

(Artículo Original)

Papilomavirus humanos y otros factores asociados al desarrollo de lesiones cervicouterinas en mujeres cubanas

Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí", La Habana, Cuba.

MSc. Yudira Soto Brito¹, MSc. Celia María Limia León², DrC. Vivian Kourí Cardellá³, Dr. Adibel Goicolea Maiza⁴, DrC. Virginia Capó de Paz⁵, DrC. Mayra Muné Jiménez⁶.

¹Licenciada en Microbiología, Máster en Virología, Investigador Auxiliar, Profesor Asistente, Vice dirección de Microbiología, Departamento de Virología, Laboratorio de Infecciones de Transmisión Sexual, Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí", La Habana, Cuba. ²Licenciada en Bioquímica y Biología Molecular, Máster en Virología, Vice dirección de Microbiología, Departamento de Virología, Laboratorio de Infecciones de Transmisión Sexual, Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí", La Habana, Cuba. ³Especialista de segundo grado en Microbiología, Doctora en Ciencias, Investigador y Profesor Titular, Vice dirección de Microbiología, Departamento de Virología, Laboratorio de Infecciones de Transmisión Sexual, Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí", La Habana, Cuba. ⁴Especialista de segundo grado en Ginecología y Obstetricia, Investigador Agregado, Profesor Asistente, Hospital Ginecobstétrico "Eusebio Hernández", La Habana, Cuba. ⁵Especialista de segundo grado en Anatomía Patológica, Doctora en Ciencias Superiores, Investigador Titular y Profesor Consultante, Vice dirección de Docencia Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí", La Habana, Cuba. ⁶Licenciada en Bioquímica, Doctora en Ciencias, Investigador y Profesor Titular, Vice dirección de Microbiología, Departamento de Virología, Laboratorio de Biología Molecular, Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí", La Habana, Cuba.

RESUMEN

Objetivo: Determinar la circulación de genotipos de Papilomavirus humanos (PVH) y los factores sociodemográficos, epidemiológicos y clínicos asociados con la presencia de lesiones intraepiteliales cervicales en un grupo de mujeres cubanas.

Materiales y Métodos: Estudio de corte transversal en población femenina de 4 municipios de La Habana. Se incluyeron 519 mujeres entre 15 y 59 años con una citología cervical negativa en los dos años anteriores al estudio. Se les realizó citología cervical y detección de PVH. Para la detección viral se realizó Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) empleando los oligonucleótidos MY09/11. El genotipado se realizó mediante hibridación Dot Blot.

Resultados: El 41,6% de la población estudiada se diagnosticó con citología con citología positiva, de ellas el 58,8% con lesiones de alto grado. En el 66,3% de las mujeres estudiadas se detectó algún tipo de PVH, asociado significativamente con la citología positiva. Se identificaron 30 genotipos diferentes de PVH, con predominio de los genotipos oncogénicos PVH 16 (41,0%), 31 (11,6%) y 18 (10,2%). Los predictores de riesgo para la infección con estos genotipos fueron: el inicio de las relaciones sexuales antes de los 15 años, la menarquía entre 10 y 14 años, el consumo de cigarrillos y de anticonceptivos orales. En mujeres menores de 20 años predominaron las lesiones de alto grado.

Conclusiones: Los resultados del presente estudio apoyan el uso de la vacunación contra PVH y sugiere la realización de investigaciones basadas en estudios virológicos y citológicos en mujeres menores de 25 años.

Palabras clave: papilomavirus humanos; lesiones intraepiteliales; cervicales de alto grado; predictores de riesgo.

INTRODUCCIÓN

Los tumores malignos tienen una tendencia al incremento en todo el planeta y en Cuba existe una situación similar.(1) Se han identificado aproximadamente 120 genotipos de Papilomavirus humanos (PVH), de los cuales cerca de 40 afectan la región anogenital.(2) Se ha demostrado una alta incidencia y estrecha relación entre el cáncer cervicouterino y la presencia de ADN de PVH, en particular PVH de alto riesgo oncogénico, cuyo genoma se ha encontrado en casi el 100% de todos los carcinomas de células escamosas del

cérvix uterino.(3) Específicamente, los genotipos 16 y 18 se han identificado en el 76% de los casos de cáncer cervicouterino y en el 50% de las lesiones cervicales de alto grado.(4)

Dentro del programa de detección precoz del cáncer cervicouterino, en Cuba, se realiza la citología cervical a todas las mujeres mayores de 25 años, sin embargo en este programa no se incluye la detección de PVH como prueba de pesquisa, ni en ninguna de las etapas del programa. La detección viral constituye actualmente una herramienta de gran utilidad, dentro de los programas de pesquisa de las lesiones precursoras del cáncer cervical, para su prevención

y monitoreo.(5) La información epidemiológica sobre la infección por PVH en las lesiones intraepiteliales cervicales y la presencia de genotipos oncogénicos en la población femenina cubana, solo se ha estudiado en algunos grupos de riesgo.(6-8)

Debido a que el uso de la vacunación contra PVH se ha extendido a gran parte de los países latinoamericanos, la información epidemiológica relacionada con la prevalencia de tipos oncogénicos de PVH es esencial para determinar la eficacia de la vacunación en la población femenina cubana.

El objetivo de la presente investigación es aportar información sobre los genotipos de PVH circulantes en un grupo de mujeres entre 15 y 59 años, residentes en cuatro municipios de La Habana. Además, identificar las variables asociadas a la infección viral y al desarrollo de lesiones precursoras del cáncer cervicouterino en esta población.

