

Infección por VPH y su correlación clínica en población indígena de la región altoandina del Ecuador

VPH infection and its clinical correlation in indigenous population of the high andean region of Ecuador

Yenddy Carrero^{1*}, Elizabeth Proaño-Pérez², Fernanda Vásquez³, Alex Armijos¹, Carmen Viteri-Robayo², Alicia Zavala-Calahorrano¹

¹Universidad Técnica de Ambato, Facultad de Ciencias de la Salud, Carrera de Medicina

²Universidad Técnica de Ambato, Facultad de Ciencias de la Salud, Carrera de Laboratorio Clínico

³Hospital Canto a la Vida Padre Carollo. Post Grado Medicina Familiar Universidad Católica del Ecuador.

*Autor de Correspondencia: Yenddy Carrero, E-mail: yenddy carrero@yahoo.es

Resumen

El cáncer cervico-uterino (CaCu) constituye un problema de salud pública. Estudios epidemiológicos han identificado una estrecha relación entre el CaCu y la infección por el virus del papiloma humano (VPH). El objetivo del estudio fue realizar la detección molecular de VPH, identificación de infecciones mixtas y el tamizaje de CaCu a través de un estudio transversal a 189 mujeres entre 21 a 65 años pertenecientes a la comunidad de Pilahuin-Provincia del Tungurahua a las cuales se les realizó detección molecular de VPH y citología convencional. Los resultados fueron analizados con los programas EPI INFO y SPSS. Resultados: La edad promedio de las participantes fue de 35,2 años, en relación estable, multíparas, con un nivel medio, bajo de instrucción, sin trabajo remunerado. El 100% de las participantes presentó una actitud favorable frente a la citología cervico-uterina sin mostrar relación con la edad, nivel de instrucción o estado civil. El 10,5% de las participantes presentaron infección por VPH y un 70% de las pacientes presentaron inflamación severa con una asociación positiva a infección bacteriana mixta.

Palabras clave: Papilomavirus, cáncer, Papanicolaou, epidemiología, PCR, citología.

Abstract

Cervical-uterine cancer (CaCu) is a public health problem. Epidemiological studies have identified a close relationship between CaCu and human papillomavirus (HPV) infection. The purpose of this study was to perform the molecular detection of HPV, identification of mixed infections and the screening of CaCu through conventional cytology in an indigenous population of the high Andean highlands of Ecuador in order to correlate the data obtained with the presence of lesions. Methodology: A cross-sectional study was carried out on 189 women between the ages of 21 and 65; who belonged to the community of Pilahuin in the province of Tungurahua, who assisted to gynecological check-ups. Data

were analyzed with the EPI-INFO and SPSS statistical programs. Results: the average age of the participants was 35.2 years, most of the participants identified themselves as indigenous, in a stable relationship, multiparous, with a medium to low level of education and no paid work. The participants showed a favorable attitude towards the cervico-uterine cytology in 100% of the cases without showing a relation with age, level of education or civil status. HPV infection was positive in 10.5% of the participants, 70% of the patients had severe inflammation with a positive association with mixed bacterial infection.

Keywords: Papillomavirus, cancer, Papanicolaou, epidemiology, PCR, Citology

Introducción

El cáncer cérvico-uterino constituye un problema de salud pública alrededor del mundo, anualmente se diagnostican cerca de 500.000 casos y mueren alrededor de 250.000 mujeres por esta causa (1,2) aproximadamente el 83% de casos y muertes ocurren en países en desarrollo (2). Empleando métodos de tamizaje en mujeres asintomáticas, junto con un diagnóstico, tratamiento y seguimiento apropiado, la enfermedad invasora es totalmente prevenible y curable, a un bajo costo y con un bajo riesgo; sin embargo, los programas de prevención en América Latina y el Caribe han tenido poco o ningún éxito (3-5). El cáncer cérvico-uterino no solo afecta a mujeres en el final de su vida reproductiva, sino a mujeres jóvenes de 20 y 30 años en un 21% (6-8).

El principal agente involucrado con la génesis del cáncer cérvico-uterino es el virus del Papiloma humano (VPH) que pertenece a la familia *Papillomaviridae* (1). Existe un sin número de genotipos del VPH las cuales se han clasificado en dos grupos según su potencial oncogénico y la capacidad para infectar las mucosas del aparato genital (7, 9). Los de alto riesgo: 16,18,31,33,35,39,45,51,52,56,58,59,68,73 y 82 (6, 10, 11), los cuales poseen un papel importante en el proceso de carcinogénesis a través de la expresión de sus oncoproteínas E6 y E7 y las cepas de bajo riesgo: 6,11,40,42,43,44,54,61,70,72 y 81 (12-13). De allí la importancia de los

estudios epidemiológicos y moleculares que permitan conocer la prevalencia real en la población ya que en muchos casos cursa asintomática.

