

PREVALENCIA Y DISTRIBUCIÓN DE LA INFECCIÓN POR VIRUS PAPILOMA HUMANO (HPV) EN ANORMALIDADES EN CÉLULAS EPITELIALES DEL CUELLO UTERINO

Morelva Toro de Méndez¹, Mercedes López de Sánchez¹.

Grupo de investigaciones Citológicas. Cátedra de Citología¹. Facultad de Farmacia y Bioanálisis. Universidad de Los Andes. Mérida. Venezuela.

Contacto: tmorelva@ula.ve

Resumen

Se evaluó la prevalencia y distribución de la infección por HPV en pacientes para pesquisa de cáncer de cuello uterino. Todas las pacientes tenían una citología y una prueba para HPV. Se procesaron 3.883 muestras citológicas: 3.651 (94,0%) eran normales (NILM) y 201 (5,3%) con anomalías (AEC): 90 células escamosas atípicas (2,32%), 77 lesiones intraepiteliales escamosas (1,97%), 5 carcinomas invasores (0,3%) y 29 citologías con células glandulares atípicas (0,75%). La prevalencia general de HPV fue de 32,0%. El 60,5% de AEC fueron HPV positivas. Los HPV-AR fueron detectados en cáncer (60,0%), HSIL (59,3%), LSIL (37,7%). Secuencias HPVX fueron detectadas en 30,0% de ASC-H, 22,9% de ASC-US y 20,0% de LSIL y cáncer. Los HPV más frecuentes fueron: HPV6 (17,3%), HPV31 (16,0%), HPV16 (13,3%) y HPV18 y 56 en la misma proporción (6,7%). El HPV16 fue más frecuente en las ASC-US (23,8%), HPV6 (19,0%) y HPV51 (9,5%). En las LSIL: HPV31 (19,2%), HPV6 (19,2%) y HPV56 (15,4%); en las HSIL: HPV31 (33,3%). El HPV16 se detectó en el 100% de los cánceres cervicales. Es necesario establecer las características epidemiológicas de la infección por HPV en el resto de la población venezolana, antes de implementar estrategias de prevención del cáncer cervical.

Palabras claves: citología de cuello uterino, anomalías celulares, hpv, prevalencia

Abstract

The prevalence and distribution of HPV infection in patients consulting screening for cervical cancer was evaluated. All patients had a smear and HPV test (PCR-RFLP). 3,883 cytological specimens were processed: 3,651 (94.0%) smears were normal (NILM) and 201 (5.3%) had abnormalities (AEC): 90 atypical squamous cells (2.32%), 77 squamous intraepithelial lesions (1.97%), 5 invasive carcinomas (0.3%) and 29 smears with atypical glandular cells (0.75%). The overall prevalence of HPV was 32.0%. 60.5% were HPV positive AEC. The HR-HPV was more frequently detected in cancer (60.0%), HSIL (59.3%), LSIL (37.7%). HPVX sequences were detected in 30.0% of ASC-H, 22.9% of ASC-US and LSIL and 20.0% of cancer. The most common HPV were: HPV6 (17.3%), HPV31 (16.0%), HPV16 (13.3%) and HPV18 and 56 genotypes in the same proportion (6.7%). The HPV16 was more frequent in the ASC-US (23.8%), HPV6 (19.0%) and HPV51 (9.5%). In LSIL, HPV31 (19.2%), HPV6 (19.2%) and HPV56 (15.4%); the HPV31 (33.3%) in HSIL, The HPV16 was detected in 100% of cervical cancers. It is necessary to establish epidemiology characteristics of HPV infection in the rest of the Venezuelan population before implementing strategies to prevent cervical cancer.

Keywords: solar sterilizer by dry process, design, construction, evaluation

Significado de las siglas utilizadas en este artículo:

NILM negativa para lesión intraepitelial escamosa o malignidad.

AEC anormalidades en células epiteliales.

AGC células glandulares atípicas.

ASC-H células con atipias que no excluyen una lesión intraepitelial escamosa de alto grado.

ASC-US células con atipias de significado indeterminado.

CIN neoplasia intraepitelial cervical.

SIL lesión intraepitelial escamosa.

LSIL lesión intraepitelial escamosa de bajo grado.

HSIL lesión intraepitelial escamosa de alto grado.

HPV virus papiloma humano.

HPV-BR virus papiloma humano de bajo riesgo oncogénico.

HPV-AR virus papiloma humano de alto riesgo oncogénico.

HPVX virus papiloma humano no identificado.