MATERIALES Y MÉTODOS

Diseño del estudio, universo y muestra

Se realizó un estudio de corte transversal en población femenina de cuatro municipios de La Habana (La Lisa, Marianao, Playa y Plaza) durante el período de enero de 2007 a diciembre de 2009. El universo estuvo constituido por todas las mujeres sexualmente activas entre 15 y 59 años que acudieron al consultorio del médico de la familia para la realización de la citología cervical de rutina o prueba de Papanicolaou (9) o porque recibieron información sobre el estudio y decidieron participar. La selección de los consultorios se realizó teniendo en cuenta que presentaban la mayor densidad de población femenina entre 15 y 59 años de La Habana, durante el período de estudio.(10) Se establecieron como criterios de inclusión, la edad y una citología cervical negativa en los dos años anteriores a la investigación. La muestra quedó constituida por 519 mujeres.

Muestras clínicas

Las muestras clínicas consistieron en raspados de células cervicouterinas y extendidos celulares de igual localización para la detección viral y la realización de la citología cervical, respectivamente.

Toma de muestras

La colecta de las muestras cervicouterinas se realizó en el mismo momento, tanto para el estudio citológico como para la detección de PVH. Para la detección viral se realizó un cepillado de células cervicouterinas que se colocaron en un tubo con 3 mL de una solución salina fosfatada estéril al 1% con dodecil sulfato de sodio al 0.01%, utilizada como solución de transporte. Las células se sedimentaron mediante centrifugación y se almacenaron a -20 oC hasta su posterior procesamiento en el departamento de virología del Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kour" (IPK).

Estudio citomorfológico y colposcópico

El análisis citomorfológico se realizó mediante la técnica de Papanicolaou.(9) El criterio de clasificación de las muestras por citología, se basó en el sistema de nomenclatura que establece el Programa Cubano de Diagnóstico Precoz del Cáncer de Cuello de Útero.(11) A todos los casos que tuvieran una citología positiva, en el momento del estudio, se les realizó una colposcopia que se llevó a cabo en los hospitales ginecobstétricos "Eusebio Hernández" y "Ramón González Coro" según el algoritmo establecido por el Programa Cubano de Diagnóstico Precoz del Cáncer de Cuello de Útero para las pacientes tratadas en las consultas de patología de cuello uterino.

Extracción de ADN

Los sedimentos de las células cervicouterinas se lisaron empleando tampón de lisis y proteinasa K (Promega, Madison, WI, EEUU) a una concentración final de 1 mg/mL. La extracción del ADN se realizó mediante precipitación fenólica de las proteínas y precipitación etanólica del ácido nucleico total. Este producto fue resuspendido en 50 µL de agua bidestilada estéril de los cuales se tomaron 5 µL para realizar la PCR.(12)

PCR cualitativa

Para la PCR cualitativa se empleó un juego de cebadores degenerados MY09/MY11, complementarios a una secuencia nucleotídica del marco abierto de lectura L1 del PVH. Estos cebadores amplifican una secuencia conservada de 32 genotipos diferentes. Además, se empleó como control interno de la extracción del ADN y de la reacción de amplificación, el juego de cebadores PC04/GH20. Estos cebadores son complementarios a una región del gen que codifica para la proteína β globina humana.(13) Los dos juegos de cebadores fueron utilizados simultáneamente en la misma reacción y amplificaron fragmentos de ADN de 450 y 268 pares de base, respectivamente (biomers net, Alemania). La PCR se realizó según las condiciones y parámetros descritos previamente por otros autores.(13) Los productos amplificados fueron conservados a -20 °C hasta realizar la hibridación.

Hibridación "Dot Blot"

Los productos amplificados fueron sometidos a la técnica de hibridación "Dot Blot" con sondas biotiniladas. Se realizaron tres rondas de hibridación para genotipos específicos de PVH en 12 membranas de hibridación. En ellas se incluyó la sonda para el gen de la β globina humana y un juego de sondas consenso para PVH (biomers net, Alemania), lo que permitió la detección de 32 tipos diferentes de PVH. Este procedimiento se realizó según los protocolos publicados y validados previamente.(14)

Recolección, procesamiento y análisis estadístico de la información

Se utilizó un modelo para la recolección de la información

de las participantes en el estudio. Se confeccionó una base de datos en el paquete estadístico SPSS versión 19.0 (IBM Inc, Berkeley, CA) para determinar la relación entre las variables analizadas, la presencia de infección por PVH y los diagnósticos citológicos. Para ello se realizaron tablas de contingencia y se utilizó la prueba estadística de Chi cuadrado (χ^2), considerando significativos los valores de Razón de Prevalencia (RP) >1 y $p<0,05$; con un nivel de significación del 95 %. Para determinar las variables predictivas de la infección por PVH y de las lesiones intraepiteliales cervicales de alto grado en la población estudiada se empleó el método de Regresión Logística Multivariada. Para definir las variables predictivas de la infección con genotipos de PVH de alto riesgo oncogénico se compararon las mujeres infectadas con dichos genotipos, con respecto a aquellas que resultaron negativas para la infección viral, de esta manera se analizaron 453 mujeres. En el caso de las variables predictivas para las lesiones de alto grado (NIC II/III) se analizaron las 344 mujeres positivas a PVH.

