

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA**

**INVESTIGACION DE AMINAS BIOGENICAS Y VAGINOSIS BACTERIANA
EN PACIENTES CON NEOPLASIA INTRAEPITELIAL DE CERVIX**



**Informe de Tesis
Presentado por**

ROSA MARIA CHEW DE LEON

**Estudiante de la Carrera de
QUIMICA BIOLOGICA**

Guatemala, marzo de 1999

JUNTA DIRECTIVA
FACULTAD DE CC.QQ. Y FARMACIA

DECANA	LICDA. HADA MARIETA ALVARADO BETETA
SECRETARIO	LIC. OSCAR FEDERICO NAVE HERRERA
VOCAL I	DR. OSCAR MANUEL COBAR PINTO
VOCAL II	DR. RUBEN DARIEL VELASQUEZ MIRANDA
VOCAL III	LIC. RODRIGO HERRERA SAN JOSE
VOCAL IV	BR. DAVID ESTUARDO DELGADO GONZALEZ
-VOCAL V	BR. ESTUARDO SOLORZANO LEMUS

DEDICO ESTE ACTO

A DIOS NUESTRO SEÑOR

A MIS PADRES Lic. Carlos René Chew Mejía
 Licda. Norma Minera de Chew

A MIS HIJOS Obed Girón Chew
 René Adolfo Girón Chew
 Roy Andrés Gómez Chew
 Marco Antonio Gómez Chew

A MI ESPOSO Dr. Roilán A. Gómez Aceytuno

A MIS HERMANOS Carlos Rolando Chew Minera
 René Antonio Chew Minera
 Lic. Ricardo A. Chew Minera

A USTED De manera especial

DEDICO ESTA TESIS

A GUATEMALA

A LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

A LA FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA

A MI ASESOR

Lic. Gerardo Arroyo

AGRADECIMIENTOS

Mi agradecimiento especial al Lic. Gerardo Arroyo, por su asesoría y consejos brindados.

Al Dr. Edwin Morales Jefe del Departamento de Colposcopia y personal técnico de la Clínica de la Mujer de la Asociación Pro-Bienestar de la Familia de Guatemala (APROFAM), por su colaboración.

A la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala, por haberme brindado la oportunidad de elaborar el presente trabajo de investigación.

INDICE

	Página
I. RESUMEN	1
II. INTRODUCCION	3
III. ANTECEDENTES	5
A. Epidemiología de la Neoplasia Intraepitelial de cérvix	5
B. Virus de Papiloma Humano	7
C. Patología de la Enfermedad	8
D. Manifestaciones clínicas	9
E. Diagnóstico	11
F. Vaginosis Bacteriana	16
1. Historia	16
2. Epidemiología	19
3. Microbiología	21
4. Diagnóstico	23
G. Aminas Biogénicas	27
IV. JUSTIFICACION	30
V. OBJETIVOS	31
VI. HIPOTESIS	32
VII. MATERIALES Y METODOS	33
A. Universo de trabajo	33
B. Medios	33
C. Procedimiento	34

VIII.	RESULTADOS	40
IX.	DISCUSION DE RESULTADOS	49
X.	CONCLUSIONES	55
XI.	RECOMENDACIONES	58
XII.	REFERENCIAS	59
XIII.	ANEXOS	66

I. RESUMEN

EL carcinoma de cérvix es la neoplasia más frecuente en Guatemala, existen múltiples factores de riesgo que explican el desarrollo de esta enfermedad. Se ha reportado que las aminos biogénicas presentes en la vaginosis bacteriana (VB) podría contribuir en la transformación maligna de este proceso, por lo que el propósito de esta investigación fue determinar su presencia en pacientes con neoplasia intraepitelial del cérvix (NIC) mediante un estudio de casos y controles.

En una población femenina que asistió a la clínica de la Mujer de la Asociación Probienestar de la Familia de Guatemala (APROFAM) en el período de Marzo y Abril de 1998, se estudiaron 75 pacientes con diagnóstico patológico de NIC de algún grado (I, II o III) y un grupo control de 80 pacientes con resultados citológicos de Papanicolaou en ausencia de anomalías. En ambos grupos se obtuvo muestras del cérvix y vagina para determinar cualitativamente la presencia de aminos biogénicas mediante la prueba de amina (KOH 10%) e investigar a través de un examen en fresco, la presencia de células clave. Un resultado positivo en ambas pruebas fue considerado diagnóstico de VB. Asimismo se obtuvo información de factores de riesgo por medio de una encuesta aplicada durante una entrevista. La

prueba de amina fue positiva en 63 por ciento de los casos (47/75) y en 20 por ciento de los controles (16/80) ($p < 0.0001$) resultados similares fueron observados cuando se comparó la frecuencia de VB en ambos grupos, donde el 60 por ciento de los casos con NIC (45/75) y el 19 por ciento de los controles (15/80) se encontró asociado a vaginosis bacteriana. Respecto a la presencia de células clave no se encontró ninguna diferencia estadísticamente significativa entre el grupo de casos (67/75) y el grupo control (68/80).

Estos hallazgos permiten suponer que la presencia de amina (OR= 6.71 IC= 3.38-13.3) al igual que la vaginosis bacteriana (OR= 6.50 IC= 2.97-14.42), pueden estar asociadas con un riesgo 6.5 veces mayor de desarrollar NIC, por lo que se recomienda se realicen estudios que permitan confirmar la importancia de estos eventos como factores de riesgo en el desarrollo de cáncer del cuello uterino.

II. INTRODUCCION

Numerosos estudios epidemiológicos han establecido una asociación positiva entre carcinoma de cérvix y múltiples factores sociales interdependientes, relacionados con el bajo nivel socioeconómico de la población (1).

Dentro de los factores de riesgo para esta neoplasia se han descrito varios entre ellos: multiparidad, edad temprana de embarazo, contacto sexual a temprana edad, múltiples compañeros sexuales, descargas vaginales, enfermedades de transmisión sexual y principalmente la exposición al virus de papiloma humano (VPH) siendo los tipos 16, 18, 31, 33 y 35, los de mayor prevalencia (1-3).

En Guatemala el carcinoma de cérvix es la neoplasia más frecuente en el sexo femenino, desafortunadamente el mayor porcentaje se encuentra en estadios avanzados II-III (74%) principalmente, afectando a la población entre edades de 25-59 años (77%) (4).

A pesar de tener el estudio citológico de Papanicolaou como método de detección temprana de carcinoma de cérvix, el cáncer sigue siendo un problema de salud en nuestro medio y que por diferentes razones impiden detectar estadios tempranos los cuales son altamente curables.

También se ha tratado de considerar como otro factor de riesgo a la vaginosis bacteriana, en donde mediante la bio-

síntesis de poliaminas (putrecina, cadaverina) por los microorganismos, podría estimular la proliferación y crecimiento de tumores, tal como se ha observado en otros tejidos como colon, recto y pulmón (5-8).

La vaginosis bacteriana afecta a la mayoría de mujeres en algún momento de su vida, siendo aproximadamente 34 por ciento motivo de consulta en mujeres fértiles (entre 15-50 años de edad). Su diagnóstico puede confirmarse con la prueba de aminas y observación microscópica de células clave.

En el presente estudio se trató de investigar la presencia de aminas biogénicas y vaginosis bacteriana en pacientes con neoplasia intraepitelial de cérvix, mediante la selección de un grupo de pacientes con diagnóstico histopatológico y otro grupo control sin patología cervical consideradas normales.

Se utilizó para la detección de vaginosis bacteriana la reacción de aminas y observación microscópica de células clave en frotos en fresco, la cual es una prueba rápida, de bajo costo y confiable.

III. ANTECEDENTES

A. EPIDEMIOLOGIA DE LA NEOPLASIA INTRAEPITELIAL DE CERVIX

Diversos estudios han establecido una asociación positiva entre carcinoma de cérvix y múltiples factores sociales interdependientes. Se ha observado el mayor número de casos en mujeres multíparas, asociado a otros factores como: edad temprana de embarazo, relaciones sexuales a temprana edad, así como múltiples parejas sexuales los cuales aumentan la probabilidad de padecer Neoplasia Intraepitelial de Cérvix (NIC) y cáncer de cérvix (1,2,9).

El carcinoma de cérvix es raro en monjas y su incidencia es baja en mujeres judías, se cree que la circuncisión en los hombres judíos tiene un efecto protector en relación a que el esmegma en los no circuncidados desempeña un papel en la carcinogénesis (1).

En los últimos años el factor masculino en la epidemiología de esta lesión ha suscitado gran interés y el hecho de que el carcinógeno puede ser transmitido a través del coito, sitúa a la mujer dentro de un riesgo elevado por su pareja sexual.

Como se puede observar, son factores múltiples los interrelacionados en el cáncer de cérvix dentro de los cuales se describen en general (2,10):

1. Relaciones sexuales a temprana edad (antes de los 20

- años).
2. Numerosas parejas sexuales
 3. Multiparidad
 4. Nivel socioeconómico bajo

Sin embargo el conocimiento de la génesis y desarrollo del carcinoma invasivo se ha incrementado en los últimos años, así como también la detección y la interrelación del virus de papiloma humano (VPH) como agente etiológico determinante en NIC y carcinoma invasivo (11) , por lo que se ha considerado como una enfermedad de transmisión sexual (1,3,12-14)._

En la literatura mundial la tasa de mayor incidencia de carcinoma de cérvix está entre 48-55 años con un promedio de 53:8 y una media -de 51.5 años. La mayor incidencia de carcinoma IN SITU ocurre entre 25-40 años (9).

