\_\_\_\_\_ años

6. ¿Cuenta usted con teléfono?

Particular: \_\_\_\_\_ Celular: \_\_\_\_\_

7. ¿Actualmente cuál es su estado civil?

1. Soltera
2. Casada
3. Viuda
4. Separada
5. Divorciada
6. Unión libre

7 

Otros \_\_\_\_\_

8. ¿En dónde nació usted?

Población	Municipio	Estado	País
-----------	-----------	--------	------

9. ¿En dónde nació su papá?

Población	Municipio	Estado	País
-----------	-----------	--------	------

10. ¿Vive su papá?

10 

1) Si                      2) No, pase a la pregunta 12

11. ¿Qué edad tiene su papá? \_\_\_\_\_ años, pasar a la pregunta 14

11  

12. ¿A qué edad murió su papá? \_\_\_\_\_ años

12  

13. ¿De qué murió su papá? \_\_\_\_\_

14. ¿En dónde nació su mamá?

Población	Municipio	Estado	País
-----------	-----------	--------	------

15. ¿Vive su mamá?

15 

1) Si                      2) No, pase a la pregunta 17

16. ¿Qué edad tiene su mamá? \_\_\_\_\_ años, pase a la pregunta 19

16  

17. ¿A qué edad murió su mamá? \_\_\_\_\_ años

17  

18. ¿De qué murió su mamá? \_\_\_\_\_

<b>II. ANTROPOMETRÍA</b>		
19. ¿Cuál es su peso? _____ Kg		19. <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
20. ¿Cuál es su estatura? _____ m.		20 <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
<b>III. CARACTERÍSTICAS DE ENTREVISTADO</b>		
21. ¿Sabe leer y escribir? 1) Si                    2) No, pase a la pregunta 23		21 <input type="checkbox"/> 22 <input type="checkbox"/>
22. ¿Qué grado de estudio tiene usted? 1) Ninguno 2) Primaria _____ años 3) Primaria completa 4) Secundaria 5) Preparatoria o bachillerato 6) Profesional 7) Posgrado 8) Otros _____		23 <input type="checkbox"/>
23. ¿Qué ocupación tiene usted? 1) Ama de casa, pase a la pregunta 28 2) Estudiante (preguntar si trabaja) 3) Empleada 4) Otro _____		24 <input type="checkbox"/>
24. ¿Dentro de la ocupación que usted tiene, ¿Qué trabajo desempeña? 1) Oficina ¿Qué tipo de oficina? _____ 2) Campo 3) En casa 4) Industria ¿Qué tipo de industria? _____ 5) Otro _____		25 <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> 26 <input type="checkbox"/>
25. ¿Cuántas horas trabaja al día? _____ Hrs.		

26. ¿Cuántos días trabaja a la semana? \_\_\_\_\_ días.

27

27. ¿Cuánto tiempo lleva trabajando en ese lugar?  
\_\_\_\_\_ años.

**IV. NIVEL SOCIOECONÓMICO**

28. ¿De qué agua utiliza para beber?

28

- 1). Agua de la llave 2). Filtro 3) Garrafón  
4). Otros \_\_\_\_\_

29. ¿De dónde utilizan el agua potable (que no sea para beber o cocinar)?

29

- 1). Toma de agua pública 2). De pozo o noria  
3). Otros \_\_\_\_\_

30. ¿De qué material está hecho el piso de su casa?

30

- 1). Tierra 2). Cemento o firme 3). Mosaico o vitropiso

31. ¿En dónde hacen del baño (excretan)?

31

- 1). Baño 2). Letrina 3). Pozo negro  
4). Al aire libre

32. ¿Su casa tiene drenaje?

32

- 1). Si 2). No

33. ¿Cuenta con televisión en su casa?

33

- 1). Si 2). No

34. ¿Tiene automóvil?

34

- 1). Si 2). No

35. ¿Cuenta con teléfono en su casa?

35

- 1). Si 2). No

36. ¿Cuenta con refrigerador en su casa?

36

- 1). Si 2). No

37. ¿Cuenta con computadora en su casa?

37

- 1). Si            2). No

38. ¿Cuántas personas viven en su casa?  
\_\_\_\_\_ personas.

38

39. De las personas que viven en su casa, ¿Cuántas aportan dinero para los gastos del hogar?  
\_\_\_\_\_ personas.

39

40. ¿Cuánto es el aporte total al consumo del hogar por quincena?