PCR reacción en cadena de la polimerasa.

RFLP Restriction Fragment Length Polymorphism / Polimorfismos de longitud de fragmentos de restricción.

Introducción

El cáncer de cuello uterino constituye la segunda causa de mortalidad femenina a nivel mundial (1). Se ha informado que en Venezuela, para el año 2008, fueron diagnosticados 3.785 nuevos casos de cáncer cervical y 1.571 muertes por esta neoplasia (2). El cáncer de cuello uterino se encuentra precedido por un espectro de lesiones precursoras denominadas histopatológicamente Neoplasia Intraepitelial Cervical (CIN) y en citología de cuello uterino, Lesión Intraepitelial Escamosa (SIL), según el Sistema Bethesda 2001 (3).

La infección persistente por genotipos

de alto riesgo oncogénico de Virus Papiloma Humano (HPV) es considerada actualmente el principal factor de riesgo necesario para el desarrollo de cáncer invasor de cuello uterino y sus lesiones precursoras (4,5,6,7). Se han identificado alrededor de 170 genotipos específicos de HPV y clasificado, de acuerdo a su asociación con cáncer y lesiones precursoras, en: de bajo riesgo (BR) y de alto riesgo (AR). Entre los HPV-AR se incluyen los genotipos HPV16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68, 70, 73 y 82, mientras que entre los HPV-BR están incluidos los genotipos HPV 6, 11, 42, 43, 44 y 55, entre otros (8, 9,10). La prevalencia y distribución de la infección por HPV varía de manera considerable geográficamente, dependiendo de la población estudiada, en particular de sus características inmunológicas, la existencia o no de lesiones en cuello uterino y fundamentalmente del método molecular que se utilice para detectar y genotipificar el ADN viral (11,12,13,14).

Así tenemos que la infección por HPV puede presentarse en el 10,7% de las pacientes con citología normal (4), cerca del 90% de los cánceres de cuello uterino (6), mientras que en pacientes con citología compatible con atipias en células escamosas de significado indeterminado (ASC-US) y lesión intraepitelial escamosa de bajo grado (LSIL) puede alcanzar el 82,9% (15) y en las pacientes con lesión intraepitelial escamosa de alto grado (HSIL) se presenta en más del 50% (4,12,16).

En Venezuela, el cáncer de cuello uterino continúa siendo un problema de salud pública relevante, cuyo diagnóstico inicial se basa en el estudio morfológico de las células que se descaman de este órgano. A pesar de ello, en este país no se han llevado a cabo estudios de población a gran escala, que incluyan casos-controles, para conocer la prevalencia real y el patrón de distribución de los genotipos de HPV más frecuentes.

Las escasas investigaciones que se han realizado incluyen poblaciones muy particulares, como pacientes con citologías anormales (17,18,19,20) o con lesiones en cuello uterino confirmadas por estudio histopatológico (21,22). Según estas investigaciones, la prevalencia general de infección por HPV oscila entre el 53,4% y 98,9% y la prevalencia del HPV-AR es de 82,9% a 98,9% (17, 21,22). El HPV16 es el genotipo viral oncogénico más frecuentemente detectado, alcanzando hasta el 63,3% en las lesiones consistentes con neoplasia intraepitelial cervical grado 3/CIN3 y 68,4% en cáncer invasor (22).

Es imperioso entonces contribuir en el establecimiento de las características epidemiológicas de la población venezolana que permita, de manera efectiva, la planificación eficaz de estrategias de prevención del cáncer de cuello uterino, basado en una metodología de detección y genotipificación de HPV complementaria al estudio citológico.

El objetivo de este estudio fue evaluar la prevalencia de infección por HPV y distribución de los genotipos virales que frecuentemente infectaron a las pacientes merideñas que acudieron a la consulta de pesquisa de cáncer de cuello uterino.

Materiales y Métodos

Material. Durante el período comprendido entre marzo de 2006 y febrero de 2012, se analizaron e informaron las citologías de cuello uterino, según los criterios establecidos por el Sistema Bethesda 2001 (3), provenientes de las pacientes que acudieron a la consulta de rutina de pesquisa de cáncer de cuello uterino y atendidas por el programa Misión Barrio Adentro, pertenecientes a comunidades rurales y del área metropolitana del Estado Mérida, Venezuela. A toda la población estudiada se le realizó simultáneamente, un hisopado cervical para la detección y genotipificación molecular de HPV, mediante la metodología PCR-RFLP (Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism).