En Guatemala el carcinoma de cérvix según el registro nacional de cáncer para 1992, es la neoplasia mas frecuente en general en el sexo femenino, afectando a los grupos de edad entre 25-59 años (77%) siendo la tasa de mayor incidencia de 30-40 años, además los estadíos II y III son los que se presentan con mayor frecuencia (74%). En relación al tipo histológico el carcinoma de células escamosas representa el 78 por ciento (4).

Topográficamente los cinco departamentos más frecuentes en orden descendente son: Guatemala (292 casos), Escuintla (70 casos), Quetzaltenango y Suchitepéquez (43 casos), Jutiapa (42 casos) y San Marcos (39 casos) respectivamente (4).

B. VIRUS DE PAPILOMA HUMANO

A mediados de la década de 1970 Sur Hausen sugirió que el VPH era un posible candidato considerado como agente de transmisión sexual, en aquella década Meisels publicó una serie de artículos que describían una nueva lesión condilomatosa de cérvix inducida por el virus, estas investigaciones comprobaron su presencia en neoplasia intraepitelial de cérvix.

Meisels y Fortuni fueron los primeros en demostrar la alta frecuencia de VPH en 1976 y la asociación del virus con cáncer de cérvix. Richart observó que el carcinoma de cérvix estaba relacionado con VPH en 90-95 por ciento de los casos y en un 90 por ciento en los casos con NIC (1,9).

Mediante diferentes técnicas incluyendo la hibridización del virus se han determinado más de 60 serotipos diferentes de VPH, algunos de ellos participan de manera importante en el desarrollo de carcinoma de cérvix.

Los tipos 6 y 11 se han encontrado en 90-100 por ciento de lesiones benignas y 25 por ciento en lesiones

precancerosas y muy raramente en lesiones cancerosas dos por ciento. En 90 por ciento de los carcinomas IN SITU o invasores se han encontrado los tipos 16, 18, 31, 33 y 35, de éstos el 50-80 por ciento corresponden a los tipos 16 y 18 prevaleciendo con más frecuencia el tipo 16 (3,12-18).

La integración del ADN viral en el genoma celular puede ser un paso importante en el desarrollo de la enfermedad.

Se sabe que los VPH 6, 11, 16 y 18 se encuentran en estado episomal y en forma productiva en las lesiones benignas y precancerosas; los VPH 16 y 18 se encuentran en forma no productiva e integrados al genoma celular en las células cancerosas (19-21).

Esto parece indicar que la integración de los tipos 16 y 18 está relacionada con el proceso de malignización de las células normales a la progresión tumoral (22,23).

C. PATOLOGIA DE LA ENFERMEDAD

Neoplasia intraepitelial de cérvix (NIC) encuadra todas las anormalidades epiteliales del cuello uterino, es decir las células epiteliales son malignas pero están confinadas al epitelio. El NIC se divide en 3 grados: NIC I, NIC II, NIC III; esto según la extensión de la observación en la estratificación celular del epitelio. El criterio histológico para el diagnóstico de NIC depende de los

hallazgos de aneuploidía nuclear, figuras mitóticas anormales y una pérdida de la maduración normal del epitelio (1).

En el NIC I los dos tercios superiores del epitelio (superficial) aunque muestran algunas anomalías nucleares, han sufrido diferenciación citoplásmica, las células en el tercio inferior no presentan evidencias de diferenciación citoplásmica o de maduración normal, las figuras mitóticas son escasas y si están presentes son normales.

En el NIC II las modificaciones normales del NIC I abarcan los dos tercios inferiores del epitelio.

En el NIC III se observan cambios en todo el espesor del epitelio con células no estratificadas indiferenciadas, el pleomorfismo nuclear es común y las figuras mitóticas son anormales (1).

El tiempo de transición del NIC en años promedio es el siguiente:

1. Normal a NIC leve o moderado (1.62 años promedio)
2. Normal a NIC Moderado o Grave (2.20 años promedio)
3. Normal a Carcinoma IN SITU (4.51 años promedio)

D. MANIFESTACIONES CLINICAS

En las neoplasias intraepiteliales de cérvix (NIC) regularmente no se encuentran signos o síntomas tempranos por

lo tanto se requieren estudios de tamizaje para detectar precozmente a estas lesiones y aunque se han sugerido diferentes técnicas de detección, durante muchos años la técnica del Frote de Papanicolaou (PAP) es la más económica, efectiva y de fácil aplicación (1,9,10).

El Papanicolaou debe ser efectuado al mismo tiempo que se realiza un examen rutinario ginecológico. El propósito del mismo es prevenir el desarrollo de cáncer cervical invasor; el examen con PAP ha demostrado una disminución en la mortalidad por cáncer de cérvix (1,9). Es de hacer notar que cualquier síntoma que la paciente tenga como flujo vaginal sugiere problema coexistente a investigar.

El carcinoma invasivo temprano puede producir un flujo vaginal o sangrado vaginal sobre todo post-coital. Cuando el tumor es más extenso la descarga vaginal serosanguinolenta o purulenta es más profusa y el sangrado puede ocurrir intermitentemente y se da en gran volumen.

El dolor es uno de los últimos síntomas en cáncer de cérvix y son raros los casos relacionados a tracto urinario o recto (9,10). El dolor bajo de la pelvis puede ser asociado a inflamación crónica, necrosis tumoral o ambos, el dolor de la cadera o miembros inferiores pueden resultar de compresión de nervios lumbosacros por la masa tumoral grande u obstrucción uretral (9). En la enfermedad avanzada la frecuencia o urgencia urinaria, hematuria, tenesmo rectal y sangrado

rectal puede ser debido a invasión directa de la vejiga o recto (1,9,10).

E. DIAGNOSTICO

La facilidad del acceso al cuello de cérvix para el estudio de las células y los tejidos, y para el examen físico directo ha permitido una investigación exhaustiva de la naturaleza de las lesiones malignas que allí se asientan.

Los precursores preinvasivos pueden existir en una fase reversible o estable de la enfermedad superficial o IN SITU durante varios años a pesar que esto puede ser cambiante en algunos pacientes.

En base al estudio efectuado en Canada por Walton (1970), se confirmó que el carcinoma cervical es un problema que podía ser resuelto y que se prestaba para los programas de detección. Actualmente existen datos convincentes de que los programas de detección son eficaces para reducir la mortalidad por carcinoma de cérvix y probablemente disminuyan su incidencia (1,9,10), de allí que el examen ginecológico y PAP de las pacientes es importante en la mujer sexualmente activa.

En 1976 Walton en su estudio identificó dos grupos de riesgo para el cáncer de cérvix. Un grupo de bajo riesgo que incluía mujeres que nunca habían tenido actividad sexual

durante su vida, con histerectomía por enfermedad no maligna y quienes tenían arriba de 60 años (24).

El grupo de alto riesgo eran mujeres sexualmente activas, con múltiples parejas sexuales, con relaciones sexuales a temprana edad y multíparas. De allí surgieron diversos estudios y no es sino hasta 1988 que la Sociedad Americana del Cáncer, el Colegio Americano de Obstetras y Ginecólogos concluyeron recomendando lo siguiente: "Todas las mujeres que tienen actividad sexual deben tener un PAP y examen pélvico anual, después de tres o más PAP consecutivos anualmente normales el examen debe efectuarse menos frecuentemente o según lo indique su médico" (9).

Es así como se considera al frote de Papanicolaou un método confiable, rápido y fácil de efectuar para la detección temprana de cáncer de cérvix. Para su interpretación en 1973 la Organización Mundial de la Salud estableció los lineamientos y terminología para su reporte.

Así también en 1988 el Instituto Nacional de la Salud describió una nueva terminología denominada Sistema BETHESDA (9,25) en donde se incluyen 3 principales características: estimación de un frote adecuado, caracterización del frote como normal o anormal y un diagnóstico descriptivo. En general han sido 4 los sistemas de reporte del PAP los que se han descrito (Tabla 1).

Se ha reportado que el test de PAP tiene un 8-50

Tabla 1

Nomenclatura de Citología Cervical

CLASIFICACION			
PAPANICOLAOU	OMS	NIC	BETHESDA
Clase I	Normal		Reactivo a cambios reparativos
Clase II	Atípico		Reactivo a cambios reparativos
Clase III	Displasia		Lesión intraepitelial escamosa
	Displasia leve	NIC I	Bajo grado (incluye VPH)
	Displasia moderada	NIC II	Alto grado
	Displasia severa	NIC III	Alto grado
Clase IV	Carcinoma IN SITU	NIC III	Alto grado
Clase V	Carcinoma células escamosas invasivo /adenocarcinoma		Carcinoma células escamosas. Anormalidades de células glandulares (adenocarcinoma/ carcinoma no epitelial)

Fuente: De Vita V, Hellman S, Rosenberg S. Cancer Principles and Practice of oncology. 4ed. Philadelphia: J.B Lippincott Company. 1993; 1171p.

por ciento de falsos negativos (9) lo cual puede ser debido a una inadecuada técnica en la obtención y fijación del frote, personal no capacitado para teñir e interpretar los mismos.

Hay que tener en consideración que el frote citológico cervical de PAP no es un recurso diagnóstico sino una forma de detección, el diagnóstico final se basa en la biopsia del tejido. Por consiguiente el PAP es válido como método de tamizaje en la detección de neoplasia intraepitelial de cérvix.