40

- 1). Menos de \$1 000    2). De \$1 000-\$2 000    3). Mayor \$2 000

#### V. ESTILOS DE VIDA

41. ¿Hace ejercicio regularmente?  
1. Si    2. No, pase a la pregunta 44

41

42. ¿Qué tipo de ejercicio realiza?

42

1. Caminata    2. Bicicleta    3. Natación    4. Otro: \_\_\_\_\_

43. ¿Cuánto tiempo realiza éste deporte a la semana? \_\_\_\_\_ Hrs

43

44. ¿Regularmente usted consume alimentos enlatados?  
1). Si    2). No, pase a la pregunta 47.

44

45. ¿Cuántas veces a la semana consume productos enlatados?  
\_\_\_\_\_ veces a la semana.

45

46. ¿Qué tipo de alimentos enlatados consume a la semana?

46

- 1) Atún  
2) Sardina  
3) Verduras  
4) Elotes  
5) Frijoles  
6) Chiles  
7) Otros \_\_\_\_\_

47. ¿Consumo usted con frecuencia embutidos como: jamón, salchicha, salami, chorizo, peperoni, longaniza, pastel de carne, queso de puerco, salchicha para asar y mortadela?

47

1). Si 2). No, pase a la pregunta 49

48. ¿Cuántas veces a la semana consume usted éste tipo de embutidos?  
\_\_\_\_\_ veces a la semana.

48

49. ¿Consume usted verduras?

49

1). Si 2). No, pase a la pregunta 52

50. ¿Cuántas veces a la semana consume usted verduras?  
\_\_\_\_\_ veces a la semana.

50

51. ¿Cuáles verduras consumió en la última semana?  
\_\_\_\_\_

52. ¿Consume usted frutas?

52

1). Si 2). No, pase a la pregunta 55

53. ¿Cuántas veces a la semana consume frutas?  
\_\_\_\_\_ veces a la semana.

53

54. ¿Cuáles frutas consumió en la última semana?  
\_\_\_\_\_

55. ¿Consume usted refrescos?

55

1). Si 2)No, pase a la pregunta 57

56. ¿Cuántos vasos con refresco consume a la semana?  
\_\_\_\_\_ vasos a la semana.

56

57. ¿Consume usted chocolates?

57

1). Si 2). No, pase a la pregunta 60.

58. ¿Qué tipo de chocolate consume?

58

- 1) Chocolate amargo
- 2) Chocolate con leche
- 3) Chocolate blanco
- 4) Chocolate con almendras
- 5) Chocolate con cacahuates
- 6) Otro \_\_\_\_\_

59

59. ¿Cuántas barras de chocolate consume a la semana?  
\_\_\_\_\_ barras.



60. ¿Consume usted café? 1). Si      2). No, pase a la pregunta 62.	60 <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
61. ¿Cuántas tazas de café consume a la semana? _____ tazas a la semana.	61 <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
62. ¿Consume usted pollo asado al carbón? 1) Si      2) No, pase a la pregunta 64.	62 <input type="checkbox"/>
63. ¿Cuántas veces al mes consume usted pollo asado? _____ veces al mes	63 <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
64. ¿Consume usted carne asada al carbón? 1) Si      2). No, pase a la pregunta 66.	64 <input type="checkbox"/>
65. ¿Cuántas veces al mes consume usted carne asada al carbón? _____ veces al mes.	65 <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
66. ¿Consume usted pescado sarandeado, talemado o asado al carbón? 1). Si      2). No, pase a la pregunta 68	66 <input type="checkbox"/>
67. ¿Cuántas veces al mes consume usted pescado sarandeado, talemado o asado al carbón? _____ veces al mes.	67 <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
68. ¿Consume usted carne de puerco? 1). Si      2). No, pase a la pregunta 70.	68 <input type="checkbox"/>
69. ¿Cuántas veces al mes consume usted carne de puerco? _____ veces al mes.	69 <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
70. ¿Guisa usted con manteca? 1) Si      2) No	70 <input type="checkbox"/>
71. ¿Consume usted frituras (dorititos, churros, papitas, sabritas)? 1). Si      2). No, pase a la pregunta 73.	71 <input type="checkbox"/>
72. ¿Cuántas veces a la semana consume usted frituras? _____ veces a la semana.	72 <input type="checkbox"/>
73. ¿Usa usted desodorante? 1). Si      2). No, pase a la pregunta 76	73 <input type="checkbox"/>

74. ¿Qué tipo de desodorante usa usted?