Método. Las muestras celulares de cuello uterino para pesquisa de cáncer fueron tomadas de forma convencional, utilizando espátula de Ayre y cepillo endocervical, luego fueron fijadas con cytofix y posteriormente coloreadas con la técnica de Papanicolaou, en el Laboratorio Docente, Asistencial y de Investigación "Licda. Celina Sánchez Rincón" de la Cátedra de Citología de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de Los Andes.

Para la detección y genotipificación del HPV se tomaron muestras de cuello uterino con hisopo, las cuales se procesaron y analizaron en el Laboratorio de Biología y Medicina Experimental (LABIOMEX) de la Facultad de Medicina, Universidad de Los Andes, para extraer el ADN mediante el método clásico de precipitación con fenol-cloroformo con algunas modificaciones. Brevemente, a los hisopados se les añadió solución salina al 0,8 % y se incubó por 2 horas a 37° C y luego

se retiró el hisopo o cepillo cervical. Después de centrifugar a alta velocidad, al paquete celular se le añadió 400µL de tampón de extracción (Tris-HCl 0,2 M pH 8; EDTA 0,025 M; NaCl 0,1 M; y SDS 0,2 %), proteinasa K 0,2 mg (20 mg/mL) y 20µL de SDS 10 %. Se incubó toda la noche a 55° C. Posteriormente se añadió 100µL de Chelex-100 al 5 % y se calentó por 10 minutos a 95° C. A continuación se añadió un volumen de fenol-cloroformo-isoamilalcohol (24:23:1) y se agitó en vórtex, a la fase acuosa separada se le añadieron dos volúmenes de etanol absoluto y 0,2 volúmenes de acetato de amonio 10 M.

Se dejó precipitar el ADN por 48 horas a -20° C, y se procedió a centrifugar para bajar el precipitado. El ADN fue resuspendido en 50µL de tampón TE 10 mM pH 8.

Las muestras de ADN fueron sometidas a una reacción en cadena de la polimerasa (siglas en inglés, PCR) que amplifica un fragmento del gen de la beta-globina, para determinar la calidad del ADN. Para la PCR de detección de HPV, se utilizaron 3 a 5µL de la preparación de ADN. La mezcla de reacción consistió de tampón de PCR 1X, 5,5 mM de MgCl, 200uM de dNTP,,s, 50 picomoles de cada uno de los iniciadores MY09/MY11 y 2,5 U de Taq Polimerasa (Invitrogen). La reacción se sometió a amplificación utilizando un termociclador PTC-100 MJ Researchs con el siguiente programa: 1 min a 94° C, 30 s a 55° C y 1 min a 72° C.

Los amplificados fueron sometidos a análisis de restricción con las enzimas endonucleasas DdeI, RsaI, PstI, y HindfI. La mezcla consistió de: 10µL del amplificado, 2 unidades de enzima, tampón de reacción 1X y agua estéril para un volumen final de 20µL. La mezcla se incubó por 1 hora a 37° C y se inactivó la enzima por calentamiento a 65° C por un minuto. Para visualizar

el patrón de bandas digeridas, 5µL del digerido se sometió a electroforesis en gel de agarosa 2,5 % en tampón TBE 1X. El patrón fue comparado contra patrones de digestión conocidos para su identificación (23). Las secuencias virales no identificadas se señalaron como HPVX.

La detección de dos o más secuencias de ADN HPV detectadas simultáneamente en una misma muestra se consideró una infección múltiple por HPV. Los datos fueron analizados con el programa estadístico SPSS versión 17,0 y los resultados se presentan en cuadros y figuras.

Resultados

Se procesaron 3.883 muestras citológicas de cuello uterino. La edad de las pacientes estudiadas estaba comprendida en el rango de 13 a 89 años, con una media de 34,8 años \pm 12,2 años.

Se obtuvieron 3.651 (94,0%) citologías negativas para lesión intraepitelial o malignidad (NILM) y 201(5,3%) casos tenían anomalías en células epiteliales (AEC), distribuidos así: 90 células escamosas atípicas (2,32%): 80 ASC-US (2,06%) y 10 ASC-H (0,25%), 77 lesiones intraepiteliales escamosas (1,97%): 50 LSIL (1,28%) y 27 HSIL (0,69%), 5 cánceres invasores (0,3%) y 29 casos con células glandulares atípicas (0,75%). 31 muestras celulares fueron inadecuadas para estudio citológico (1,0%).

Imágenes citológicas de anomalías celulares se muestran en la Figura 1.