La incidencia del cáncer de cuello uterino en Ecuador según datos presentados en el Registro Nacional de tumores 2014 (10) es de 29 por cada 10 mil mujeres y de 14,4 por cada 100 mil. La incidencia presentada por Provincias y ciudades más prevalentes: Quito: 35,6 por cada 100 mil; Loja: 34,1 por cada 100 mil; Guayaquil: 22,3 por cada 100 mil; Cuenca: 21,3 por cada 100 mil; El Oro: 18,8 por cada 100 mil; y Manabí: 14 por cada 100 mil. En el Ecuador se calculan cerca de 1.200 nuevos casos por año y alrededor de 400 defunciones.

Según datos del Instituto Nacional de Estadística y Censos (INEC) en el 2012, 664 mujeres fallecieron por cáncer de cuello uterino en el país(10). De acuerdo con la Sociedad de Lucha contra el cáncer SOLCA en Ambato se realizaron 21.440 citologías de los cuales 429 fueron anormales que corresponde al 1,18% (10).

Existen algunos datos en el país que muestran la prevalencia y características de las pacientes con esta enfermedad. En Guayaquil en el año 2010 se reportó que un 59,1% de las pacientes con carcinoma in situ de cuello uterino, correspondían al grupo etario 65-69 años (7). En el 2012 se reportó que el tumor maligno uterino no especificado ocupaba el cuarto lugar entre las 5 principales causas de mortalidad en esta ciudad (8), mientras que la

mortalidad por cáncer cérvico-uterino, fue del 5,6% con relación al 14,5% del cáncer de mama (9).

En la provincia de Tungurahua en los años 1997 al 2003 se llevó a cabo un estudio por parte del Hospital de SOLCA de Ambato sobre las características clínico-epidemiológicas del cáncer uterino. Se registraron 500 casos nuevos, de los cuales 358 (71,6%) fueron cáncer invasor (10). La edad promedio de las participantes fue de 57 años (rango: 26 - 96 años), el carcinoma *in situ* se presentó en pacientes con un promedio de edad de 44 años (rango: 21 - 83 años) siendo el 28,4% de la muestra total. El cantón Baños presentó la mayor incidencia de cáncer *in situ* (CIS) e invasor; el 78% de los casos ocurren en pacientes analfabetas o con baja escolaridad, en edad productiva y que son el soporte económico de sus familias (10). Se llegó a la conclusión de que la pobreza es el principal factor causal para el cáncer de cérvico-uterino (10).

Pilahuin es una parroquia ubicada en la Provincia de Tungurahua a 3.100 a 4.200 msnm. El clima es frío moderado con una temperatura media anual de 7°C con variaciones diarias de 2°C a 12°C. La población corresponde a 13.424 habitantes de los cuales el 90% se identifica con la etnia indígena y el 10 % con la mestiza (14). Esta población vive en estado de pobreza, con un nivel de educación bajo y su principal actividad económica es la agricultura, cuenta con un subcentro de salud tipo A. No existe dato alguno acerca de la mortalidad y la morbilidad del cáncer cérvico-uterino en las mujeres de Pilahuin y mucho menos datos sobre la prevalencia del virus del Papiloma Humano, de allí la importancia de este estudio.

Material y Método

Población: Se incluyeron 189 pacientes de la comunidad indígena de

Pilahuin con edades comprendidas entre 21 y 65 años de edad. A cada paciente se les realizó una historia clínica, en la cual se obtuvieron datos socio demográficos, clínicos y ginecológicos, tomando en cuenta las pautas establecidas por la Asociación Médica Mundial (AMM) a través de la promulgación de la Declaración de Helsinki como una propuesta de principios éticos para investigación médica en seres humanos, así mismo se contó con la aprobación de un Comité de Bioética avalado por el Ministerio de Salud Pública del Ecuador (MSP).