- 1) Roll-on
- 2) De barra
- 3) En Spray
- 4) Otro \_\_\_\_\_

74

75. ¿Qué marca de desodorante usa usted?

\_\_\_\_\_

## VI. ALCOHOLISMO

76. ¿Ha consumido o consume bebidas alcohólicas?

- 1). Si
- 2). No, pase a la pregunta 79.

76

77. En el último año ¿Con qué frecuencia ha consumido las siguientes bebidas?

BEBIDAS	Nunca	Menos de una vez al mes	Veces al mes	Veces a la semana			Veces al día			
	(1)	(2)	1-3 (3)	1 (4)	2-4 (5)	5-6 (6)	1 (7)	2-3 (8)	4-5 (9)	6 (10)
Una cerveza										
Una copa de vino										
Una bebida con ron o brandy										
Una bebida con ginebra o vodka										
Una bebida con tequila										
Rompope										
Tepache										
Mezcal										
Pulque										
Aguardiente										

78

78. ¿Desde hace cuánto tiempo consume o ha consumido las bebidas alcohólicas?

- 1). Menos de un año 2). 1-2 años 3). De 3 a 5 años  
4). De 5 a 10 años 5). Más de 10 años 6). Otro \_\_\_\_\_

## VII. TABAQUISMO Y OTRAS DROGAS

79. ¿Fuma o fumó alguna vez en su vida?

- 1). Si 2). No, pase a la pregunta 84.

79

80- ¿Por cuántos años fumó o ha fumado?  
\_\_\_\_\_ años

80

81. ¿Cuántos años tenía cuando empezó a fumar?  
\_\_\_\_\_ años.

81

82. ¿Aproximadamente cuántos cigarros fuma al día?  
\_\_\_\_\_ cigarros por día.

82

83. ¿Qué marca de cigarros consume?  
\_\_\_\_\_

84. ¿Alguna(s) de las personas que viven con usted (en la misma casa), o trabajan en el mismo lugar fuman?

- 1). Si 2). No, pase a la pregunta 87.

84

85. Trate de promediar cuantos cigarros por día fuma(n) aproximadamente esa(s) persona(s).

Persona 1, fuma \_\_\_\_\_ cigarros por día.

Persona 2, fuma \_\_\_\_\_ cigarros por día.

Persona 3, fuma \_\_\_\_\_ cigarros por día.

86 ¿Cuánto tiempo aproximadamente tienen viviendo en la misma casa o trabajando en el mismo lugar las personas que mencionó que fuman?

Persona 1 \_\_\_\_\_ año(s).

Persona 2 \_\_\_\_\_ año(s).

Persona 3 \_\_\_\_\_ año(s).

Persona 4 \_\_\_\_\_ año(s).

87. ¿Durante el último año, usted ha consumido alguna droga?

- 1). Si 2). No, pase a la pregunta 89.

87

88. ¿De la siguiente lista qué tipos de droga ha utilizado o utiliza y con qué frecuencia?

DROGAS	Menos de una vez al mes	Veces al mes	Veces a la semana			Veces al día			
	(1)	1-3 (2)	1 (3)	2-4 (4)	5-6 (5)	1 (6)	2-3 (7)	4-5 (8)	6 (9)
Cocaína									
Heroína									
LSD									
Marhuana									
Pastillas									
Resistol									
Solventes									
Otras									

### VIII. ANTECEDENTES CLINICOS

89. ¿Cuál de las siguientes enfermedades le ha sido diagnosticada por un médico?

Enfermedad	Sí (1)	No (2)	No sé (3)	Si su respuesta es SI, su padecimiento es		
				Actual (4)	Pasado (5)	Recibió tratamiento (6)
Anemia						
Diabetes						
Cirrosis						
Enfermedad de la gota						
Enfermedad del hígado						
Colesterol alto						
Enfermedad de la tiroides						
Enfermedad en el riñón						

Hepatitis						
Insuficiencia renal						
Infección de vías urinarias repetidas						
Fibrosis quística						
Enfermedad	Sí (1)	No (2)	No sé (3)	Si su respuesta es Sí, su padecimiento es		
				Actual (4)	Pasado (5)	Recibió tratamiento (6)
Presión alta o baja						
Convulsiones o epilepsia						
Tuberculosis						
Enfermedades respiratorias recurrentes (gripa, tos)						
Neumonía/bronquitis						
Alergias						
Otra enfermedad Especifique _____						

90. ¿Ha padecido usted o padece enfermedades de transmisión sexual?

- 1). Si      2). No, pase a la pregunta 95.