La toma de muestra para el frote de Papanicolaou debe efectuarse en la unión escamocolumnar del cérvix, donde se originan la mayoría de lesiones y en la muestra se debe evaluar el epitelio ectocervical como el endocervical.

Los resultados de los estudios recientes sobre el origen y el comportamiento del NIC preinvasor, hacen que sea necesario un nuevo enfoque de los métodos para evaluar a la paciente con PAP anormal.

La colposcopia fue introducida por Hans Hinselman en 1925 (Hamburgo-Alemania) como resultado de sus esfuerzos por encontrar un método práctico para el examen minucioso y amplio del cuello uterino.

Al comienzo de la década de 1930 se introdujo en Estados Unidos sin obtener auge y aceptación, abandonándose como método diagnóstico. El interés por la colposcopia se reanudó

en la década de 1950 y a inicio de 1960 fue aceptándose con lentitud. En las últimas décadas el procedimiento ha ganado una amplia difusión y es considerado como auxiliar de las pruebas citológicas anormales (1,9,24).

La colposcopia se basa en el estudio de la zona de transformación del epitelio cervical. Esta zona es el área del cuello uterino que inicialmente estaba cubierta por epitelio cilíndrico, el cual a través de un proceso denominado metaplasia es reemplazado por epitelio escamoso.

Este proceso de transición del epitelio cilíndrico a escamoso probablemente ocurre durante toda la vida de la mujer, siendo mas activo durante el desarrollo fetal, adolescencia y primer embarazo.

Se ha mejorado y simplificado la clasificación de los hallazgos colposcópicos cuyos términos son: epitelio blanco, el mosaico, puntilleo o base, los cuales anuncian el epitelio atípico (NIC), y los vasos atípicos más comúnmente asociado a carcinoma invasor. El mayor valor de la colposcopia reside en que guía la biopsia para obtener un diagnóstico más preciso (1).

Si la colposcopia es inadecuada y la paciente tiene un PAP con células malignas o displasia, o si la lesión se extiende hacia arriba en el conducto, más allá de la visualización del colposcopista, deberá efectuarse una

conización diagnóstica, esta consiste en la remoción de una porción de tejido de cuello uterino en forma de cono, en donde se incluye toda la zona de transformación y así poder obtener el diagnóstico final mediante el estudio anatomopatológico (1,9) y decidir el tipo de tratamiento en la paciente.

F. VAGINOSIS BACTERIANA

1. Historia

En 1955 Gardner y Dukes publicaron un artículo clínico epidemiológico sobre vaginosis, describiendo un nuevo organismo al cual denominaron Haemophilus vaginalis, agente causal de una nueva vaginosis, llamándola vaginosis a H. vaginalis. Describieron las características clínicas de esta enfermedad la que se caracterizaba por una descarga vaginal homogénea, grisácea, olor desagradable y pH entre 5.5 y 6.0, ausencia de Lactobacillus y presencia de células clave (26,27).

Los descubrimientos de Gardner y Dukes fueron importantes en definir la enfermedad clínica y su asociación con éste último organismo. Sin embargo fallaron en la apreciación de la complejidad microbiológica de la vaginosis bacteriana reportada por diversas investigaciones en los años 70s, cuando técnicas de aislamiento microbiológicas

anaeróbicas fueron ampliamente utilizadas. Es ahora evidente que una variedad de anaerobios conjuntamente con H. vaginalis son asociados con vaginosis bacteriana.

Numerosos estudios sobre vaginosis bacteriana fueron publicados entre 1961 y 1977, en donde pacientes con síntomas vaginales presentaron H. vaginalis con menor frecuencia y pacientes asintomáticas tenían H. vaginalis más frecuentemente en relación a lo descrito con anterioridad por Gardner y Dukes. Estos datos crearon confusión en relación a la asociación de H. vaginalis con vaginosis bacteriana, lo cual culmina con un reporte de McCormack y colaboradores que concluye que no hay relación entre H. vaginalis y flujo vaginal anormal (26,28,29).

Durante este período de ambigüedad la taxonomía de este organismo cambia de H. vaginalis a Corynebacterium vaginae y posteriormente éstos son designados hasta el presente como Gardnerella vaginalis en honor al Dr. Garner (26,30).

Mediante la utilización de medios de cultivo selectivos se aisló G. vaginalis en 98-100 por ciento de mujeres con vaginosis bacteriana, sin embargo en personas normales sin evidencia de vaginitis o cervicitis se aisló también en un 40-50 por ciento (26,31,32).

El nuevo término de vaginosis bacteriana, presenta una diversidad microbiológica vaginal, otras bacterias, así como también G. vaginalis se encuentran involucradas en la

enfermedad clínica, enfatizando en un olor característico como principal síntoma de la paciente.

Vaginitis implica un incremento del infiltrado leucocitario en el estroma vaginal. Recuentos altos de leucocitos vaginales no son descubiertos en personas con vaginosis bacteriana, a menos que otras formas de vaginitis o cervicitis se encuentren presentes.

Mediante técnicas anaeróbicas se identifican especies de Bacteroides, incluyendo B. melaninogenicus, B. disiens y especies de Mobiluncus, Peptostreptococcus y Mycoplasma hominis, especies asociadas con vaginosis bacteriana (26,31,32).

Bacterias anaeróbicas fueron recuperadas en alta frecuencia y concentración en pacientes con vaginosis bacteriana.

Con el tiempo mediciones indirectas del metabolismo anaeróbico fueron efectuadas. Estas mediciones indirectas incluían estudios con cromatografía de gas líquido en descargas vaginales, estableciendo la presencia de ácidos orgánicos. En pacientes con una descarga vaginal normal predominó la producción de ácido láctico por Lactobacillus.

Pacientes con vaginosis bacteriana no solo carecían de ácido láctico sino que presentaron una variedad de ácidos orgánicos, probablemente producidos por anaerobios.

Aminas de varios tipos fueron identificadas en flujos

vaginales de personas con vaginosis bacteriana. éstas aminas fueron no solo producidas por el metabolismo de G. vaginalis sino también por la combinación de varias bacterias (26).

Hoy en día se han identificado varias infecciones relacionadas con vaginosis bacteriana, entre ellas infecciones del tracto genital superior como: endometritis post- parto, infecciones post -cesárea, infecciones ginecológicas post-histerectomía. La prematuridad puede ocurrir hasta tres veces más comúnmente en pacientes con vaginosis bacteriana, como también se le ha asociado a infecciones del fluido amniótico (26).

Todos los reportes necesitan confirmación posterior y dilucidación, pero está bien establecido el principio de la enfermedad infecciosa en relación a la concentración de microorganismos descubiertos en pacientes con vaginosis bacteriana los cuales serán potencialmente infectantes a tejidos adyacentes.

2. Epidemiología de Vaginosis bacteriana

Desafortunadamente así como en la precisión clínica y microbiológica se carece de poca literatura mundial sobre vaginosis bacteriana, un segundo problema es la interpretación de datos de prevalencia de reportes epidemiológicos que carecen de una descripción clara de la

población estudiada, muchos de estos grupos no son homogéneos ni representativos de una población. A pesar de lo anterior se pueden identificar factores de riesgo que han sido asociados a la enfermedad:

a. Raza

Gardner y colaboradores descubrieron un porcentaje alto de vaginosis bacteriana en negros comparado con pacientes blancos (29% vrs 19%). Lewis y Obrien notaron similar diferencia (37% vrs 26%) (33).

McCormack y colaboradores descubrieron que la raza no blanca estaba significativamente asociada a colonización por G. vaginalis y en otro estudio realizado por Gravett y colaboradores de 534 mujeres con vaginosis bacteriana diagnosticada, 17 por ciento eran mujeres blancas y 25 por ciento de raza negra (29,34).

b. Embarazo Previo

Gravett y colaboradores (34) reportaron una historia previa de aborto espontáneo significativamente más frecuente en mujeres embarazadas con vaginosis bacteriana en relación a mujeres embarazadas sanas. McCormack (29) reportó una historia de embarazo significativamente asociada a colonización con G. vaginalis.

c. Actividad Sexual

Aparentemente algunos estudios reportan que la vaginosis bacteriana es transmitida sexualmente (33) sin embargo esto no es concluyente ya que otros (32,33) descubrieron porcentajes idénticos de vaginosis bacteriana (23%) en prostitutas y una población de colegialas en Seattle.

Recientemente se concluyó que la vaginosis bacteriana puede no ser considerada una enfermedad de transmisión sexual ya que se observó vaginosis bacteriana en 15 por ciento de 68 adolescentes sexualmente activas y 12 por ciento de 52 adolescentes vírgenes (35).

d. Técnicas Contraceptivas

Existe una alta asociación entre dispositivos intrauterinos (DIU) con vaginosis bacteriana 18.8 por ciento en relación a 5.4 por ciento de pacientes sin DIU ($p < 0.001$) (33). Otros trabajos han apoyado esta observación (33,36) demostrándose una asociación entre bacterias anaeróbicas gram negativo con el uso del DIU y flujo vaginal asintomático, existen muchos reportes en relación a este antecedente y han demostrado diferencias estadísticamente significativa (33,36,37).

3. Microbiología de la Vaginosis Bacteriana

Múltiples especies y subespecies, como Gardnerella, bacilos gram negativo anaeróbicos, Peptostreptococcus, Mycoplasma genital, se encuentran significativamente incrementados en mujeres con vaginosis bacteriana, así también especies de Mobiluncus se han observado en un 0-97 por ciento en mujeres con esta enfermedad (31,38,39).

Otras bacterias como Mycoplasma hominis (58-76%) y Ureaplasma urealyticum (62-92%) han sido aislados de pacientes con vaginosis bacteriana.