Consideraciones éticas

El estudio se realizó de acuerdo con la Declaración de Helsinki,⁽¹⁵⁾ de la Asamblea Médica Mundial: Principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos. Fue aprobado por el Comité de Ética del Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri" y por las direcciones municipales de salud de cada uno de los municipios incluidos en el estudio. Se le solicitó a cada participante su consentimiento informado y se les comunicó que podrían retirarse del estudio sin perjuicio alguno. Toda la información individual relacionada con las participantes quedó debidamente custodiada por los responsables del estudio, de forma tal que se garantizó la absoluta confidencialidad y carácter anónimo de los datos personales.

RESULTADOS

Características generales de la población estudiada

El menor porcentaje estuvo representado por mujeres entre los 15 y 20 años (8,5%) y la mayor proporción (50,7%) de la población tenía un nivel educacional medio (Pre universitario o Técnico Medio). Más de la mitad fueron mujeres fumadoras (51,8%) y casadas (68,4%). Cerca del 10% utilizó anticonceptivos orales por más de cinco años. La gran mayoría (91,3%) declaró haber tenido menos de dos parejas sexuales en los últimos dos años, más de la mitad (58,4%) tuvo antecedentes de infecciones de transmisión sexual (ITS) y solo un pequeño porcentaje (4,2%) admitió haber usado condón de manera habitual.

Genotipos de PVH y su relación con los resultados de la citología cervical

El 66,3% (344/519) de las mujeres estudiadas presentó infección con algún tipo de PVH. Se detectó un total de 30 genotipos virales con predominio de los genotipos de alto

riesgo oncogénico, de ellos los más frecuentes fueron PVH 16, 31 y 18. Los tipos 6 y 11 fueron los más frecuentes, dentro del grupo de genotipos de bajo riesgo oncogénico. De las 519 mujeres estudiadas, el 41,6% (216/519) fue diagnosticada con citología positiva. De ellas, el 41,2% (89/216) presentó lesiones de bajo grado o NIC I y en el 58,8% (127/216) se detectaron lesiones cervicales de alto grado o NIC II/III. En el 91,2% (197/216) de los casos con citología positiva se detectó infección viral, mientras que fue posible identificar dicha infección en el 48,5% (147/303) de los casos con citología negativa ($p=0,000$; $RP=11,00$ IC 95% 6,53-18,54). La infección por PVH 6, las infecciones con genotipos múltiples y aquellas que incluyeron genotipos de alto riesgo oncogénico (Grupo 1) fueron los más prevalentes en las mujeres con cualquier tipo de alteración citológica, tanto de alto como de bajo grado. Los genotipos de PVH 16, 18, 52 y 58 estuvieron asociados a las lesiones de alto grado (NIC II/III). En las lesiones de bajo grado (NIC I) prevalecieron todos los genotipos de bajo riesgo oncogénico (Grupo 2) y particularmente el tipo 11. (Tabla 1)

Variables sociodemográficas y ginecobstétricas asociadas a la infección por PVH

En la tabla 2 puede observarse que la prevalencia de infección por PVH fue mayor en las mujeres menores de 30 años, específicamente aquellas entre 15 y 20, además en aquellas con un nivel educacional por debajo del nivel medio, particularmente con nivel primario y secundario. En las mujeres no profesionales la prevalencia de infección fue mayor, así mismo ocurrió para aquellas mujeres sin pareja estable y consumidoras de cigarrillos. Por otra parte, tener más de dos parejas sexuales en los últimos dos años y consumir anticonceptivos orales por más de 5 años fueron conductas asociadas a una mayor prevalencia de la infección viral. Los antecedentes de citología y colposcopia positiva o cirugías cervicales, en algún momento de la vida, constituyeron factores asociados a la detección de la infección viral en el momento del estudio.

El análisis mediante Regresión Logística Multivariada mostró los predictores de riesgo para la presencia de infección por PVH en la población estudiada. Entre ellos, el uso de anticonceptivos orales ($p=0,033$; $OR=1,62$ IC 95% 1,04-2,52); incrementándose el riesgo en aquellas mujeres que utilizaron este método anticonceptivo por un período mayor de 5 años ($p=0,004$; $OR=9,29$ IC 95% 2,08-41,55). El consumo de cigarrillos ($p=0,000$; $OR=3,59$ IC 95% 2,34-5,51) y los antecedentes de citología ($p=0,000$; $OR=2,62$ IC 95% 1,59-4,31) y colposcopia ($p=0,000$; $OR=4,22$ IC 95% 2,45-7,25) positivas, también constituyeron predictores de riesgo para la infección viral.

Variables predictivas para la infección por PVH de alto riesgo oncogénico y para las lesiones cervicales de alto grado

En las tablas 3 y 4 se definen dichas variables predictivas

Tabla 1. Genotipos de PVH asociados a lesiones cervicouterinas en las mujeres analizadas. Regresión Logística Univariada.

