

# DETECCIÓN MOLECULAR DEL VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO POR MEDIO DE LA REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA EN MUJERES DESPLAZADAS E INDIGENTES CON CITOLOGÍA CERVICOVAGINAL NEGATIVA

Johanna Alarcón Roncancio, Martha Valle Anaya\*

## Resumen

En Colombia no existen estudios realizados en población de desplazados indigentes donde se haya detectado a nivel molecular, por medio de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), el virus del papiloma humano (VPH) en estado de latencia. Es así como se investigó un grupo de 122 mujeres sexualmente activas con citología cérvicovaginal negativa; de éstas se tomó un subgrupo de 58 al azar. Se les realizó PCR para detectar el virus en estado de latencia y tipificar el 16 y el 18, considerados de alto riesgo para la progresión de lesiones preneoplásicas y neoplásicas. Resultaron 21% positivas para ADN-VPH es decir 12/58; dos de ellas fueron positivos para VPH 16 y ninguno para VPH 18. Estos hallazgos fueron relacionados con la edad de la mujer, edad de inicio de las relaciones sexuales, número de compañeros sexuales, el uso de preservativos y el nivel educativo.

*Palabras Claves:* VPH, PCR, citología cérvicovaginal negativa.

## Introducción

Los estudios epidemiológicos han indicado que la infección por el VPH es una enfermedad de transmisión sexual y cerca del 60% de las mujeres sexualmente activas se infectan. El hecho de encontrar VPH en especial del grupo denominado de alto riesgo, en el 90% de las displasias y carcinomas del cérvix, ha contribuido para indicar que la persistencia de la infección por VPH es el principal factor de riesgo etiológico para el desarrollo del cáncer cervical.<sup>1</sup>

Una vez que la infección del VPH se produce, el microorganismo puede permanecer sin replicarse, dando lugar a una infección latente sin cambios citomorfológicos. En estos casos se debe suponer que existen pocas copias virales y posiblemente correspondan a ADN desnudo.<sup>2</sup>

## Materiales y métodos

Mediante un estudio descriptivo, se evaluaron 122 mujeres con actividad sexual cuyas edades variaron entre 19 y 50 años. Asistieron a diferentes sitios para la toma de citología como Mencoldes, Asodic, Cazucá en ciudad Bolívar y brigada de grupos de amor en acción en la ciudad de Bogotá, Colombia (de mayo a diciembre del 2003).

Las participantes firmaron voluntariamente el consentimiento informado y respondieron un cuestionario sobre datos como edad de la paciente, inicio de la primera relación sexual, uso de preservativo, número de compañeros sexuales y nivel educativo. Después se tomaron al azar 58 muestras para análisis por medio de la PCR.

## Toma y procesamiento de muestras

Se tomaron muestras endo y exocervicales con espátula de Ayre y citocepillo y fueron evaluadas según el sistema Bethesda. La muestra para realizar el análisis de ADN-VPH, se tomó del exocervix con espátula de Ayre y se resuspendió en solución de PBS 1x.

\* Estudiantes de la Facultad de Citohistotecnología

\*\* Este trabajo fue realizado bajo la tutoría del Dr. Hernán Vargas, Biólogo Molecular Instituto Nacional de Cancerología y de la Dra. Margarita Ruiz R., Patóloga y Profesora Asociada de la Fundación Universitaria de Ciencias de la Salud.

## Métodos moleculares

Para comprobar la calidad del ADN, se amplificó primero el gen de copia única (Mouse Keeping Gene)  $\beta$ -globina con los “primers” PCO3 y PCO4 sobre todas las muestras. Del subgrupo de 58 muestras tomadas al azar todas fueron positivas para la amplificación del gen de  $\beta$ -globina.

Para identificar la presencia del VPH en las muestras positivas para  $\beta$ -globina, se amplificó una región consenso del virus con los “primers” GP5+/GP6+ los cuales anillan en la región L1 del genoma viral. De las 58 muestras positivas para  $\beta$ -globina, amplificaron 12 con los “primers” mencionados.

Las 12 muestras positivas para infección por VPH fueron sometidas a otra prueba de amplificación para determinar en ellos la presencia de VPH tipos 16 y 18, utilizando “primers” específicos para la región E6 del virus. De estas se obtuvieron resultados positivos para dos muestras con VPH 16 y ninguna para VPH 18, indicando que las diez muestras restantes presentaron infección por tipos virales diferentes a los analizados.