90

91. ¿Qué tipo de enfermedad de transmisión sexual padece o ha padecido?

- 1). Sífilis    2). Gonorrea    3). Chancro    4). Herpes    5). SIDA  
6) otros \_\_\_\_\_

91

92. ¿Ha recibido tratamiento para la(s) enfermedad(es) anterior(es)?

- 1). Si      2). No, pase a la pregunta 95.

92

93. ¿Sabe cuál es el nombre del medicamento?

94. ¿Por cuánto tiempo estuvo en tratamiento?

\_\_\_\_\_ meses.

94

95. ¿Le han diagnosticado algún otro tipo de cáncer anteriormente?

1). Si                    2). No, pase a la pregunta 97.

95

96. ¿Qué tipo de cáncer? \_\_\_\_\_

97. ¿Ha tomado algunos de los siguientes medicamentos o tratamientos en los últimos 3 meses?

Medicamento o tratamiento	Sí (1)	No (2)	No sé (3)	Si su respuesta es Sí, su padecimiento es	
				Actual (1)	Pasado (2)
Antibióticos (para infecciones) Especifique: _____					
Para la presión alta Especifique: _____					
Para el dolor Especifique: _____					
Aspirina					
Otros medicamentos o tratamientos Especifique: _____ _____					

98. ¿Alguno de sus familiares ha padecido o padece alguna de las siguientes enfermedades?

Familiar	Cáncer	Diabetes	Hipertensión	Hepatitis
Mamá				

Papá					
Hermanos					
Tíos paternos					
Tíos maternos					
Primos paternos					
Primos maternos					
Abuelo Paterno					
Abuela Paterna					
Abuelo materno					
Abuela materna					

#### ANTECEDENTES GINECO-OBSTÉTRICOS

99. ¿A qué edad tuvo usted su primera menstruación? \_\_\_\_ Años
100. ¿A qué edad usted tuvo su primera relación sexual? \_\_\_\_ Años  
0) No aplica, pase a la pregunta 110
101. ¿Cuántas parejas sexuales ha tenido usted? \_\_\_\_
102. ¿Cuántos embarazos ha tenido usted? \_\_\_\_
103. ¿Cuántos abortos ha presentado usted? \_\_\_\_
104. ¿Cuántas cesáreas ha tenido usted? \_\_\_\_
105. ¿Cuántos partos naturales ha tenido usted? \_\_\_\_
106. ¿Cuántos hijos tiene usted? \_\_\_\_
107. ¿A qué edad tuvo su primer hijo?  
\_\_\_\_ años
108. ¿Alimentó con leche materna a su (s) hijo (s)?

99   100   101   102   103   104   105   106   107

1). Si 2). No, pase a la pregunta 110.

109. ¿Por cuánto tiempo alimentó con leche materna a su último hijo?  
\_\_\_\_\_ meses

108

110. ¿Ya presentó usted la menopausia?

1). Si 2) No, pase a la pregunta 112.

109

111. ¿A qué edad presentó la menopausia?  
\_\_\_\_\_ años

110

112. ¿Se ha realizado usted el Papanicolaou?

1) Si 2). No, pase a la pregunta 114.

111

113. ¿Con qué frecuencia se ha realizado el Papanicolaou?  
Cada \_\_\_\_\_ año(s)

112

114. ¿Se ha realizado la exploración mamaria manual?

1). Si 2). No, pase a la pregunta 116.

113

115. ¿Con qué frecuencia se ha realizado usted la exploración mamaria?

Cada \_\_\_\_\_ mes(es)

114

115

116. ¿Cuál de los siguientes métodos anticonceptivos ha utilizado?

Anticonceptivo	Nunca (1)	Un mes (2)	Menos de 6 meses (3)	De seis meses a un año (4)	Más de un año (5)
Pastillas					
Inyección					
Condón					
Implante					
Dispositivo intrauterino					
Otro _____					

## IX. EXPOSICIÓN

117. ¿Ha estado usted en contacto con plaguicidas o agroquímicos?