Tipo de PVH	Total de participantes	Casos con citología positiva			Citología negativa	Valor p	RP (IC 95%)
	n (%)	Total n (%)	NIC I n (%)	NIC II/III n (%)	n (%)		
PVH Positivo	519 (100%)	216 (41,6)	89 (41,2)	127 (58,8)	303 (58,4)	0,000 ^a	6,42 (3,03-13,63) ^a
6	71 (13,7)	54 (25,0)	28 (31,5)	26 (20,5)	17 (5,6)	0,000 ^a 0,000 ^b 0,000 ^c	7,58 (3,96-14,53) ^a 11,00 (6,53-18,54) ^a
11	78 (15,0)	50 (23,1)	31 (34,8)	19 (15,0)	28 (9,2)	0,000 ^a 0,980 ^b 0,000 ^c	4,13 (2,39-7,14) ^a 1,98 (1,16-3,37) ^b 5,60 (3,14-9,99) ^c
16	213 (41,0)	117 (54,2)	44 (49,4)	73 (57,5)	96 (31,7)	0,000 ^a 0,077 ^b 0,000 ^c	4,35 (2,56-7,40) ^a 0,99 (0,56-1,74) ^b 2,95 (1,79-4,88) ^c
18	53 (10,2)	32 (14,8)	6 (6,7)	26 (20,5)	21 (6,9)	0,000 ^a 0,238 ^b 0,000 ^c	1,51 (0,96-2,39) ^a 2,43 (1,62-3,66) ^b 2,55 (1,78-3,66) ^c
31	60 (11,6)	38 (17,6)	14 (15,7)	24 (18,9)	22 (7,3)	0,000 ^a 0,003 ^b 0,865 ^c	0,59 (0,24-1,42) ^a 3,48 (1,94-5,23) ^b 2,33 (1,31-4,17) ^c
35	4 (0,8)	4 (1,9)	2 (2,2)	2 (1,6)	0 (0)	0,172 ^a 0,005 ^b 0,138 ^c	1,60 (0,87-2,93) ^a 2,72 (1,56-4,76) ^b 4,92 (0,68-35,39) ^c
52	10 (1,9)	10 (4,6)	0 (0)	10 (7,9)	0 (0)	0,252 ^a 0,030 ^b 0,224 ^c	3,12 (0,43-22,37) ^a -
58	12 (2,3)	6 (2,8)	0 (0)	6 (4,7)	6 (2,0)	0,000 ^a 0,000 ^b 0,235 ^c	0,82 (0,79-0,86) ^a -
Grupo 1	278 (53,6)	164 (75,9)	63 (70,8)	101 (79,5)	114 (37,6)	0,037 ^a 0,567 ^b 0,000 ^c	0,82 (0,79-0,86) ^a 3,19 (1,01-10,1) ^b 1,41 (0,45-4,45) ^c
Grupo 2	101 (18,9)	63 (29,2)	35 (39,3)	28 (22,0)	35 (11,6)	0,000 ^a 0,000 ^b 0,000 ^c	2,42 (1,48-3,97) ^a 4,71 (2,93-7,58) ^b 5,23 (3,54-7,71) ^c
Infección Múltiple	154 (29,7)	90 (41,7)	35 (39,3)	55 (43,3)	64 (21,1)	0,294 ^a 0,000 ^b 0,031 ^c	1,30 (0,79-2,13) ^a 3,15 (1,99-4,99) ^b 1,69 (1,05-2,72) ^c
						0,000 ^a 0,000 ^b 0,000 ^c	2,26 (1,48-3,43) ^a 2,66 (1,81-3,92) ^b -

Fuente: Resultados de la citología cervical y de la detección de PVH. **Abreviaturas:** PVH: Papilomavirus humanos; NIC I: Neoplasia intraepitelial cervical de grado I; NIC II: Neoplasia intraepitelial cervical de grado II; NIC III: Neoplasia intraepitelial cervical de grado III; RP: Razón de Prevalencia; IC: Intervalo de Confianza.

a: con respecto a NIC I, **b:** con respecto a NIC II / III, **c:** Citología positiva con respecto a la citología negativa. **Grupo 1:** Genotipos de PVH de alto riesgo oncogénico; **Grupo 2:** Genotipos de PVH de bajo riesgo oncogénico.

y como se puede observar, el grupo donde prevalecen las infecciones con PVH de alto riesgo oncogénico es el de las mujeres más jóvenes. Otros factores para la infección con estos genotipos virales son: el inicio de las relaciones sexuales antes de los 15 años, la menarquía entre los 10 y 14 años, el consumo de anticonceptivos orales por más de 5 años, el consumo de cigarrillos, y los antecedentes de alteraciones citológicas que indican la persistencia viral de estos genotipos.

Las lesiones precursoras del cáncer cervicouterino o lesiones de alto grado fueron más frecuentes también en las mujeres más jóvenes, específicamente en aquellas menores de 20 años. Este grupo de mujeres también fueron las que mostraron la mayor prevalencia de infección con genotipos oncogénicos de PVH. Otras variables que de manera sinérgica se identificaron como factores para el desarrollo de lesiones de alto grado fueron: la leucorrea, la multiparidad y el consumo de cigarrillos.

Tabla 2. Variables sociodemográficas y ginecobstétricas asociadas con la infección por PVH en la población estudiada. Regresión Logística Univariada.