## Resultados

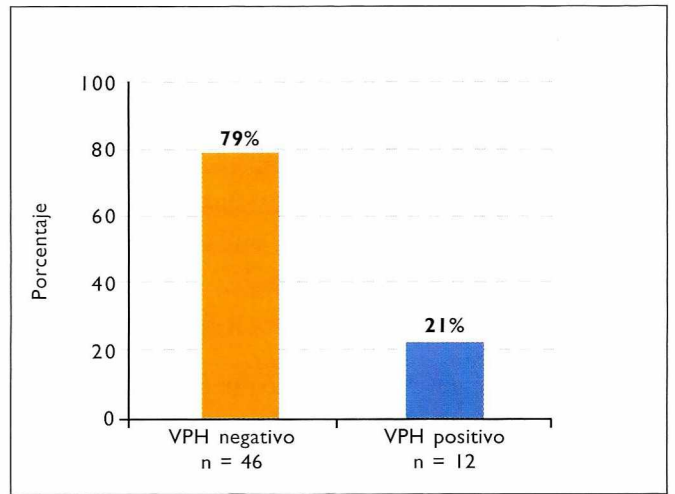
En este estudio se detectaron 12 muestras (21%) ADN-VPH positivo (**Figura 1**).

Al tipificar el VPH, se encontró que dos fueron positivas para el tipo VPH 16 y ninguno para el VPH 18 (**Figura 2**).

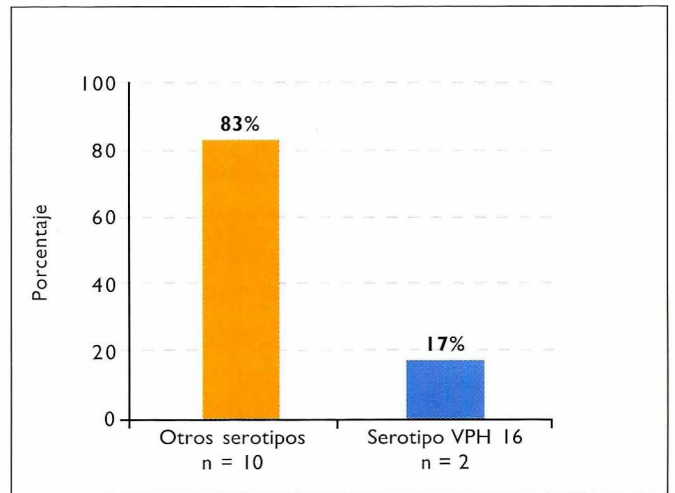
La frecuencia de infección por VPH en estado de latencia en la población indigente y desplazada fue de 19 a 22 años dos casos, de 27 a 30 años tres, de 31 a 34 años uno, de 35 a 38 años dos, de 39 a 42 años dos y de 43 a 45 años dos casos (**Figura 3**).

La frecuencia en el nivel educativo se presentó de la siguiente forma: primaria cuatro casos; secundaria cinco casos; técnico dos casos y universitario un caso (**Figura 4**).

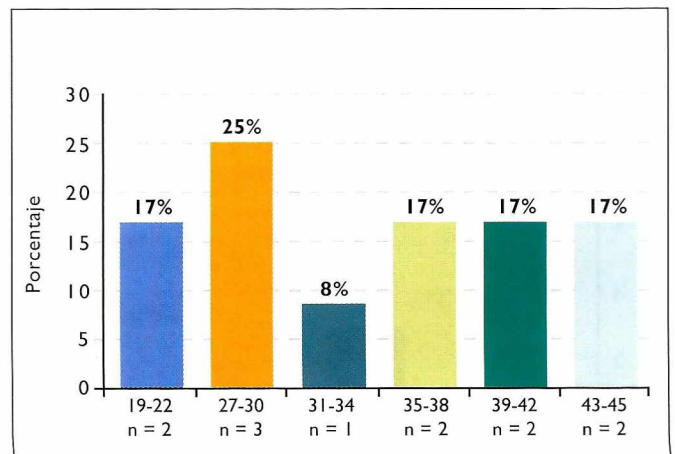
El inicio de la primera relación sexual correspondió así: de 15 a 18 años siete casos, de 19 a 22 años dos casos, de 23 a 26 años un caso y de 27 a 29 años dos



**Figura 1.** Frecuencia en la población de estudio VPH positivo y negativo.



**Figura 2.** Frecuencia del VPH 16 entre la población positiva para el virus analizado.



**Figura 3.** Intervalos de edad de la población analizada VPH positiva.



casos (**Figura 5**). Intervalos de edad de la primera relación sexual entre mujeres VPH positivas.