Se realizó el examen físico, el cual incluyó inspección de genitales externos y colocación del espéculo para la visualización del cuello uterino, se tomó una muestra para Papanicolaou e identificación de infecciones bacterianas y micóticas. Seguidamente, se tomó la muestra de exudado cervical para determinar la presencia de VPH utilizando un *citobrush*, a nivel de la zona de la lesión y su alrededor aparentemente sana además de la zona de transición en la unión escamo columnar. Las muestras se almacenaron a -20°C hasta su procesamiento.

La extracción del DNA se realizó siguiendo las instrucciones del kit Purelink® Genomic DNA Kit de la casa comercial Invitrogen, se cuantificó la concentración del DNA determinando la absorbancia a 260 y 280 nm en un NanoDropND-2000C (Thermo Fisher Scientific, Inc.) y se estandarizó la técnica empleando la DreamTaq Green PCR Master Mix de Thermo Fisher Scientific y 100 ng del DNAC, tomando en cuenta el protocolo descrito por Sotlar (15).

Para el análisis estadístico se emplearon los programas EPI-INFO y SPSS Statistics Estándar Edition 22 en el cual se realizaron tablas cruzadas tomando en cuenta las características de la población, infecciones bacterianas/

micóticas, positividad a infección por VPH y el resultado citológico, además de ji-cuadrado para establecer el nivel de significancia con un nivel de confianza del 95%.

Resultados

Del total de pacientes incluidas en el estudio (n=20) pacientes resultaron positivas para infección por VPH; de las cuales el 100% presentaron alteraciones citológicas.

La Tabla 1 presenta los datos relacionados al diagnóstico citológico y la identificación molecular del VPH en pacientes atendidas en la comunidad de

Pilahuin. Es importante señalar que solo dos citologías reportaron células coilocíticas sugestivas de infección por VPH que se corresponden con dos pacientes diagnosticadas con NIC I y ASCUS (células escamosas atípicas de significado indeterminado), representando el 10% del total de pacientes positivas que infiere un subdiagnóstico de casos a través de la citología.

Se observó una asociación estadísticamente significativa entre la presencia de VPH y la infección con la flora bacteriana identificada con un nivel de significancia del 5% $P_{20, 0,005} = 0.001$. (Tabla 2)

Tabla 1. Distribución de pacientes de acuerdo al diagnóstico citológico e identificación molecular de VPH

Etnia	Técnica Diagnóstica			
	Citología		PCR	
	Negativo	Alterada	Negativo	Positivo
Indígena	10	179	169	20
Total	189		189	

Tabla 2. Pacientes VPH positivas de acuerdo al diagnóstico citológico y coinfección

Resultado citológico	<i>Candida albicans</i>	Flora bacteriana +	Flora bacteriana+ <i>Candida</i>	<i>Gardnerella vaginalis</i>	Total
Inflamatorio moderado	0	2	0	1	3
Inflamatorio severo	1	12	3	0	15
NIC I	0	1	0	0	1
Ascus	0	0	0	0	1
Total	1	15	3	1	20

No se observó asociación significativa entre VPH e infecciones con *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum*, *Trichomonas vaginalis*, *Gardnerella vaginalis*, *Candida sp.* posiblemente por el tamaño de la muestra.

No se encontró significancia estadística en la caracterización de la población infectada en relación con datos epidemiológicos obtenidos a través de la historia clínica. Sin embargo, se determinaron algunos factores de riesgo relacionados con la predisposición a

infección por VPH: el 60% de los participantes manifestó no utilizar métodos anticonceptivos y adicionalmente el 100% no utiliza métodos de barrera. El 50% de las pacientes incluidas en el estudio tienen relaciones sexuales semanales, mientras que el 30% de las pacientes diagnosticadas VPH positivas tienen relaciones sexuales ocasionales, 50% iniciaron las relaciones sexuales antes de los 18 años y no se encontró relación entre la paridad y hábitos como el tabaco y el alcohol.

Discusión

En el Ecuador, no se tiene una caracterización epidemiológica del VPH, sin embargo, en los últimos años se han incrementado el número de estudios que emplean la detección de VPH en diferentes zonas del país. En un estudio realizado por Magûes y cols. (16), el genotipo 16 fue el mayormente detectado, igualmente un estudio en el 2016 reportó que este genotipo es el de mayor prevalencia en la ciudad de Quito, seguido del genotipo 58 (17). En un estudio reciente realizado por Aguilar y cols. (18) en 2017 muestran que los genotipos 16 y 18 son considerados como los más frecuentes seguido del 58. A pesar de este incremento sustantivo en el número de estudios, no existen datos de la prevalencia en la población urbana e indígena de la Provincia de Tungurahua.