Característica		Positivo PVH n (%)	Negativo PVH n (%)	Valor de P	RP (IC 95%)
Pacientes		344 (66,3)	175 (33,7)		
Edad, mediana en años (Cuartil)		34 (27,0-42,0)	34 (27,0-41,7)	0,014	
Rangos	15-20	33 (9,6)	11 (6,3)		2,17 (1,02-4,62)
	21-30	108 (31,4)	37 (21,1)		2,11 (1,29-3,47)
	31-40	116 (33,7)	64 (36,6)		1,31 (0,84-2,05)
	>40	87 (25,3)	63 (36,0)		Referencia
Nivel educacional				0,025	
Primaria y Secundaria		109 (31,7)	39 (22,3)		2,15 (1,27-3,65)
Básica		89 (50,9)	174 (50,6)		1,50 (0,95-2,38)
Preuniversitario y Técnico Medio Universitario		47 (26,9)	61 (17,7)		Referencia
Situación Laboral				0,012	
Profesional		50 (14,5)	41 (23,4)		Referencia
Otras		294 (85,5)	134 (76,6)		1,80 (1,14-2,85)
Estado Civil				0,040	
Casada		225 (65,4)	130 (74,3)		Referencia
Divorciada, Soltera o Viuda		119 (34,6)	45 (25,7)		1,53 (1,02-2,29)
Consumo de cigarrillos				0,000	
Si		218 (63,4)	51 (29,1)		4,21 (2,84-6,23)
Número de parejas sexuales referidas para los últimos dos años				0,001	
≤2		304 (88,4)	170 (97,1)		Referencia
>2		40 (11,6)	5 (2,9)		4,47 (1,73-11,55)
Antecedentes de cirugía cervical				0,005	
Si		48 (14,0)	10 (5,7)		2,68 (1,32-5,43)
Antecedentes de citología positiva				0,000	
Si		141 (41,3)	29 (16,6)		3,54 (2,25-5,57)
Antecedentes de colposcopia positiva				0,000	
Si		149 (43,4)	20 (11,4)		5,92 (3,55-9,88)
Uso de anticonceptivos orales				0,000	
Si		170 (49,4)	57 (32,6)		2,02 (1,38-2,96)
Tiempo de uso de anticonceptivos orales Rango de cinco años				0,000	
≤5		295 (85,8)	173 (98,9)		Referencia
>5		2 (1,1)	49 (14,2)		14,37 (3,46-59,82)

Fuente: Modelo de recogida de información y resultados de la detección de PVH. **Abreviaturas:** PVH: Papilomavirus humanos; ITS: infecciones de transmisión sexual; RP: Razón de Prevalencia; IC: Intervalo de Confianza.

Tabla 3. Variables predictivas para la infección por PVH de alto riesgo oncogénico en la población estudiada. Regresión Logística Multivariada.

Variable n=453		Valor de p	RP ajustada IC (95%)
Edad		0,000	
	15-20	Referencia	
	21-30	0,000	13,15 (3,48-49,61)
	31-40	0,038	3,83 (1,08-13,62)
	>40	0,401	1,67 (0,51-5,50)
Primera relación sexual		0,007	
	<15	0,004	6,11 (1,78-21,01)
	15-20	0,008	2,80 (1,30-6,02)
	21-30	Referencia	
Uso de Anticonceptivos orales		0,000	2,85 (1,63-4,99)
Uso de Anticonceptivos orales por más de 5 años		0,013	7,54 (1,53-37,09)
Menarquía		0,040	
	<10	0,629	1,33 (0,41-4,22)
	10-14	0,025	2,76 (1,14-6,71)
	>14	Referencia	
Antecedentes de citología positiva		0,000	4,64 (2,50-8,62)
Consumo de cigarrillos		0,000	38,84 (16,46-91,62)
		0,000	4,38 (1,98-9,72)

Fuente: Modelo de recogida de información. **Abreviaturas:** RP: Razón de Prevalencia; IC: Intervalo de Confianza.

Tabla 4: Variables predictivas para la aparición de lesiones de alto grado en las mujeres analizadas. Regresión Logística Multivariada.

Variable n=344		Valor de p	RP ajustada (IC 95%)
Edad		0,000	
	15-20	0,000	41,41 (16,49-104,02)
	21-30	0,000	16,48 (5,10-53,27)
	31-40	0,000	8,62 (4,03-18,63)
	>40	Referencia	
Partos	≥1	0,000	4,65 (2,02-10,71)
Leucorrea	Sí	0,004	2,64 (1,35-1,15)
Consumo de cigarrillos	Sí	0,000	8,44 (4,59-15,51)

Fuente: Modelo de recogida de información. **Abreviaturas:** RP: Razón de Prevalencia; IC: Intervalo de Confianza.

DISCUSIÓN

En el presente estudio, la infección por PVH se comportó con frecuencias elevadas, con respecto a lo que se ha observado en la mayoría de las investigaciones realizadas a escala global. Según los estudios realizados en países de diferentes latitudes como Italia (16), Corea (17), Argentina (18) y Brasil (19) los valores de prevalencia se comportan con cifras variables, con frecuencias que oscilan entre un 19 y un 47% y pueden llegar hasta un 60%, en dependencia de las características de la población. En

este trabajo el 66,6% de la población estudiada estuvo infectada con PVH, estos datos son similares a lo que se ha encontrado en la población brasileña no vacunada, residente en determinadas zonas urbanas, y seleccionada bajo los mismos criterios de inclusión. En dichos estudios las frecuencias de infección oscilan entre un 60 y un 70%, e incluso pueden ser superiores.(20) Para explicar este fenómeno es importante destacar que actualmente, los valores de prevalencia de infección por PVH se han visto modificados por la introducción de la vacunación en gran parte de los países desde el año 2006. Sin

embargo, en lugares donde la población femenina no ha sido inmunizada contra PVH, como es el caso de Cuba, la frecuencia de infección está asociada a una serie de factores sociodemográficos y epidemiológicos. Entre ellos, se encuentran los factores culturales, socioeconómicos, étnicos y conductuales.

En el presente estudio, se puede observar que en más del 90% de los casos con citología positiva se detectó infección viral, lo cual se corresponde con toda la evidencia acumulada sobre el papel de la infección por PVH en la aparición y desarrollo de las lesiones precursoras del cáncer cervicouterino.(3) Sin embargo, en las mujeres con citología negativa la frecuencia de infección por PVH es mayor a lo que se ha establecido en la generalidad de los estudios realizados en la mayoría de los países de diferentes continentes; donde la prevalencia de infección por PVH oscila entre 10 y 30% en mujeres sin alteraciones citológicas, con excepción de datos publicados sobre África, Brasil (21,22) y algunos países latinoamericanos donde los factores étnicos y conductuales influyen considerablemente en la historia natural de la infección.