G. vaginalis se ha encontrado presente en mujeres con vaginosis bacteriana en un rango de 45-95 por ciento (31,32,39). Diphtheroides, Staphylococcus coagulasa negativo y Streptococcus se han aislado en bajas concentraciones, así como también bacilos gram negativo se han detectado en un 25 por ciento (14).

Cocos anaerobios gram positivo son muy prevalentes en mujeres con vaginosis bacteriana, usualmente más de una especie. Las especies más comunes son Peptostreptococcus asaccharolyticus, Peptostreptococcus prevotti y Peptostreptococcus anaerobius (14).

Entre los bacilos gram negativo anaerobios podemos encontrar a Prevotella bivia, Prevotella disiens, Bacteroides ureolyticus, Bacteroides capillosus, Bacteroides melaninogenicus. Los bacilos gram positivo anaerobios son más comunes (73%), encontrando las especies Eubacterium,

Lactobacillus y Mobiluncus (40-97%) (31,38,39).

Hemos observado que pueden ser diversos los microorganismos relacionados con vaginosis bacteriana y que su importancia primaria radica en que los patógenos son oportunistas y responsables de muchas infecciones del tracto genital femenino, no de tipo venéreo, que se desarrollan principalmente cuando las defensas del hospedero se encuentran alteradas.

4. Diagnóstico de Vaginosis Bacteriana

La vaginosis bacteriana microbiológicamente se caracteriza por reemplazo de la microbiota vaginal, predominantemente Lactobacillus por Gardnerella vaginalis, especies de Bacteroides, especies de Mobiluncus y Mycoplasmas.

Se ha utilizado el cultivo vaginal para el diagnóstico de estas especies, encontrándose que es un método sensible, pero tiene un valor predictivo menor del 50 por ciento para G. vaginalis por lo que no se recomienda (40).

En 1983 Spiegel (41) modificó los criterios del frote de Gram para vaginosis bacteriana, que incluye la descripción de G. vaginalis y otras bacterias. Posteriormente otros estudios reportaron que el 62-97 por ciento de mujeres con signos clínicos de vaginosis bacteriana tenían un frote de gram relacionado con la enfermedad, determinándose

que tiene una sensibilidad del 62-100 por ciento y un valor predictivo positivo del 76-100 por ciento (40,41).

El frote de Papanicolaou se ha utilizado como examen rutinario, reportándose una sensibilidad de 90 por ciento y especificidad de 97 por ciento, sin embargo existe el inconveniente de que no siempre se pueden observar las células clave, por lo que Sharon L. (40) menciona que el PAP para el diagnóstico de vaginosis bacteriana es menos específico que el Gram.

El examen microscópico en fresco con solución salina es utilizado para determinar la presencia de células epiteliales escamosas cubiertas con pequeños organismos cocobacilares, denominadas células clave, que son asociadas con vaginosis bacteriana.

El examen se basa en la suspensión del fluido vaginal en solución salina, la cual es observada microscópicamente para determinar la presencia de células clave en no menos del 20 por ciento de la totalidad de células epiteliales vaginales, lo cual constituye una prueba positiva (42).

Un estudio reportó que más del 90 por ciento de pacientes con vaginosis bacteriana presentaron células clave.

El valor predictivo de la presencia de células clave a causa de la presencia de vaginosis bacteriana fue de 85 por ciento (43).

La prueba de Deoxyribonucléico (oligonucleótido) es más

específica y sensitiva a detectar bajas y altas concentraciones de bacterias. Esta prueba se basa en el recuento microbiológico de unidades formadoras de colonias (UFC) por mililitro de fluido vaginal, siendo su sensibilidad de 94 por ciento y especificidad del 81 por ciento para el diagnóstico de vaginosis bacteriana. Es una prueba rápida y útil cuando a través del examen microscópico no se puede valorar el diagnóstico de vaginosis bacteriana, tiene la ventaja de ser objetiva y no requiere de un eficiente microscopista (40).

Algunos métodos de diagnóstico de vaginosis bacteriana se basan en la detección de productos metabólicos de los microorganismos en el flujo vaginal de mujeres con la enfermedad. Una de la principales características clínicas es la presencia de un olor a pescado o amina, lo cual esta asociado con las diaminas, putrescina y cadaverina. Los organismos específicos responsables de la producción de aminas son desconocidos pero puede ser producido por una combinación de bacterias anaerobias y *G. vaginalis* en pacientes con vaginosis bacteriana (40,44).

El ácido succínico, acetato y otros ácidos orgánicos de cadena corta pueden ser detectados (40,44) y correlacionados con cromatografía de gas en el flujo vaginal (32,40,44) comprobándose una sensibilidad de 54-90 por ciento y especificidad de 80-96 por ciento. Otros

ensayos colorimétricos para la detección de prolina aminopeptidasa se han efectuado en fluidos vaginales, reportándose 74 por ciento de sensibilidad y 85 por ciento de especificidad. Las sialidasas (neuroamidasa) detectadas colorimétricamente, son enzimas producidas por Bacteroides bivius, Bacteroides disiens, Bacteroides fragilis y 20 por ciento de G. vaginalis. Esta enzima se ha detectado en 84 por ciento de mujeres con vaginosis bacteriana y parece ser una enzima útil para el seguimiento después de algún tipo de tratamiento por esta enfermedad (40).

En conclusión el examen de laboratorio para el diagnóstico de vaginosis bacteriana debe ser simple de efectuar, con un número menor de pasos y que tenga excelente sensibilidad y especificidad, así como también ser reproducible y objetivo.

Los más amplios criterios aceptados para el diagnóstico de vaginosis bacteriana incluyen tres de los cuatro criterios siguientes: un pH vaginal mayor de 4.5, la presencia de células clave en el fluido vaginal, una descarga vaginal homogénea lechosa y el desprendimiento de un olor a amina (olor a pescado) después de la adición de hidróxido de potasio al diez por ciento en los fluidos vaginales (40).

Es de hacer notar que la interpretación de estos signos puede ser difícil, ya que factores no relacionados con la

infección pueden elevar el pH y enmascarar el olor a amina, estos incluyen reciente menstruación, grandes cantidades de moco cervical. Además la detección del olor a amina depende de la habilidad para reconocerlo. El hallazgo de células clave es un predictor de vaginosis bacteriana, esto dependerá de la calidad del microscopio, de la obtención de una adecuada muestra y la experiencia del observador.

G. AMINAS BIOGENICAS

Las poliaminas son un grupo de cationes orgánicos con una cadena corta alifática, entre ellas podemos encontrar a la putrecina, cadaverina, metilamina, isobutinina, feniletilamina, estas aminas han sido motivo de estudio ya que se cree que su presencia en fluidos vaginales es un factor importante en la patogénesis de vaginosis bacteriana, la cual en algunos casos se encuentra asociada con algún grado de neoplasia intraepitelial de cérvix.

La putrecina proviene de la descarboxilación de ornitina que en unión a un aminopropil conduce a la formación de espermidina y espermina.

Estos procesos son catalizados por ornitina descarboxilasa (ODC), S-adenosinmetionina descarboxilasa y poliamina sintetasa. La biosíntesis de enzimas es un proceso exclusivamente intracelular y prevalecen en estados de rápida

proliferación celular, mientras el proceso de interconversión ocurre en la circulación y dentro de los tejidos (6,7,45,46).

Un sistema de transporte activo en la célula se encuentra presente y mantiene los niveles de poliaminas intracelular, cuando el crecimiento celular está restringido por inhibidores, competidores o carencia de factores de crecimiento un aumento de poliaminas ocurre en algunas líneas celulares.

Las propiedades de las poliaminas son observadas y representadas especialmente por la espermidina y espermina, un reciente estudio considera a la putrecina como un precursor de la poliamina biológicamente activa y un producto de excreción (7), pudiendo tener el mismo efecto fisiológico.

Estas poliaminas estimulan el crecimiento celular y su función como inhibidores de otras síntesis, como la alfa-difluorometilornitina (DFMO) y metilglioxal -bis-guanilhidrazona (MGBG), considerados como agentes que previenen o retardan la proliferación tumoral, queda establecida. Concentraciones elevadas de espermidina se han encontrado en sistemas celulares de ratones con una alta actividad mitótica, así mismo concentraciones elevadas de espermina se han detectado en diferentes tejidos.

La correlación de estas poliaminas con proliferación celular ha alentado a considerar el uso de las mismas como

marcador de crecimiento neoplásico. Estudios efectuados han confirmado la presencia de elevadas concentraciones de poliaminas en tejidos tumorales como colon, recto y pulmón, por lo que estas aminos pueden ser un indicador del grado de actividad proliferativa (6-8,47,48).

La putrecina también se ha encontrado elevada durante el desarrollo tumoral y en muchas células neoplásicas. Se ha observado que su síntesis se puede inhibir mediante la administración de sustancias que bloquean la inducción de la ornitina descarboxilasa, como los retinoides o inhibidores directos de esta enzima como la alfa-difluorometilornitina (6,7) experimentalmente ésta se ha utilizado para prevenir la formación de tumores en varios sistemas como: colon, recto, tracto gastrointestinal y vejiga (6,7,49-51). Este bloqueador en combinación con otras sustancias como retinoides, butilato hidroxianisol, tamoxifén, piroxicán y aceite de pescado pueden tener un efecto aditivo o de sinergismo actuando como agentes quimiopreventivos.