Sin embargo, existen estudios que han reportado lesiones producidas por VPH en mujeres de la población indígena de la amazonia suramericana brasileña y boliviana en un 29% de las mujeres; sin embargo, en el presente estudio en la población indígena se evidencia un 10,58% de infección por VPH.(4)

Es importante señalar que algunos médicos toman en cuenta solo el diagnóstico citológico, el cual en algunos casos reporta células coilocíticas

sugestivas de VPH, en este estudio se evidenció un subregistro de casos ya que solo en el 10% del total de pacientes diagnosticadas molecularmente por el virus se reportó diagnóstico sugestivo por VPH. Por lo tanto, se considera necesario incluir métodos diagnósticos más específicos en el sistema de salud pública nacional.

Guiliano y cols. (19) sugieren que en pacientes que presentan coinfección con flora bacteriana mixta existe un aumento de riesgo a desarrollar CaCu, además de influir en la respuesta inflamatoria asociada a la generación de radicales libres y el desarrollo de inestabilidad genética. Sin embargo, aún no se encuentra claro el mecanismo por el cual la coinfección favorece el desarrollo de infecciones por VPH en mujeres(20). Finalmente, determinar la asociación entre infecciones resulta importante en la población, ya que impone que frente a la detección de la presencia de uno de estos agentes se debería evaluar la presencia del otro.

La pobreza de la región, el analfabetismo más acentuado en las mujeres de la población indígena(9,21), la falta de educación preventiva sobre el cáncer cérvico-uterino, desconocimiento de los medios de contagio, del control gineco-obstétrico(14) y las ventajas que aportan los diferentes métodos diagnósticos tales como la citología y las técnicas biomoleculares han permitido evidenciar la presencia de esta enfermedad (22,23). En consecuencia, datos sobre esta patología permitirán evidenciar la realidad del cáncer cervical en áreas con mayor población indígena en el Ecuador. Adicionalmente, fomentar el tamizaje y detección oportuna de lesiones que preceden al cáncer cervical. Estos resultados constituyen datos preliminares, ya que se genotipificarán y secuenciarán las muestras a fin de definir

las características filogenéticas del virus circulante en esta población.

Agradecimientos

Los autores desean expresar su agradecimiento a los estudiantes que conforman la Red de Estudiantes Investigadores FCS, Distrito de Salud 18-Do2 Ambato, personal del Subcentro de Salud y comunidad de Pilahuin. Este trabajo fue financiado por la Dirección de Investigación y Desarrollo de la Universidad Técnica de Ambato a través del proyecto 0452-CU-P-2016.

Referencias Bibliográficas

1. Bosch F, Manos M, Munoz N, Sherman M, Jansen AM, Peto J, et al. Prevalence of Human Papillomavirus in Cervical Cancer: A Worldwide Perspective. *Journal of the National Cancer Institute*. 1995; 87(11):796-802.
2. Vaccarella S, Bray F. Epidemiology and Burden of Disease Associated with HPV Infection. *Current Obstetrics and Gynecology Reports* 2015; 4(4):181-8.
3. Roldós M, Bustamante V. Consensus of Clinical Practices and Associated Costs to Diagnose and Treat Genital Warts Caused By Human Papilloma Virus (HPV) In Ecuador: Results From A Panel Of Experts. *Value in health: The Journal of the International Society for Pharmacoeconomics and Outcomes Research*. 2015; 18(7): A833.
4. Moore S, Forman D, Piñeros M, Fernández S, Oliveira Santos M, Bray F. Cancer in indigenous people in Latin America and the Caribbean: a review. *Cancer Medicine*. 2014; 3(1):70-80.
5. Nwanodi O. Attitudes towards Human Papilloma Virus Vaccination in the Latin American Andean Region. *Healthcare*. 2017; 5(3):55.
6. Sykes P, Gopala K, Tan AL, Kenwright D, Petrich S, Molijn A, et al. Type distribution of human papillomavirus among adult women diagnosed with invasive cervical cancer (stage 1b or higher) in New Zealand. *BMC infectious diseases*. 2014; 14(1):374.
7. Paez C, Konno R, Yaegashi N, Matsunaga G, Araujo I, Corral F, et al. Prevalence of HPV DNA in Cervical Lesions in Patients from Ecuador and Japan. *The Tohoku Journal of Experimental Medicine*. 1996; 180(3):261-72.
8. Mejia L, Muñoz D, Trueba G, Tinoco L, Zapata S. Prevalence of human papillomavirus types in cervical cancerous and precancerous lesions of Ecuadorian women. *Journal of Medical Virology*. 2016; 88(1):144-52
9. Cecchini G, Paganini G, D'Amico M, Cannone M, Bertuletti C, Barberis MCP. Cervical cancer screening programs in low-income communities. Experiences from Ecuador. Low cost detection of HPV infection in a developing country. *Pathologica*. 2009; 101(2):76.
10. Cueva P, Yépez J; Eds. *Epidemiología del cáncer en Quito 2006-2010*. Registro Nacional de Tumores. 15 ed. Quito: Sociedad de Lucha Contra el Cáncer. SOLCA Núcleo de Quito; 2014.
11. Zhao J, Guo Z, Wang Q, Si T, Pei S, Wang C, et al. Human papillomavirus genotypes associated with cervical precancerous lesions and cancer in the highest area of cervical cancer mortality, Longnan, China. *Infectious Agents and Cancer*. 2017; 12(1).