En esta investigación, de manera general, la prevalencia de infección por PVH fue mayor en aquellas mujeres menores de 30 años, con un nivel educacional por debajo del nivel medio, no profesionales, sin pareja estable y consumidoras de cigarrillos. Estos resultados están en concordancia con lo que se ha planteado en la mayoría de los estudios publicados a escala global.(18,20,23,24)

En el presente estudio, el cambio frecuente de parejas sexuales y el uso de anticonceptivos orales constituyeron factores a los que se asoció un incremento en la prevalencia de la infección por PVH. Así mismo, los antecedentes de patologías cervicales, en algún momento de la vida constituyeron factores asociados a la detección de la infección, en el momento del estudio. Se han publicado numerosos artículos, incluso compilaciones de datos a escala global,(25) donde se ha podido establecer un riesgo incrementado para adquirir la infección por PVH oncogénico en las mujeres que practican el uso de anticonceptivos orales por períodos prolongados de tiempo. Dichos resultados apoyan varias teorías relacionadas con los efectos carcinogénicos directos del estrógeno y la progesterona por ejercer una regulación positiva sobre la expresión de los oncogenes virales y la capacidad de los estrógenos para promover el crecimiento del tumor y la persistencia viral.(26)

El consumo de cigarrillos se ha podido relacionar con valores elevados de la carga viral de PVH, pues se plantea que los carcinógenos del humo son cofactores que actúan en sinergia con la infección viral y que aumentan el riesgo de progresión al cáncer de cuello uterino.(27,28)

En la presente investigación, haber tenido alguna citología o colposcopia positiva en algún momento de la vida, constituyó un factor asociado a la infección viral detectable. Aunque, las mujeres incluidas en esta investigación tenían una citología negativa, en los 2 años previos al estudio,

tenían antecedentes de alteraciones citológicas lo que indica que pudieran estar presentando una nueva infección con otro genotipo o una reinfección con el mismo genotipo viral. Este aspecto muestra una conducta sexual de alto riesgo para contraer infecciones de transmisión sexual.

Los genotipos que se encontraron circulando con mayor frecuencia, en esta investigación, muestran un predominio de genotipos de alto riesgo oncogénico, de ellos el más frecuente fue el PVH tipo 16, seguido de los tipos 31 y 18. En investigaciones realizadas en otras áreas geográficas se muestra una distribución similar, y las frecuencias elevadas de positividad se han asociado con factores como el bajo nivel socioeconómico, el comienzo de las relaciones sexuales a edades tempranas y las conductas sexuales de riesgo. Estos hallazgos tienen una elevada coincidencia con varios estudios, con diseños similares, realizados en Brasil (29), Argentina (30) y Paraguay.(31)

Los resultados del presente trabajo demuestran que los genotipos de PVH 6, 11, 16 y 18, que están incluidos en las formulaciones de las vacunas contra PVH, disponibles en el mercado, son los más frecuentes en la población cubana estudiada. Aunque este no es un estudio de base poblacional el cual no permite extrapolar los datos obtenidos a todas las mujeres cubanas, en términos de prevalencia, es la investigación, empleando técnicas moleculares, que incluye la mayor cantidad de féminas en edad sexualmente activa en Cuba.

En muchas regiones del planeta se ha analizado la edad a la que se detecta la infección viral y a la que aparecen las lesiones de alto grado y el cáncer cervicouterino como una variable que define la aplicación y el cronograma de los programas de pesquisa, prevención y control de esta enfermedad, establecidos por los ministerios públicos de salud.

Como es conocido, solo las infecciones persistentes por PVH de alto riesgo oncogénico tienen relevancia clínica y a partir de los 30 años se produce un incremento casi exponencial en la incidencia de las lesiones precursoras del cáncer cervicouterino. De ahí que los programas de pesquisa comiencen generalmente a partir de los 20 o 25 años.(4) Como se puede observar en la presente investigación, la infección por PVH se comportó de manera similar a lo que se ha descrito en la literatura,(25) sin embargo las lesiones de alto grado aparecieron de manera significativa antes de los 30 años, particularmente entre los 20 y 25 años. Estas edades no están incluidas en el universo del Programa de Diagnóstico Precoz del Cáncer de Cuello del Útero en Cuba,(11) que comienza la pesquisa después de los 25 años. Vale la pena el análisis de estos hallazgos para profundizar en el estudio de estos grupos etarios. Sería oportuno, según estos resultados, realizar un estudio mucho más amplio en mujeres jóvenes, particularmente entre 15 y 25 años; en las que además se identificaron otros factores para la aparición de lesiones de alto grado, como el inicio temprano de las relaciones sexuales, para así definir si este es un fenómeno que se generaliza a la

población femenina cubana entre estas edades.

CONCLUSIONES

Los resultados de la presente investigación, muestran una elevada prevalencia de infección por genotipos oncogénicos de PVH y de lesiones de alto grado en mujeres menores de 20 años. Teniendo en cuenta la población analizada, se justifica, desde el punto de vista científico, el empleo de la vacuna profiláctica contra PVH en niñas cubanas, antes de los 10 años de edad. Se evidencia la necesidad de las pruebas de detección de PVH en la población sexualmente activa así como la importancia de continuar fortaleciendo

los programas de educación sexual y de prevención para la salud, para así incidir de manera sustancial en la reducción de las lesiones precursoras y del cáncer cervicouterino en Cuba.