IV. JUSTIFICACION

En nuestro medio la enfermedad neoplásica más frecuente en la población femenina es el Cáncer de cérvix, la cual puede ser detectada tempranamente mediante tamizaje con estudio citológico de Papanicolaou. Sin embargo, a pesar de tener al alcance este método de detección sigue siendo un problema de salud de relevancia explicable por: el nivel de cobertura de los sistemas de salud, el nivel cultural, la idiosincracia y costumbres de nuestra población.

En diversos estudios se ha demostrado que en el desarrollo de esta enfermedad están involucrados múltiples factores entre ellos: multiparidad, edad temprana de embarazo, contacto sexual a temprana edad, múltiples compañeros sexuales, enfermedades de transmisión sexual principalmente la infección por el Virus de Papiloma Humano (VPH), siendo este último el más importante; sin embargo se ha reportado que la vaginosis bacteriana podría ser un factor más en el desarrollo de neoplasia de cérvix (2,5), por lo que el objetivo del presente estudio fue establecer la relación entre Vaginosis Bacteriana (VB) y Neoplasia Intraepitelial de Cérvix (NIC).

V. OBJETIVOS

GENERAL

Investigar la presencia de aminas biogénicas en fluidos vaginales y la frecuencia de vaginosis bacteriana en pacientes con Neoplasias Intraepiteliales del Cérvix (NIC) y en un grupo control.

ESPECIFICOS

1. Determinar la presencia de aminas biogénicas en fluidos vaginales.
2. Correlacionar la presencia de NIC con vaginosis bacteriana.
3. Contribuir al conocimiento de la enfermedad de Cáncer de cérvix.

VI. HIPOTESIS

La vaginosis bacteriana y la prueba de aminas biogénicas es tres veces más frecuente en pacientes con Neoplasia Intraepitelial de Cérvix (NIC) que en pacientes sanos.

VII. MATERIALES Y METODOS

A. UNIVERSO DE TRABAJO

Se efectuó un estudio de casos y controles en una población femenina que asistió a la Clínica de la Mujer de la Asociación Pro-Bienestar de la Familia de Guatemala (APROFAM)

Muestra: Se seleccionó una muestra de trabajo de 150 pacientes, dentro de los cuales 75 correspondieron a casos de pacientes con un diagnóstico histopatológico de Neoplasia Intraepitelial del cérvix de algún grado (NIC) y un grupo control de 80 pacientes sin patología neoplásica.

B. MEDIOS

1. Recursos Humanos:

Autora de la Investigación: Br. Rosa María Chew De León.

Asesor: Lic. Gerardo Arroyo.

2. Recursos Institucionales:

Clínica de la Mujer de la Asociación Pro-Bienestar de la Familia de Guatemala (APROFAM).

Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Escuela de Química Biológica.

3. Recursos Materiales:

a. Equipo:

Microscopio

Centrífuga

Camilla

b. Materiales:

Espéculos

Tubos de ensayo de 10 ml.

Portaobjetos

Cubreobjetos

Hisopos estériles

Pipetas pasteur

Guantes estériles

c. Reactivos:

Solución salina estéril

Solución de KOH al diez por ciento

C. PROCEDIMIENTO

1. Recolección de muestras:

Para la selección de los pacientes se definieron criterios de inclusión y exclusión tanto para los casos como para los controles los cuales fueron los siguientes:

a. Criterios de Inclusión para casos:

- Mujeres sexualmente activas 18-45 años.
- Diagnóstico histopatológico de Neoplasia Intraepitelial del cuello uterino (NIC) de algún grado.
- Sin tratamiento previo con Metronidazole en el último mes.
- Cualquier nivel socioeconómico.
- No embarazadas.

b. Criterios de Exclusión para casos:

- Mujeres no comprendidas entre 18-45 años.
- Diagnóstico no confirmado de Neoplasia Intraepitelial Cervical.
- Paciente con diagnóstico de carcinoma epidermoide invasivo.
- Tratamiento con metronidazole en el último mes.
- Mujeres embarazadas.

c. Criterios de Inclusión para Controles:

- Mujeres sexualmente activas de 18-45 años.
- Papanicolaou sin anormalidades epiteliales.
- Sin tratamiento previo con metronidazole en el último mes.
- Cualquier nivel socioeconómico.

De acuerdo a los criterios de inclusión y de exclusión a las pacientes se les llenó una boleta de recolección de datos (anexo 1) y se obtuvo con un hisopo estéril una muestra del endocervix y otra de la vagina para el análisis microscópico de células clave en frotos en fresco y una prueba cualitativa para la determinación de aminas.

2. Procedimiento y análisis de las muestras e interpretación de resultados:

a. Análisis microscópico de células clave:

- Se rotularon tubos de ensayo en correlación con el número de muestra.
- Se colocaron 0.5 ml de solución salina estéril a cada tubo.
- Se introdujo en el tubo la muestra obtenida con hisopo estéril.
- Se agitó la muestra para obtener una mezcla homogénea.
- Se centrifugó por 5 minutos a 3500 rpm.
- Se decantó el sobrenadante.
- Se colocó una gota de sedimento en un portaobjetos.
- Se colocó un cubreobjetos y se observó al microscopio.

- Interpretación:

La célula clave se observó como una célula escamosa poligonal cubierta por bacterias. Para considerarse positiva las células clave debieron estar presentes en no menos del 20 por ciento de la totalidad de células escamosas.

b. Prueba cualitativa para la determinación de aminas:

- Con hisopo estéril se tomó la muestra.
- Directamente se agregó a la muestra una gota de KOH al diez por ciento.
- Se percibió a través del olfato el aroma que desprendió la reacción.

- Interpretación:

Una prueba positiva fue aquella que presentó un olor a pescado.

3. Análisis Estadístico:

Para la determinación del tamaño de muestra se tomaron en cuenta cuatro valores que fueron:

$$f = 0.30$$

$$R = 3$$

$$\text{alfa} = 0.05$$

$$\text{beta} = 0.10$$

Donde:

f = Frecuencia relativa

R = Riesgo relativo

alfa = El nivel de significancia deseado

beta = El nivel de error tipo II deseado.

Usando los valores especificados para f, R, alfa y beta como parámetros, el tamaño de la muestra que se requirió según tablas de Schlesselman fue $n = 73$.

Se calculó:

a. Razón de Productos cruzados (OR):

$$OR = \frac{a/b}{c/d} = \frac{a \times d}{b \times c}$$

b. Fracción etiológica o riesgo atribuible a la población (RAP):

$$RAP = \frac{Pe (OR - 1)}{Pe (OR - 1) + 1}$$

c. Razón de Incidencias (RI):

$$RI = \frac{a / (a + c)}{b / (b + d)}$$

d. Diferencia de Incidencias (DI):

$$DI = a / (a + c) - b / (b + d)$$

e. % Riesgo atribuible (%RA):

$$\%RA = \frac{DI}{a / (a + c)} \times 100$$

f. Intervalos de confianza:

Límite bajo: OR $1-(z/x)$

Límite alto: OR $1+(z/x)$

VIII. RESULTADOS

La población en estudio consistió en 155 pacientes de la Clínica de la Mujer de la Asociación Probienestar de la Familia de Guatemala (APROFAM) que asistieron de lunes a viernes durante los meses de marzo y abril de 1998. De éstos 75 correspondieron a casos con diagnóstico histopatológico de neoplasia intraepitelial de cérvix y un grupo control de 80 pacientes sin patología neoplásica.

Se estableció en el presente estudio que el NIC I fue el más frecuentemente observado con 54.66 por ciento de casos, siguiéndole en orden de frecuencia NIC II con 32 por ciento y NIC III con 13.34 por ciento como se observa en la tabla siguiente:

Tabla No. 1 Resultados de Biopsia para los casos de Neoplasia Intraepitelial de Cérvix.

Diagnóstico	No. de casos	%
NIC I	41/75	54.66
NIC II	24/75	32.00
NIC III	10/75	13.34

A cada paciente se le determinó la presencia de aminas biogénicas mediante la prueba de aminas (KOH 10%) y la presencia de células clave a través de un examen microscópico en fresco, obteniéndose los resultados esquematizados en las siguientes tablas:

Tabla No. 2 Resultados de Laboratorio para el grupo de casos y controles.

Análisis	No.casos	%	No.controles	%
Aminas positivo	47/75	63.00	16/80	20.00
Células clave	67/75	89.33	68/80	85.00
Aminas positivo/ células clave	45/75	60.00	15/80	19.00

Tabla No. 3 Asociación de Vaginosis Bacteriana con Neoplasia Intraepitelial del Cérvix

Variable	OR	IC 95%	p
Aminas	6.71	3.38 - 13.3	<0.0001*
Células clave	0.68	0.23 - 1.94	0.57
Vaginosis Bacteriana	6.50	2.97 - 14.4	<0.0001*

OR= Razón de productos cruzados

*= Diferencia estadísticamente significativa

La prueba de amina fue positiva en 63 por ciento de los casos y en 20 por ciento de los controles. Resultados similares fueron encontrados cuando se comparó la frecuencia de VB en ambos grupos. Respecto a la presencia de células clave no se encontró diferencia estadísticamente significativa.

Mediante la boleta de recolección de datos se obtuvieron diferentes factores de riesgo para el desarrollo de Neoplasia Intraepitelial de cérvix, así como también antecedentes médicos referidos por la paciente relacionados con esta enfermedad, que se presentan en las siguientes tablas:

Tabla No. 4 Distribución del Inicio de Vida Sexual Activa para el grupo de casos y controles.