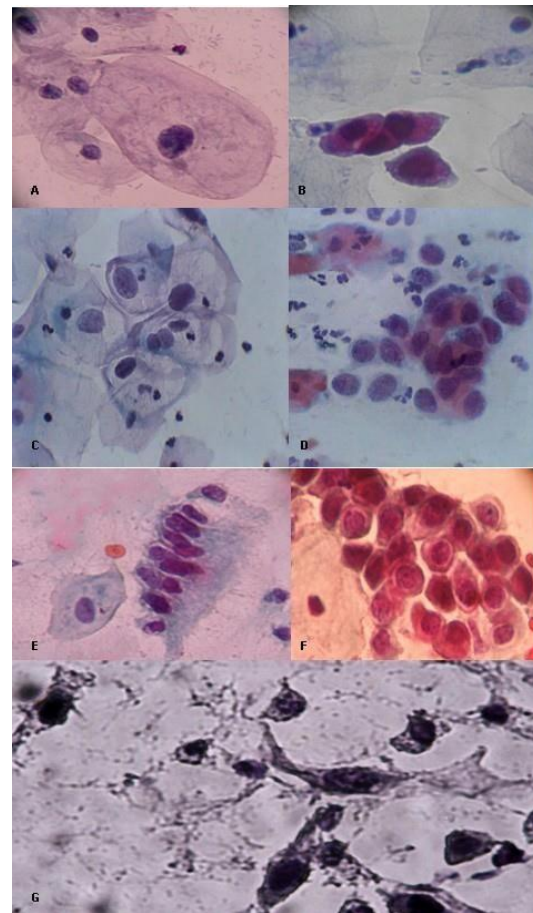


Figura 1

Imágenes citológicas de anomalías en células epiteliales de las muestras de cuello uterino de este estudio. Coloración de Papanicolaou. A. Célula escamosa de tipo intermedio atípica, con aumento del tamaño nuclear y megalocitosis (20X). B. Células metaplásicas inmaduras atípicas, con hiper cromasia nuclear y megalocariosis discreta (40X). C. Lesión Intraepitelial Escamosa de bajo grado (LSIL/HPV). Coilocitos asociados a infección por HPV (20X). D. Lesión Intraepitelial Escamosa de alto grado (HSIL). Células metaplásicas inmaduras discarióticas (40X). E. Células endocervicales en empalizada atípicas, con anisocariosis y pleomorfismo nuclear (20X). F. Células endocervicales en panel atípicas, destacando la anisocariosis discreta y halos perinucleares rígidos, probablemente asociados a infección por HPV (40X). G. Células pleomórficas con características de malignidad, sobre fondo diatésico, compatible con carcinoma invasor de cuello uterino (40X).

La prueba molecular para detección y genotipificación de HPV se realizó a las 3.883 muestras cervicales. De estas, fueron excluidas 113 porque no tenían resultado de la prueba molecular y 137 porque fueron inadecuadas para ese estudio.

La muestra final fue de 3.633 casos con citología y resultado de la prueba de HPV. Del total de muestras analizadas (3.633) resultaron positivas para la prueba de HPV 1.160 (32,0%). En el 10,4% se detectó HPV-AR. Una secuencia viral no identificada (HPVX) estaba presente en el 13,8% de las muestras. De los 201 casos con anomalías en células epiteliales, 185 tenían disponible los resultados de la prueba de HPV, de los cuales 112 fueron positivos (60,5%): 37 ASC-US, 4

ASC-H, 36 LSIL, 23 HSIL, 4 cánceres y 8 AGC. Los HPV-AR fueron más frecuentemente detectados en cáncer (60,0%), HSIL (59,3%), LSIL (37,7%). En los casos de atipias también fueron detectados: ASC-US (17,1%) y AGC (10,7%). Secuencias de HPVX fueron detectadas en 30,0% de ASC-H, 22,9% de ASC-US, en el 20,0% de LSIL y cáncer; en el 18,6% HSIL y en el 3,7% de las AGC. El 20,0% de las LSIL tenían positividad para un tipo de HPV-BR seguidas del 14,3% de las AGC y ASC-US (12,9%). La infección múltiple por HPV fue poco frecuente: un caso de ASC-H y uno de LSIL. Estos resultados se presentan en el Tabla I. La distribución porcentual de los genotipos específicos de HPV hallados en este estudio se presenta en la Figura 2. En orden decreciente, los HPV más frecuentes fueron: HPV6 (17,3%), HPV31 (16,0%), HPV16 (13,3%) y los HPV18 y HPV56, ambos en la misma proporción (6,7%). En la Tabla II se aprecia la distribución de los genotipos específicos de HPV, observándose que ésta varía entre