La frecuencia en cuanto al número de parejas sexuales fue la siguiente. Siete mujeres manifestaron haber tenido un solo compañero sexual durante toda su vida. Tres mujeres dijeron haber tenido 2 compañeros sexuales en toda su vida y 2 mujeres expresaron haber tenido más de 3 compañeros sexuales a lo largo de su vida (**Figura 6**).

La frecuencia en cuanto al uso del preservativo fue la siguiente: ocho mujeres manifestaron usar el preservativo (**Figura 7**).

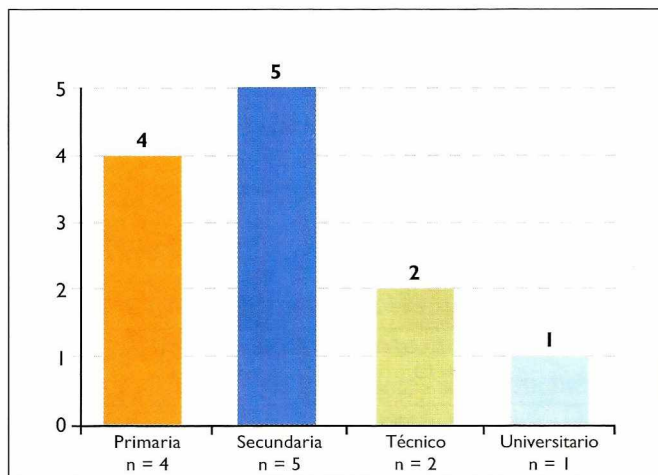
## Discusión

Este es el primer estudio que describe la frecuencia de infección latente por VPH en una población desplazada

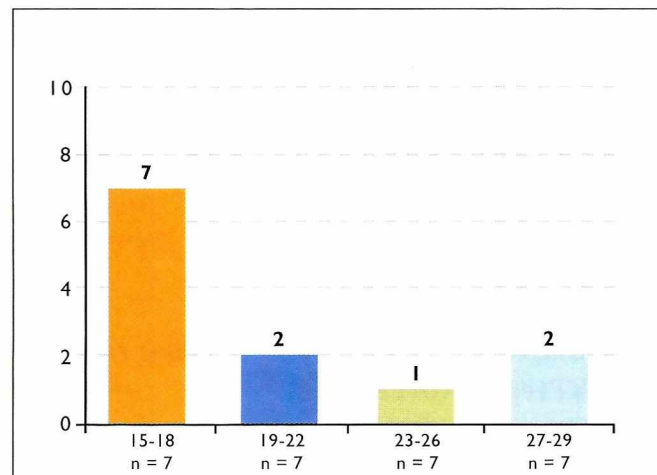
e indigente en la ciudad de Bogotá, Colombia. Un total de 58 muestras fueron analizadas mediante PCR para detectar el ADN viral en muestras de pacientes con citología cérvicovaginal negativa. Se detectaron 12 muestras positivas para VPH resultando dos casos positivos para VPH 16 y ninguno para 18 lo cual indica que la detección del virus de alto riesgo es muy baja en esta población.

De acuerdo con los análisis, se observó que la frecuencia de infección fue mayor en mujeres con edades entre los 27 y 30 años, (tres casos), mientras que la frecuencia de infección más baja se presentó entre los 31 y 34 años (un caso).

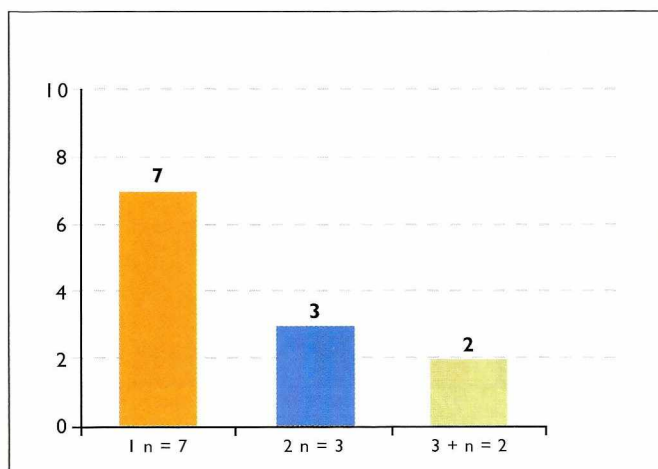
En este estudio no se encontró relación entre la frecuencia de infección por VPH y el número de compañeros sexuales, lo cual parece indicar que los factores hormonodependientes e inmunológicos pueden estar jugando un