Inicio de vida sexual activa (años)	No. casos	%	No. controles	%
15 o menos	24	32.00	13	16.25
16 - 20	40	53.33	48	60.00
21 - 25	11	14.67	15	18.75
26 - 30	00	00.00	4	5.00
TOTAL	75	100.00	80	100.00

Se observa que la mayor frecuencia se encuentra en el rango de 16-20 años (53.33%) en el grupo de casos con NIC, mientras que en el grupo control, en ese mismo rango de edades se obtuvo un 60 por ciento.

Tabla No. 5 Distribución del Número de Compañeros sexuales para el grupo de casos y controles.

Compañeros sexuales	No. casos	%	No. controles	%
0 - 1	44	58.67	53	66.25
2 - 3	30	40.00	23	28.75
4 - 5	1	1.33	4	5.00
TOTAL	75	100.00	80	100.00

Se trató de establecer la asociación entre número de compañeros sexuales y neoplasia intraepitelial de cérvix, no encontrando diferencia estadísticamente significativa.

Tabla No. 6 Distribución del Número de Gestas para el grupo de casos y controles.

Gestas	No. casos	%	No. controles	%
0 - 1	10	13.33	12	15.00
2 - 3	22	29.33	39	48.75
4 - 5	21	28.00	26	32.50
6 - 7	9	12.00	2	2.50
8 - 9	7	9.33	0	0.00
10 o más	6	8.00	1	1.25
TOTAL	75	100.00	80	100.00

Se observó que el 29.33 por ciento (22 casos) tuvieron de 2 a 3 embarazos en el grupo de casos con NIC y en el grupo control representó el 48.75% (39 casos). Por consiguiente similares resultados se obtuvo en relación al número de partos. Sin embargo el porcentaje de pacientes con más de 6 gestas y partos fue mayor en el grupo de casos (29.33%) que en el grupo control (3.75%).

Tabla No. 7 Distribución del Número de Partos para el grupo de casos y controles.

Partos	No. de casos	%	No. controles	%
0 - 1	13	17.33	17	21.25
2 - 3	24	32.00	45	56.25
4 - 5	21	28.00	16	20.00
6 - 7	8	10.67	1	1.25
8 - 9	4	5.33	0	0.00
10 o más	5	6.67	1	1.25
TOTAL	75	100.00	80	100.00

El análisis estadístico representado en la siguiente tabla, resume los resultados obtenidos para edad y antecedentes Gineco-obstétricos y su asociación con neoplasia intraepitelial de cérvix, en ambos grupos.

Tabla No. 8 Antecedentes Gineco-Obstétricos en casos y controles

Variable	Casos		Controles		p
	Promedio	DS	Promedio	DS	
Edad (años)	34.2	8.05	32.00	6.42	0.085
IVSA (años)	17.5	2.89	18.80	3.66	0.023 *
CS	1.5	0.73	1.50	0.82	0.243
G	4.7	3.30	3.05	1.93	0.0009*
P	4.1	2.92	2.66	1.83	0.0007*

IVSA= Inicio de vida sexual activa

CS = Compañeros sexuales

G = Gestas

P = Partos

* = Diferencia estadísticamente significativa

Se observó que hay diferencia estadísticamente significativa en las variables de Inicio de vida sexual activa (p 0.023), número de gestas (p 0.0009) y número de partos (p 0.0007) respectivamente. Es de hacer mención que el estado civil, nivel socioeconómico y número de compañeros sexuales, no evidenció tener asociación con algún grado de NIC en el presente estudio.

Respecto a los antecedentes médicos referidos por las pacientes como: leucorrea, hemorragia vaginal, dispareunia y sangrado post-coito, únicamente éste último mostró tener una

diferencia estadísticamente significativa ($p = 0.000243$) relacionada con neoplasia intraepitelial de cérvix comparado con el grupo control, estos resultados pueden resumirse en la tabla siguiente:

Tabla No. 9 Antecedentes Médicos de casos y controles.

Sintoma	No. casos	%	No. controles	%
Leucorrea	59/75	78.67	57/80	71.25
Hemorragia vaginal	10/75	13.33	8/80	10.00
Dispauremia	41/75	54.57	31/80	38.75
Sangrado Post-coito	16/75	21.33	3/80	3.75 *

* $p = 0.000243$

Además se determinó que dentro de los diferentes métodos de control familiar utilizados, el dispositivo intrauterino (DIU) fue referido en un 18.67 por ciento (14/75) en el grupo de casos y en un 7.5 por ciento (6/80) en el grupo control.

Estos hallazgos sugieren que el uso de DIU ($OR = 4.36$ $p = 0.0079$), podría estar asociado con neoplasia intraepitelial de cérvix en el presente estudio.

Otros microorganismos causantes de infecciones vaginales

como Candida sp. y Trichomonas vaginalis fueron detectados, obteniendo los resultados de la siguiente tabla:

Tabla No. 10 Frecuencia de Candida sp. y Trichomonas vaginalis para el grupo de casos y controles.

Microorganismo	No. casos	%	No. controles	%
<u>Candida</u> sp.	4/75	5.33	2/80	2.50
<u>T. vaginalis</u>	2/75	2.66	0/80	0.00

Como puede observarse en este estudio se encontró una frecuencia baja de estos microorganismos.

IX. DISCUSION DE RESULTADOS

En Guatemala el carcinoma de cérvix es la neoplasia más frecuente en el sexo femenino, siendo el grupo de edad comprendido entre 25-59 años (77%) el más afectado y la tasa de incidencia entre 30-40 años, según el Registro Nacional de Cancer (4) para el cáncer de cérvix. No se encuentra establecida la incidencia de Neoplasia Intraepitelial de Cérvix (NIC) a nivel nacional, sin embargo en el presente estudio se observó que el NIC I fue el más frecuente con 54.66 por ciento, seguido de NIC II con 32 por ciento y NIC III 13.34 por ciento respectivamente.

Estos resultados pueden muy bien deberse al tiempo de progresión de la enfermedad, no todas las pacientes con NIC I progresan hacia formas más graves de NIC o a un carcinoma invasor.

Cuando se realizan biopsias, especialmente si la lesión es pequeña, se puede interrumpir el curso de la enfermedad mediante diversas formas de tratamiento (1), probablemente esto explique la mayor frecuencia de NIC I como lesión más tempranamente detectada.

Respecto a la presencia de aminas biogénicas y vaginosis bacteriana (VB) en pacientes con neoplasia intraepitelial de cérvix, se determinó que la prueba de amina fue positiva en 63 por ciento de los casos (47/75) y en 20 por ciento de los

controles (16/80), con una diferencia estadísticamente significativa $p < 0.0001$, así mismo la frecuencia de VB fue de 60 por ciento (45/75) para el grupo de casos con NIC y 19 por ciento para el grupo control (15/80) con una $p < 0.0001$.

Ambos resultados evidenciaron que la presencia de aminas biogénicas (OR= 6.71) y vaginosis bacteriana (OR= 6.5) se encontraron asociados a un riesgo de 6.5 veces mayor de desarrollar neoplasia intraepitelial de cérvix.

A nivel mundial sólo existe un reporte Escandinavo del año de 1994 donde Platz y colaboradores reportaron que la VB se encuentra asociada con algún grado de NIC ($p < 0.0001$), habiéndose determinado además un riesgo relativo de 5.0 (IC= 2.2-11.6) entre NIC III y vaginosis bacteriana (5). En Guatemala este es el primer estudio de esta naturaleza en donde los resultados son prácticamente similares.

Respecto a la presencia de células clave no se encontró diferencia entre el grupo de casos (89%) y el grupo control (85%). Se sabe que el fluido vaginal normal presenta predominantemente Lactobacillus, con o sin la presencia de G. vaginalis (42). Probablemente algunos de los pacientes del grupo control presentaron un fluido vaginal con flora mixta los cuales pueden desarrollar posteriormente vaginosis bacteriana y ser asintomáticas. La microbiota normal en algunos pacientes pudo encontrarse disminuida predominando ligeramente G. vaginalis sin producir los síntomas

característicos de vaginosis bacteriana.

Por otro lado organismos bacilares largos presumiblemente lactobacilos y cocos presumiblemente estreptococos, pueden adherirse a las células epiteliales y confundirse con verdaderas células clave (43), dando como resultado falsos positivos.

Estos factores pudieron interferir para que en el grupo control se obtuviera un porcentaje de células clave similar al obtenido en el grupo de casos.

Lo expuesto anteriormente viene a determinar que para el diagnóstico de vaginosis bacteriana, es importante establecer no sólo la presencia de células clave, sino que la prueba de amina (KOH 10%) debe ser positiva.

La asociación en este estudio entre VB y algún grado de NIC es relevante por lo que podría considerarse como otro factor de riesgo más para el desarrollo de esta enfermedad, considerando que las aminas biogénicas (putrecina, cadaverina) producida por algunos microorganismos podría estimular la proliferación y crecimiento de tumores como ya se ha demostrado en otros tejidos (5-8). Por lo tanto la ocurrencia de episodios de VB con la consecuente presencia de aminas biogénicas puede de acuerdo a estos resultados explicar de alguna manera la transformación maligna del epitelio del cuello uterino.

Se ha determinado que la VB constituye aproximadamente

el 34 por ciento motivo de consulta en alguna época de la vida en las mujeres comprendidas entre edades de 15-50 años, en Guatemala se desconoce su incidencia pero dada las condiciones socioeconómicas de la población y el nivel educacional podría tratarse de una enfermedad de relevancia mayor de lo esperado (52).