las diferentes anomalías en células epiteliales. En los casos categorizados como ASC-US los tres genotipos virales de mayor prevalencia fueron el HPV16 (23,8%), HPV6 (19,0%), HPV51 (9,5%), en las LSIL: HPV31 (19,2%), HPV6 (19,2%), HPV56 (15,4%) y en las HSIL: HPV31 (33,3%) y en la misma proporción: HPV16, HPV18 y HPV58 (11,1%). El HPV16 se detectó en todos los casos de cáncer invasor (100%). Los genotipos más comunes en las citologías con AGC fueron el HPV 6 (42,9%) y HPV 52 (28,6%).

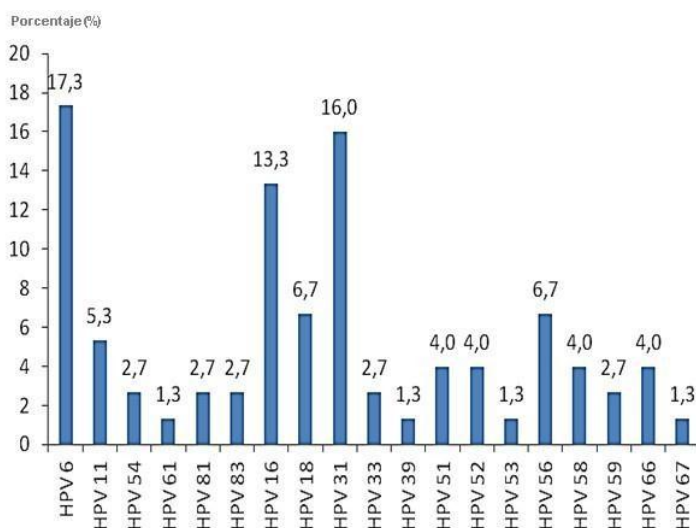


Figura 2. Distribución porcentual de los genotipos específicos de HPV en los casos con anomalías en células epiteliales.

ANORMALIDADES EN CÉLULAS EPITELIALES					
Genotipos HPV	ASC-US (%)	LSIL (%)	HSIL (%)	Ca (%)	AGC (%)
HPV 6	4(19,0)	5(19,2)	1(5,6)	0	3(42,9)
HPV 11	1(4,8)	2(7,7)	1(5,6)	0	
HPV 54	1(4,8)	1(3,8)	0	0	
HPV 61	1(4,8)	0	0	0	
HPV 81	1(4,8)	1(3,8)	0	0	
HPV 83	1(4,8)	0	0	0	1(14,3)
HPV 16	5(23,8)	0	2(11,1)	3(100)	
HPV 18	2(9,5)	1(3,8)	2(11,1)	0	
HPV 31	1(4,8)	5(19,2)	6(33,3)	0	
HPV 33	0	1(3,8)	1(5,6)	0	
HPV 39	1(4,8)	0	0	0	
HPV 51	2(9,5)	0	1(5,6)	0	
HPV 52	0	1(3,8)	0	0	2(28,6)
HPV 53	0	1(3,8)	0	0	
HPV 56	0	4(15,4)	1(5,6)	0	
HPV 58	0	1(3,8)	2(11,1)	0	
HPV 59	1(4,8)	0	1(5,6)	0	
HPV 66	0	3(11,5)	0	0	
HPV 67	0	0	0	0	1(14,3)

Tabla II: Prevalencia de los genotipos específicos de HPV en las anomalías en células epiteliales.

Prueba HPV	Anormalidades en células epiteliales.					
	ASC-US (%)	ASC-H (%)	LSIL (%)	HSIL (%)	Ca (%)	AGC (%)
Negativa	33 (47,1)	6 (60,0)	9 (20,0)	4 (14,8)	1 (20,0)	20 (71,4)
Positiva	37 (52,9)	4 (40,0)	36 (80,0)	23 (85,2)	4 (80,0)	8 (28,6)
HPV BR	9 (12,9)	0	9 (20,0)	2 (7,4)	0	4 (14,3)
HPV AR	12 (17,1)	0	17 (37,7)	16 (59,3)	3 (60,0)	3 (10,7)
HPV X	16 (22,9)	3 (30,0)	9 (20,0)	5 (18,6)	1 (20,0)	1 (3,7)
Infección múltiple	0	1 (10,0)	1 (2,3)	0	0	0

Tabla I: Infección por HPV en citologías con anomalías en células epiteliales.