AGRADECIMIENTOS

A los médicos especialistas en medicina general integral, enfermeras y autoridades de las direcciones municipales de salud de los municipios La Lisa, Marianao, Playa y Plaza; por su colaboración en la toma de las muestras y recolección de la información.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Bess S, Gran MA, Martínez MM, Alonso I, Lopez LM, Torres RM, et al. Anuario Estadístico de Salud 2014. Especial ed. La Habana: Oficina Nacional de Estadísticas e Información de la Dirección Nacional de Registros Médicos del Ministerio de Salud Pública de Cuba; 2015. p. 66-83. Disponible en: <http://files.sld.cu/bvscuba/files/2015/04/anuario-estadistico-de-salud-2014.pdf>.
2. Schmitt M, Depuydt C, Benoy I, Bogers J, Antoine J, Arbyn M, et al. Prevalence and viral load of 51 genital human papillomavirus types and three subtypes. *Int J Cancer*. 2013;132 (10):2395-403. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23034864>.
3. zur Hausen H. Papillomaviruses in the causation of human cancers - a brief historical account. *Virology*. 2009;384(2):260-5. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0042682208007721>.
4. Howley PM, Schiller JT, Lowy DR. Papillomavirus. In: Knipe DM, Howley PM, editors. *Fields Virology*. 6th ed. Philadelphia, USA: Lippincott Williams & Wilkins; 2013. p. 1662-700. Disponible en: <http://www.worldcat.org/title/fields-virology/oclc/825740706>.
5. Vargas-Hernandez VM, Acosta-Altamirano G, Moreno-Eutimio MA, Vargas-Aguilar VM. New guidelines in regard to cervical cancer screening. *Cir Cir*. 2014; 82(4): 453-9. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25167359>.
6. Soto Y, Torres G, Kouri V, Limia CM, Goicolea A, Capo V, et al. Molecular Epidemiology of Human Papillomavirus Infections in Cervical Samples From Cuban Women Older Than 30 Years. *J Low Genit Tract Dis*. 2014;18(3):210-17. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24270200>.
7. Soto Y, Mune M, Morales E, Goicolea A, Mora J, Sanchez L, et al. Human Papillomavirus infections in Cuban women with cervical intraepithelial neoplasia. *Sex Transm Dis*. 2007;34(12):974-6. Disponible en <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18077849>.
8. Ríos MA, Hernández M, Aguilar FO, Silveira M, Amigó M, Aguilar K. Tipos de papilomavirus humanos más frecuentes en muestras cubanas de cáncer cervical. *Rev Cubana de Obstet y Ginecol*. 2010;36(2):104-11. Disponible en: http://scielopueba.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0138-600X2010000200009&lng=es.
9. Papanicolaou GN. A NEW PROCEDURE FOR STAINING VAGINAL SMEARS. *Science*. 1942;95(2469):438-9. Disponible en <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17842594>.
10. Anuario Demográfico de Cuba 2007. In: Estadísticas Dd, editor. La Habana: Oficina Nacional de Estadísticas (ONE). Dirección Nacional de Registros Estadísticos de la República de Cuba; 2008. Disponible en <http://www.cuba-economia.org/documentos/anuarios-demograficos/anuario-demografico-2007>.
11. Cabezas E, Camacho T, Santana A, Borrajero I, Aguilar F, Romero T, et al. Programa Diagnóstico Precoz del Cáncer de Cuello del Útero en Cuba. In: Cabezas Cruz E, editor. 1st ed. Havana: Cuban Ministry of Public Health 1999. Disponible en: http://www.bvs.sld.cu/revistas/gin/vol37_2_11/gin11211.htm.
12. Milutin-Gasperov N, Sabol I, Halec G, Matovina M, Grce M. Retrospective study of the prevalence of high-risk human papillomaviruses among Croatian women. *Coll Antropol*. 2007;31 Suppl 2:89-96. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17598510>.
13. Gravitt PE, Peyton CL, Alessi TQ, Wheeler CM, Coutlee F, Hildesheim A, et al. Improved amplification of genital human papillomaviruses. *J Clin Microbiol*. 2000;38(1):357-61. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10618116>.
14. Chaiwongkot A, Pientong C, Ekaklaksananan T, Kongyingyoes B, Thinkhamrop J, Yuenyao P, et al. Evaluation of primers and PCR performance on HPV DNA screening in normal and low grade abnormal cervical cells. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2007;8(2):279-82. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17696746>.
15. World-Medical-Association. Declaration of Helsinki. Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects. 2008; Available from: <http://www.wma.net/en/30publications/10policies/b3/7c.pdf>.
16. Giambi C, Donati S, Carozzi F, Salmaso S, Declich S, Atti ML, et al. A cross-sectional study to estimate high-risk human