Por otro lado aunque no fue el objetivo principal del estudio se observó que de los diferentes factores de riesgo mencionados en la literatura para el desarrollo de cáncer de cérvix, hubo diferencia estadísticamente significativa para el inicio de vida sexual activa ($p= 0.023$) principalmente entre las edades de 15-20 años; número de embarazos ($p= 0.0009$) y partos ($p= 0.0007$) en donde la mayor frecuencia se encontró a partir de 6 embarazos y partos.

El estado civil, nivel socioeconómico y número de compañeros sexuales, no presentó ninguna diferencia estadísticamente significativa, sin embargo diversos estudios han establecido una asociación entre carcinoma de cérvix y factores de riesgo como: numerosas parejas sexuales y nivel socioeconómico bajo (2,10).

Posiblemente el tamaño de la muestra para las variables: estado civil, nivel socioeconómico y número de compañeros sexuales, no permitió poner en evidencia la asociación encontrada en otros estudios.

Varios tipos de sesgos pueden presentarse en el diseño

de estudios de caso-control, que pueden distorcionar la estimación de cualquier medida epidemiológica. De éstos el más importante de mencionar es el sesgo de información (53,54).

En las neoplasias intraepiteliales de cérvix (NIC) no se encuentran signos o síntomas tempranos. Manifestaciones evidentes como sangrado post-coito son signo de cáncer invasor (10). Sin embargo entre los antecedentes médicos referidos por las pacientes se observó que el sangrado post-coito fue un síntoma referido con significancia estadística importante ($p= 0.000243$), demostrando ser un dato que debe investigarse con estudios que evalúen la asociación entre sangrado post-coito y NIC.

Otros antecedentes médicos referidos por las pacientes como leucorrea y dispareunia no fueron estadísticamente significativos en este estudio, así como también la hemorragia vaginal, la cual es un signo que indica no lesión pre-invasiva sino invasora.

Como dato adicional se pudo determinar que el antecedente del uso de dispositivo intrauterino (DIU) demostró ser un factor de riesgo ($OR= 4.36$ $p= 0.00079$) relacionado con NIC, probablemente explicado por la alta asociación existente entre dispositivos intrauterinos (DIU) con vaginosis bacteriana ($p< 0.001$), así mismo la asociación entre bacterias anaeróbicas gram negativo y flujo

vaginal asintomático (33,36), lo que podría favorecer la biosíntesis de poliaminas y por lo tanto estimular la proliferación y crecimiento de tumores.

Lo anterior conduce a la necesidad de seguir profundizando en estudios que confirmen este hallazgo, para poder establecer el verdadero riesgo entre DIU y NIC.

Con frecuencia las mujeres referidas por Tricomoniasis resistente están mal diagnosticadas y en general se comprueba que el padecimiento real es vaginosis bacteriana.

Así mismo la Candidiasis vulvovaginal recurrente en un gran número de pacientes referidas por ese problema está mal diagnosticada con vaginosis bacteriana.

Por esta razón es importante establecer el diagnóstico correcto con estudios económicos de laboratorio como: pH vaginal, la prueba de amina y el frotis microscópico preparado con solución salina (55).

Rivera y colaboradores (56) determinaron la prevalencia de vaginitis y vaginosis bacteriana en un grupo de mujeres sexualmente activas, obteniendo para Candidiasis (26%), Vaginosis bacteriana (16.5%) y Tricomoniasis (1.7%).

Estos datos difieren de los obtenidos en el presente estudio en donde la frecuencia de Candidiasis y Tricomoniasis fue baja.

Probablemente el diseño estadístico elaborado para esta investigación no fue el adecuado para determinar con

exactitud este otro tipo de variables. Factores como el pH vaginal y el uso de tratamientos previos, probablemente influyeron en la obtención de una frecuencia baja de estos microorganismos.

X. CONCLUSIONES

1. Existe una estrecha relación entre la presencia de aminas, vaginosis bacteriana y neoplasia intraepitelial del cérvix, con un riesgo asociado de al menos 6.5 veces mayor de desarrollar NIC (OR= 6.71 IC= 3.38-13.3).
2. La prueba de aminas fue positiva en 63 por ciento de los casos y en 20 por ciento de los controles.
3. La frecuencia de vaginosis bacteriana fue de 60 por ciento para el grupo de casos con NIC y 19 por ciento para el grupo control.
4. Para el diagnóstico de vaginosis bacteriana es importante establecer no sólo la presencia de células clave, sino que la prueba de aminas (KOH 10%) debe ser positiva.
5. El elevado número de embarazos y partos, así como un inicio temprano de la vida sexual, fueron identificados como factores de riesgo para el desarrollo de NIC.
6. El sangrado post-coito es un síntoma importante asociado con la enfermedad de neoplasia intraepitelial de cérvix.

7. El uso de DIU se encuentra altamente asociado a vaginosis bacteriana, por lo que en este estudio el uso de DIU parece estar relacionado en forma indirecta con un aumento en el riesgo de desarrollar NIC.

XI. RECOMENDACIONES

1. Implementar la prueba de aminas (KOH 10%) y el examen en fresco para la detección de células clave en los laboratorios clínicos y hacer del conocimiento de ginecólogos estos hallazgos con el propósito de que las pacientes con diagnóstico de VB reciban tratamiento médico adecuado y se evite de esta manera la exposición a las aminas biogénicas.
2. Efectuar estudios con otros métodos de laboratorio para comparar las aminas presentes en secreciones vaginales de pacientes sanas contra un grupo infectado con VB.
3. Evaluar la incidencia de VB en Guatemala en una población femenina elegida al azar.
4. Es necesario continuar y profundizar en los estudios que evalúen la relación entre aminas biogénicas y NIC a fin de confirmar los hallazgos del presente estudio.
5. Se recomienda realizar estudios que permitan confirmar la asociación entre uso de DIU y neoplasia intraepitelial de cérvix.

XII. REFERENCIAS

1. Disaia PJ, Creasman WT. Ginecología Oncológica. 3ed. Buenos Aires: Panamericana, 1991. 519 p.
2. Kohler U, Wutte P. Results of case control study of the current effect of various factors on risk of cervix cancer. 1. Factors in reproduction, sex behavior and infectious genital diseases Zentralbl Gynakol 1994; 116(6): 318-324.
3. García A, Gariglio P. Aspectos moleculares de los papilomavirus humanos y su relación con el cáncer cervico-uterino. Rev Inv Chn 1993; 45: 85-92.
4. Registro Nacional del Cáncer. Guatemala; Boletín No. 17-18, 1995. (p. 1-12).
5. Platz JJ; et al. Bacterial vaginosis and cervical intraepithelia neoplasia. Acta Obstet Gynecol Scand 1994; 73(7) : 586-8.
6. Pegg AE, Polyamine Metabolism and Its Importance in Neoplastic Growth and as a target for Chemotherapy. Cancer Research 1988 ; 48, 759-74.
7. Becciolini A; et al. Polyamine Levels in Healthy and Tumor Colon Adenocarcinoma. Dis Colon Rectum 1991; 34(2) : 176-73.
8. Hoet PH; et al. Kinetics and cellular localisation of putrescine uptake in human lung tissue. Thorax 1993,

- 48(12): 167-73.
9. De Vita V, Hellman S, Rosenberg S. Cancer principles and practice of oncology. 4ed. Philadelphia: J.B. Lippincott Company, 1993. 2745 p.
 10. Escuela de Medicina y Odontología. Oncología Clínica. 5ed. New York Estados Unidos: Universidad de Rochester, 1978. 338 p.
 11. Yarbrow J, Bornstein R, Manstrangelo M. Cancer of the cervix and Endometrium. Seminars in Oncology. 1994. 21(1): 1-16.
 12. Stoler M, et al. Small-cell Neuroendocrine Carcinoma of the cervix. Am J Surg Pathol 1991; 15(1): 28-32.
 13. Muñoz N; et al. Human Papilloma Virus in the etiology of Cervicouterine cancer. Bol. Oficina Sanit. Panam. 1993; 115(4): 301-9
 14. Ishi K; et al. Detection of HPV infection in NIC and invasive cancer by in situ hybridization method-comparison with histopathology. Rinsho-Byori 1993; 41(10): 1167-72
 15. Sebbelov AM; et al. Prevalence of HPV in Premalignant and Malignant cervical lesions in Greenland and Denmark: PCR and in situ Hybridization analysis on archival material. Res Virol 1994; 145(2): 83-92
 16. Marin J, Ursic-Vrscaj M, Erzen M. Detection of Human Papillomaviruses (HPV-16,18) in cervical smears by in

- situ hybridization. *Isr J Med Sci* 1994; 30(5-6): 448-50.
17. Artacho E, Roldan R, Salas J, Vaamonde R. Multivariate Discriminant analysis of normal, intraepithelial neoplastic and human papillomavirus infection of the uterine cervix samples. *Histol-Histopathol* 1994; 9(1): 135-40
 18. Czegledy J, Veress G, Konya J, Gergely L. Genital Human papillomavirus (HPV) infection in Hungarian Women. *Acta Microbiol Hung* 1993; 40(2): 115-22
 19. Schwarz E; et al. Structure and transcription of human papillomavirus sequences in cervical carcinoma cells Nature London 1985; 314:111-4
 20. Smotkin D, Wettstein O. Transcription of human papillomavirus type 16 early genes in a cervical cancer and cancer-derived cell line and identification of the E7 protein. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986; 83: 4680-4
 21. Durst M, Kleinheinz A, Hotz M, Gissmann L. The physical state of human papillomavirus type 16 DNA in benign and malignant tumors. *J Gen Vrol* 1985; 66:1515-22
 22. Schneider-Maunoury S. Croissant O, Orth G. Integration of human papillomavirus type DNA sequences: a possible early event in the progression of genital tumors. *J Virol* 1987; 61:3295-8
 23. Zur Hausen H. Intracellular surveillance of persisting