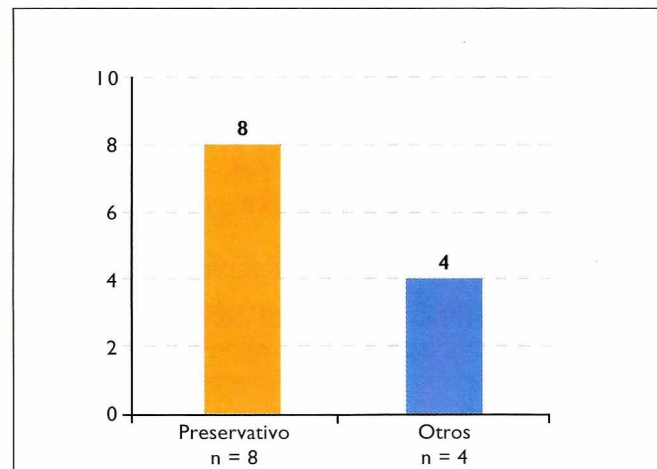
**Figura 4.** Nivel educativo.



**Figura 5.** Edad de la primera relación sexual.



**Figura 6.** Número de parejas sexuales en mujeres VPH positivas.



**Figura 7.** Uso de preservativo entre la población de mujeres VPH positivas.

papel decisivo en la dinámica y progresión del proceso infeccioso. Por tal razón, se sugiere que en posteriores estudios se debe tener en cuenta a las mujeres y compañeros sexuales en el diseño de estudios de prevalencia viral en la población normal con el fin de determinar dicha asociación.

El papel fundamental que desempeñan los hombres como vectores de los tipos de VPH relacionados con el cáncer de cuello uterino se asocia con la cantidad de compañeras sexuales a lo largo de su vida y los frecuentes contactos constituyen un factor de riesgo para adquirir el virus.

En cuanto al uso del preservativo, se reportó la mayor frecuencia en ocho mujeres que planificaban utilizando este método, sin encontrar relación, pues no se sabe que tan frecuente y adecuado fue su uso. Sin embargo, si una persona tiene el VPH, la infección está en toda la región genital y puede diseminarse desde las zonas que no están cubiertas por el condón.

Otro factor analizado fue el nivel educativo, donde se encontró que la mayor frecuencia de infección estuvo en personas con nivel bajo (primaria – secundaria), y la más baja en educación superior, discrepando de los datos publicados en otros estudios<sup>3</sup> que establecen un mayor porcentaje de infección en mujeres con nivel educativo superior.

Los estudios epidemiológicos han mostrado que los factores de riesgo para la infección por VPH y el desarrollo de cáncer incluyen edad, número de compañeros sexuales y edad de la primera relación sexual, presumiendo que el VPH fue transmitido por sus esposos e incubados en el cérvix de sus compañeras.

## Conclusiones

Con la técnica utilizada, se investigó el ADN-VPH en mujeres desplazadas e indigentes de la ciudad de

Bogotá, con citología cérvicovaginal negativa. Se detectaron 12 de 58 muestras positivas para VPH resultando dos casos positivos para VPH16.

La técnica molecular de la PCR, es específica y sensible para detectar el VPH y tipificarlo en estado de latencia, y para la detección temprana del microorganismo antes de que este manifieste cambios citomorfológicos. La citología es una técnica práctica, rápida y sensible para realizar seguimiento de las mujeres con VPH en estado de latencia detectado por PCR.

Aunque varios comportamientos se han asociado con la frecuencia del VPH, en este estudio esta asociación no fue significativa con respecto al número de compañeros sexuales. Todo parece indicar que las características hormonodependientes e inmunológicas pueden estar jugando un papel decisivo en la dinámica y progreso infeccioso.

El VPH no constituye una causa suficiente de esta enfermedad; son necesarios ciertos cofactores para que el porcentaje de infecciones persistentes por VPH logre en algún momento progresar y dar lugar a un cáncer. Entre estos están los factores del huésped y otros agentes de transmisión sexual.

## Referencias

1. Wheeler CM, Londesborough P, Ho L, Terry P, Cuzic J, Singer A. Human Papillomavirus Genotypes as a predictor of persistence and development of high – grade lesions in women with minor cervical abnormalities. *Int J Cancer* 1996; 69: 364-68.
2. García del Moral R. Laboratorio y atlas de citología Madrid: Mc Graw Hill 1995.
3. Molano M, Posso A. Prevalence and the determinants of HPV infection among Colombian women with normal cytology *Br J Cancer* 2002; 87: 324.