12. de Sanjose S, Retrospective International S, Group HPVITS. Human papillomavirus genotype attribution in invasive cervical cancer: a retrospective cross-sectional worldwide study. *The lancet oncology*. 2010; 11(11):1048-56.
13. García M, García R, Burgos G, Carpio FA. Genotypes distribution of human papillomavirus in cervical samples of Ecuadorian women. *Revista Brasileira de Epidemiologia*. 2016; 19(1):160-6.
14. Aguilar P, González C, Rodríguez A, Páez K, Arévalo A, Bobokova J. Prevalence of High-Risk Genotypes of Human Papillomavirus: Women Diagnosed with Premalignant and Malignant Pap smear Tests in Southern Ecuador. *Infectious Diseases in Obstetrics and Gynecology*. 2017; 2017.
15. Sotlar K, Diemer D, Dethleffs A, Hack Y, Stubner A, Vollmer N, et al. Detection and Typing of Human Papillomavirus by E6 Nested Multiplex PCR. *Journal of Clinical Microbiology*. 2004; 42(7):3176-84.
16. Magûes M, Guillermo L. Genotipificación del virus del papiloma humano mediante secuenciación y PCR cuantitativa en tiempo real y detección de variantes intratípicas por análisis fitogenético (B.S. thesis). 2015 Recuperado a partir de <http://www.dspace.espol.edu.ec/xmlui/handle/123456789/29767>
17. Mejia L, Muñoz D, Trueba G, Tinoco L, Zapata S. Prevalence of human papillomavirus types in cervical cancerous and precancerous lesions of Ecuadorian women. *Journal of Medical Virology*, 2016; 88(1), 144-152.
18. Aguilar P, González C, Córdoba Rodríguez A, Arevalo A, Bobokova J. Prevalence of High-Risk Genotypes of Human Papillomavirus: Women Diagnosed with Premalignant and Malignant Pap Smear Tests in Southern Ecuador. *Infectious Diseases in Obstetrics and Gynecology* 2017; 2017, Article ID 8572065. <https://doi.org/10.1155/2017/8572065>
19. Giuliano A, Nyitray A, Kreimer A, Pierce Campbell C, Goodman M, Sudenga S, et al. EUROGIN 2014 roadmap: Differences in human papillomavirus infection natural history, transmission and human papillomavirus-related cancer incidence by gender and anatomic site of infection. *International Journal of Cancer*. 2015; 136(12):2752-60.
20. Camargo M, Soto-De Leon S, Sanchez R, Perez-Prados A, Patarroyo M, Patarroyo M. Frequency of Human Papillomavirus Infection, Coinfection, and Association with Different Risk Factors in Colombia. *Annals of Epidemiology*. 2011; 21(3):204-13.
21. Naranjo D, Naranjo S. Plan de desarrollo turístico comunitario para la parroquia Pilahuin, cantón Ambato provincia de Tungurahua. Tesis previa a la obtención del Título de Economista. Carrera de Economía. Quito: (2014) UCE. 259 p.
22. Ciapponi A, Bardach A, Glujovsky D, Gibbons L, Picconi M. Type-specific HPV prevalence in cervical cancer and high-grade lesions in Latin America and the Caribbean: systematic review and meta-analysis. *PloS one*. 2011; 6(10): e25493.
23. Holme F, Slavkovsky R, Camel C. Implementation of HPV testing in Latin America. *Journal of Clinical Virology*. 2016; 76: S69-S73.