- papillomavirus prevalence and type distribution in Italian women aged 18-26 years. *BMC Infect Dis.* 2013;13:74. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3599585/>.
17. Lee SJ, Yeo SG, Park DC. High-risk human papillomavirus infection in low risk women: incidence, patient characteristics, and clinical meaning for cervical cancer. *Int J Med Sci.* 2012;9(1):103-7. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22211097>.
18. Deluca GD, Marin HM, Blanco NS, Basiletti JA, Gonzalez JV, Merino AL, et al. Distribution of human papillomavirus genotypes in women with cervical alterations from north Argentina. *Indian J Med Microbiol.* 2013;31(2):138-41. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23867669>.
19. Oliveira FA, Ehrig V, Lang K, Heukelbach J, Stoffler-Meilicke M, Ignatius R, et al. Human papillomavirus genotype distribution and risk factors for infection in women from a small municipality in north east Brazil. *Int J STD AIDS.* 2012;23(9):e5-10. Disponible en <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23033534>.
20. de Mendonca VG, Guimaraes MJ, de Lima Filho JL, de Mendonca CG, Martins DB, Crovella S, et al. [Human papillomavirus cervical infection: viral genotyping and risk factors for high-grade squamous intraepithelial lesion and cervix cancer]. *Rev Bras Ginecol Obstet.* 2011;32(10):476-85. Disponible en: www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21271154.
21. Chironna M, Tafuri S, De Robertis AL, Sallustio A, Morea A, Napoli A, et al. Prevalence of HPV infection and genotype distribution in women from Africa seeking asylum in Puglia, Italy. *J Immigr Minor Health.* 2013;15(1):159-63. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22869450>.
22. Pierre Joseph N, Belizaire M, Porter CL, Walsh JP, Esang M, Goff G, et al. Ethnic differences in perceived benefits and barriers to HPV vaccine acceptance: a qualitative analysis of young African American, Haitian, Caucasian, and Latino men. *Clin Pediatr (Phila).* 2014;53(2):177-85. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24403292>.
23. Coser J, da Rocha Boeira T, Simon D, Kazantzi Fonseca AS, Ikuta N, Lunge VR. Prevalence and genotypic diversity of cervical human papillomavirus infection among women from an urban center in Brazil. *Genet Mol Res.* 2013;12(4):4276-85. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23479144>.
24. de Azevedo AE, Carneiro FP, Neto FF, Bocca AL, Teixeira LS, de Queiroz Mauricio Filho MA, et al. Association between human papillomavirus infection and cytological abnormalities during early follow-up of invasive cervical cancer. *J Med Virol.* 2012;84(7):1115-9. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22585730>.
25. Vinodhini K, Shanmughapriya S, Das BC, Natarajaseenivasan K. Prevalence and risk factors of HPV infection among women from various provinces of the world. *Arch Gynecol Obstet.* 2012;285(3):771-7. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22159694>.
26. Marks M, Gravitt PE, Gupta SB, Liaw KL, Kim E, Tadesse A, et al. The association of hormonal contraceptive use and HPV prevalence. *Int J Cancer.* 2010;128(12):2962-70. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20734390>.
27. Wei L, Griego AM, Chu M, Ozbun MA. Tobacco exposure results in increased E6 and E7 oncogene expression, DNA damage and mutation rates in cells maintaining episomal human papillomavirus 16 genomes. *Carcinogenesis.* 2014;35(10):2373-81. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4178472/>
28. Moktar A, Singh R, Vadhanam MV, Ravoori S, Lillard JW, Gairola CG, et al. Cigarette smoke condensate-induced oxidative DNA damage and its removal in human cervical cancer cells. *Int J Oncol.* 2011;39(4):941-7. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3760590/>.
29. Oliveira-Silva M, Lordello CX, Zardo LM, Bonvicino CR, Moreira MA. Human Papillomavirus in Brazilian women with and without cervical lesions. *Virol J.* 2011;8:4. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21208414>.
30. Badano I, Pedrozo RW, Ruiz Diaz LS, Galuppo JA, Picconi MA, Campos RH, et al. Human papillomavirus (HPV) detection and Papanicolaou cytology in low-resource women in Posadas city, Misiones, Argentina. *Rev Argent Microbiol.* 2011;43(4):263-7. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22274823>.
31. Mendoza LP, Arbiza J, Paez M, Kasamatsu E, Castro A, Gimenez G, et al. Distribution of human papillomavirus genotypes in Paraguayan women according to the severity of the cervical lesion. *J Med Virol.* 2011;83(8):1351-7. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21618554>.

Human Papillomavirus Infection and other risk factors for the development of cervical intraepithelial lesions in Cuban women**SUMMARY**

Objective: To know the distribution of Human Papillomavirus HPV types and risk factors associated with the presence of cervical lesions in Cuban women.

Methods: Cross-sectional study in 519 women between 15 and 59 years with no previous positive cervical cytology in 4 municipalities of Havana was performed. Human Papillomavirus(HPV) detection and genotyping was done by Polymerase chain reaction (PCR) and Dot Blot hybridization.

Results: From the studied population, 41.6% was diagnosed with positive cytology, 58.8% of them with high-grade cervical lesions. In 66.3% HPV was detected, significantly associated with positive papanicolaou smear. A total of 30 viral genotypes were identified, predominantly HPV 16 (41.0%), HPV 31 (11.6%) and HPV 18 (10.2%). The independent predictors to develop HPV infections were: first sexual intercourse before 15 years old, menarche between 10 and 14 years, cigarette smoking and oral contraceptives use. In women fewer than 20 high-grade cervical lesions were significantly predominant.

Conclusions: The study results support the use of Human Papillomavirus vaccine and suggest the investigations based on virology and cytology tests in women less than 25 years.

Key words: human papillomavirus; cervical intraepithelial lesions; risk factors.

Dirección para la correspondencia: Yudira Soto Brito. Vice dirección de Microbiología, Departamento de Virología. Laboratorio de Infecciones de Transmisión Sexual. Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí". Autopista Novia del Mediodía Km 6 ½, entre Autopista Nacional y Carretera Central. Apartado postal 601. Teléfono: (537) 2553551. Fax: (537) 202-0633, (537) 204-6051.

Correo electrónico: yudira@ipk.sld.cu, yudira@infomed.sld.cu.