1). Si 2). No, pase a la pregunta 121.	
118. ¿En qué lugar ha estado en contacto? 1). Trabajo 2). Casa 3). Otro _____	117 <input type="checkbox"/> 118 <input type="checkbox"/>
119. ¿Cuántos días a la semana ha estado en contacto con los plaguicidas? _____ días.	119 <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
120. ¿Por cuánto tiempo ha estado usted en contacto con plaguicidas? _____ meses.	120 <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
121. ¿Le han tomado a usted radiografías? 1). Si 2). No, pase a la pregunta 123.	121 <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
122. ¿Hace cuánto tiempo se tomó la última radiografía? _____ meses	122 <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
123. De los siguientes combustibles ¿Cuál (es) ha utilizado para cocinar? 1) Gas 2) Leña 3) Carbón 4) Gas y leña 2) Gas y carbón	123 <input type="checkbox"/>
124 ¿Por cuánto tiempo ha cocinado con el combustible anterior? 1) Gas _____ años 2) Leña _____ años 3) Carbón _____ años	

**ESTA SECCIÓN DEBE SER CONTESTADA POR EL ENTREVISTADOR  
INMEDIATAMENTE DESPUÉS DE REALIZADA LA ENCUESTA**

**HORA DE TÉRMINO DE LA ENTREVISTA**

Hora / Min.			

Por favor marque la frase que mejor describa al entrevistado respecto a su habilidad de responder cada una de las preguntas.

1=Buena

2=Regular

3=Mala

Por favor seleccione la frase que mejor describa al entrevistado respecto al nivel de la atención prestada al cuestionario.

1. Excelente atención
2. Buena atención
3. Regular atención
4. Mala atención

NOMBRE DEL ENTREVISTADOR:

---

Apellido paterno

Apellido materno

Nombre(s)

## ANEXO 2

### Extracción de ADN

#### Reactivos del Kit de extracción de material líquido Amplilute

##### ARN transportador (CAR)

Añadir 310 µL del reactivo AVE al liofilizado CAR. Agítelos durante 10 segundos. El reactivo es estable a una temperatura entre 2-8 °C durante 24 h y a -20°C durante un máximo de 2 meses o hasta la fecha de caducidad, la que sea más próxima.

##### Tampón de lavado (AW2)

Añadir 30 mL de etanol absoluto a AW2, mezclar por agitación. Puede almacenarse a temperatura ambiente durante un máximo de 2 meses o hasta la fecha de caducidad.

##### Proteínasa K (PK)

##### Buffer de elución (AVE)

##### Buffer de lisis del tejido (ATL)

##### Buffer de lisis (AL)

Preparar el reactivo AL de trabajo 1:100 del reactivo CAR disuelto (preparar la cantidad según el número de muestras) consultar tabla 1. Agite el contenido suavemente invirtiendo el tubo 10 veces. No agite el contenido para evitar la formación de espuma.

Tabla 1. Preparación del reactivo AL de trabajo

Número de muestras para procesar						
Reactivos	2	4	6	8	10	12
CAR (µL)	55	11	16.5	22	27.5	33
AL (µL)	550	1100	1650	2200	2750	3300

### Reactivos

Solución de desnaturalización (DN)

Solución de Magnesio (VPH  $Mg^{2+}$ )

Master Mix (VPH MMX)

Añadir 125  $\mu$ L de VPH  $Mg^{2+}$  a un vial VPH MMX, mezclar por inversión de 10 a 15 veces. Una vez preparada la MMX trabajo debe almacenarse a 2-8 °C y utilizarse en un máximo de 6 horas tras la preparación.

### **Detección del genotipo**

#### Reactivos

Concentrado SDS (SDS)

Concentrado SSPE (SSPE)

Concentrado de citrato (CIT)

Sustrato A (SUB A)

Sustrato B (SUB B)

Sustrato de trabajo por muestra

SUB A 4 mL

SUB B 1 mL

Conjugado de estreptavidina y peroxidasa de rábano picante (SA-HRP)

Conjugado de trabajo para 12 muestras

50 mL buffer de lavado

150 µL SA-HRP

Tabla 2. Preparación de Buffers para 12 muestras

	Buffer de hibridación (mL)	Buffer de lavado (mL)	Citrato (mL)	Vol total (mL)
H <sub>2</sub> O destilada	47	302.4	57	406.4
SSPE 20x	12	16	---	28
SDS 20%	1.5	1.6	---	3.1
Citrato	---	---	3	3

## **Amplificación**

### **Reactivos**

Solución de desnaturalización (DN)

Solución de Magnesio (VPH Mg<sup>2+</sup>)

Master Mix (VPH MMX)

Añadir 125 µL de VPH Mg<sup>2+</sup> a un vial VPH MMX, mezclar por inversión de 10 a 15 veces. Una vez preparada la MMX trabajo debe almacenarse a 2-8 °C y utilizarse en un máximo de 6 horas tras la preparación.