- viral infections. Human genital cancer results from deficient cellular control of papillomavirus gene expression. *Lancet* 1986; ii:489-95.
24. Walton R. Cervical cancer screening Program Epidemiological and natural history of cancer of the cervix. *Can Med Assoc J* 1976; 114:1003.
 25. National Cancer Institute. The 1988 Bethesda System for reporting cervical/vaginal cytologic diagnoses. *Jama* 1989;262-931.
 26. Eschenbach DA, History and review of bacterial vaginosis. *Am J Obstet Gynecol* 1993; 169:441-5.
 27. Gardner HL, Dukes CD. *Haemophilus vaginalis* vaginitis a newly defined specific infection previously classified "Nonspecific Vaginitis". *Am J Obstet Gynecol* 1955; 69:962-76.
 28. Brewer JL, Halpern B, Thomas G. *Haemophilus vaginalis* vaginitis. *Am J Obstet Gynecol* 1957; 74: 834-42.
 29. McCormack WM; et al. Vaginal colonization with *Corynebacterium vaginalae* (*Haemophilus vaginalis*). *J Infect Dis* 1977; 136:740-5.
 30. Hill GB, The microbiology of bacterial vaginosis. *Am J Obstet Gynecol* 1993; 169: 450-4.
 31. Blackwell AL, et al. Anaerobic vaginosis (Nonspecific vaginitis): clinical microbiological and therapeutic findings. *Lancet* 1983; 2: 1379-82.

32. Spiegel CA, et al. Anaerobic bacteria in nonspecific vaginitis. *N Engl J Med* 1980; 303: 601-7.
33. Mead PB. Epidemiology of bacterial vaginosis. *Am J Obstet Gynecol* 1993; 169: 446-9.
34. Gravett MG; et al. Independent Association of bacterial vaginosis and *Chlamydia trachomatis* infection with adverse pregnancy outcome. *JAMA* 1986; 256: 1899-903.
35. Bump RC, Buesching WJ. Bacterial vaginosis virginal and sexually active females: evidence against exclusive sexual transmission. *Am J Obstet Gynecol* 1988; 935-9.
36. Goldacre MJ; et al. Vaginal Microbial flora in normal Young women. *Br Med J* 1979; 1: 1450-3.
37. Amsel R; et al. Nonspecific vaginitis. *Am J Med* 1983; 74: 14-22.
38. Spiegel CA; et al. *Gardnerella vaginalis* and anaerobic bacteria in the etiology of bacterial (Nonspecific) vaginosis. *Scand J Infect Dis Suppl* 1983; 40:41-6.
39. Holst E; et al. Bacterial vaginosis: microbiological and clinical findings. *Eur J Clin Microbiol* 1987; 6:536-41.
40. Hillier SI. Diagnostic microbiology of bacterial vaginosis. *Am J Obstet Gynecol* 1993; 169: 455-9.
41. Spiegel CA, Amsel R, Holmes KK. Diagnosis of bacterial

- vaginosis by direct Gram stain of vaginal fluid. *J Clin Microbia* 1983; 18: 170-7.
42. Holmes KK; et al. Sexually Transmitted Diseases. McGraw-Hill; Inc. USA, 1984. (p.562-65).
 43. Berttina B; et al. Laboratory Methods for the Diagnosis of Sexually Transmitted Diseases. American Public Health Association. Washington, D.C. 1984. (p.156-62).
 44. Brand JM, Galask RP. Trimethylamine: The substance mainly responsible for the fishy odor often associated with bacterial vaginosis. *Obstet Gynecol* 1986; 63: 682-5.
 45. Tabor CW, Tabor H. Polyamine. *Ann Rev Biochem* 1984; 53: 749-90.
 46. Jones BM, et al. The determination of amines in the vaginal secretions of women in health and disease. *Int J Std AIDS* 1994; 5(1): 52-5.
 47. Luk GO, et al. Kinetic Changes in mucosal ornithine decarboxylase activity duryng azoxymethane induced carcinogenesis in the rat. *Cancer Res* 1986; 46 : 4449-52.
 48. Gilmour SK; et al. Regulation of ornithine decarboxylasa gene expression in mouse epidermis and epidermal tumors during two-stage carcinogenesis. *Cancer Res* 1987; 47: 1221-5.
 49. Kingsnorth AN. et al. Inhibition of ornithine

- decarboxylase with 2 difluoromethylornithine: reduced incidence of dimethylhydrazine induced colon tumors in mice. *Cancer Res* 1983; 43: 2545-2549.
50. Nigro ND, Bull AW, Boyd ME. Inhibition of intestinal carcinogenesis in rats effect of difluoromethylornithin with piroxican or oil fish. *J. Natl. Cancer Invest* 1986; 77: 1309-1313.
51. Homma Y; et al. Inhibition of carcinogenesis by difluoromethylornithine in heterotopically transplanted rat urinary bladders. *Cancer Res* 1985; 45: 648-652.
52. Sobel JD. Vaginosis Bacteriana. *Infectología* 1995; 12: 527-30.
53. Correa A, et al. La medida de la exposición en estudios de casos y controles: métodos y recomendaciones registrados en la literatura. *Bol Oficina Sanit Panam* 1996; 120(6): 504-15.
54. Austin H, et al. Limitaciones de la aplicación del método de casos y controles. *Bol Oficina Sanit Panam* 1996; 121(2): 159-71.
55. Sobel JD. Tratamiento de las infecciones vaginales resistentes. *Infectología* 1996; 5: 166-68
56. Rivera LR; et al. Prevalence of bacterial vaginitis and vaginosis: association with clinical and laboratory features and treatment. *Ginecol Obstet Mex* 1996; 64: 26-35.

X. ANEXOS

No. _____

INVESTIGACION DE AMINAS BIOGENICAS Y VAGINOSIS BACTERIANA EN
PACIENTES CON NEOPLASIA INTRAEPITELIAL DE CERVIX.

1.- DATOS GENERALES

Nombre completo _____ Edad _____

Estado Civil: casada _____ soltera _____ viuda _____

Ingreso mensual: <Q1000 _____ Q1000-2000 _____ >Q2000 _____

Nivel socioeconómico: Bajo _____ medio _____ alto _____

Profesión u oficio _____

2.- ANTECEDENTES PERSONALES MEDICOS

1 2 3 4 5
IVSA _____ CS: _____ G: _____ P: _____ AB: _____

Flujo: _____ color _____ olor _____

Prurito vaginal _____ Hemorragia vaginal _____

Sangrado post-coito _____ Dispauremia _____

Mal olor al contacto con jabón _____

Tratamientos previos: _____ local _____ oral _____

No. último mes _____ 6 meses _____ 1 año _____ 5 años _____

Nombre del tratamiento: _____

Método control familiar: _____

3.- EXAMEN GINECOLOGICO

a.- Síntomas clínicos (Flujo vaginal):

Leucorrea _____ Prurito vaginal _____

Hemorragia vaginal Sangrado post-coito

b.- Hallazgos clínicos:

Presencia de leucorrea Fétida

Color: Blanquecino Amarillento Grisáceo

Verdoso Rosado

4.- RESULTADOS:

Papanicolaou (No.)

Biopsia de Cérvix (No.)

Prueba de amina

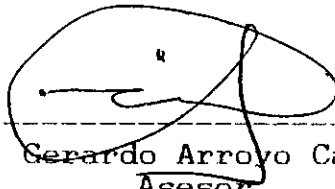
Células clave

Diagnóstico final

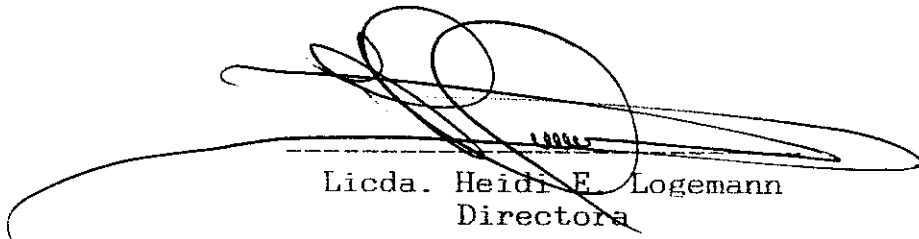
-
- 1 Inicio vida sexual activa
 - 2 Compañeros sexuales
 - 3 Gestas
 - 4 Partos
 - 5 Abortos
-



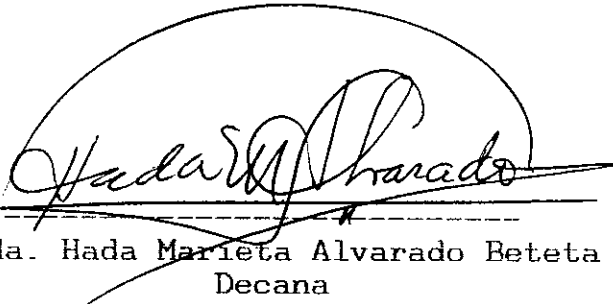
Rosa María Chew De León
Autora



Lic. Gerardo Arroyo Catalán
Asesor



Licda. Heidi E. Logemann
Directora



Licda. Hada Marieta Alvarado Beteta
Decana