Discusión

La genotipificación de HPV se ha ido incorporando a la pesquisa de rutina de cáncer de cuello uterino y actualmente este resultado es considerado en los diferentes algoritmos de manejo clínico durante las consultas ginecológicas (24). Así mismo, el conocimiento del patrón de infección por HPV es de interés para el diseño de estrategias de prevención como vacunas específicas, de mayor eficacia para las diferentes poblaciones, de acuerdo con sus características epidemiológicas (25).

La determinación de la prevalencia de infección por HPV es útil en la clasificación de las pacientes que presentan resultados citológicos con AEC, especialmente en el triage de ASC-US/LSIL y que requieren tratamiento inmediato y vigilancia periódica, para evaluar su verdadero riesgo de desarrollar una lesión cervical clínicamente significativa. El riesgo de progresión a cáncer de cuello uterino varía dependiendo del genotipo de HPV presente. Los HPV-AR como el HPV16 y HPV18, entre otros de alto riesgo oncogénico, son los más asociados con un riesgo elevado de desarrollar lesiones de alto grado, como CIN2/3-carcinoma in situ (4,6,8,16,25,26). La prevalencia y distribución de los genotipos de HPV en las distintas investigaciones varía considerablemente en las diferentes regiones del mundo y nacionales, señalándose básicamente que estas variables dependen de aspectos que se continúan repitiendo, cuando se consulta la literatura relacionada, como: características epidemiológicas de la población que se estudia incluyendo el estado inmunológico y de los diferentes métodos moleculares utilizados para la detección y genotipificación del ADN HPV.

La prevalencia general de HPV en este

estudio fue de 32,0%, la cual es semejante al 34,2% encontrada en el estudio de 60.775 pacientes realizado en Korea por Lee y col en 2012 (27), quienes utilizaron un procedimiento de tipificación viral similar al de este estudio y quienes además hallaron 16% de citologías con anomalías en células epiteliales.

También Argiry y col 2013 (28) obtuvieron una prevalencia de HPV (33,1%) semejante a la del presente estudio; su investigación incluyó 3.170 pacientes griegas con citologías normales y anormales, aunque la metodología utilizada fue ADN HPV-Chip.

En Venezuela, la presencia de HPV en pacientes con citologías o biopsias anormales varía entre el 53,4% y 98,9% (17,19,21,22). Las variaciones en la prevalencia podrían deberse a la inconstancia en el número y tipo de lesiones incluidas en cada estudio, al número y tipo de interpretaciones citológicas o histopatológicas y a la metodología utilizada en estos, según explican Lee y col 2012 (27), Dunsun y col 2013 (29) y Zhou y col 2014 (30). En este estudio, se observó que el 60,5% de las citologías categorizadas como AEC eran positivas para la prueba de HPV, similar a lo informado por de Jonge y col 2013 (31) y difiriendo ligeramente de otros estudios desarrollados en Venezuela (17,21,22), coincidiendo con otras investigaciones en que a medida que aumentó la severidad de la lesión, se incrementó también la prevalencia de HPV (11, 28,32).

La distribución de los genotipos específicos de HPV también muestra variación geográficamente (33,34). Esta variación posiblemente se debe al tipo de lesiones cervicales estudiadas, a la heterogeneidad en las características epidemiológicas de las poblaciones y a la de los protocolos de detección y genotipificación de HPV utilizados en los diferentes estudios (27). El HPV 16 es el genotipo de HPV oncogénico más frecuentemente detectado en pacientes con cáncer y lesiones premalignas de cuello uterino, tanto por citología como por biopsia (7,14, 21,22,35), así como en pacientes con citologías normales (33).

En las pacientes con cáncer cervical del presente estudio, el HPV16 fue el único genotipo viral detectado (100%). Esto indica que aun cuando hay marcadas diferencias en la prevalencia de HPV en las diferentes categorías citológicas (ASC-US, ASC-H, LSIL, HSIL) entre regiones y países, el HPV16 continúa siendo el principalmente asociado al cáncer de cuello uterino (31).

Contrario a lo reflejado en la mayoría de los estudios, tanto a nivel mundial como en Venezuela, en este estudio, el HPV31 fue detectado con mayor frecuencia que el HPV16, sobre todo en los casos de lesiones premalignas (LSIL y HSIL). El HPV31 también fue hallado en otros estudios que incluyeron cáncer y CIN2/3 del cuello uterino (4,13,16,21,22,25,31,36).

Según Halfon y col 2013 (16), el 52% de las pacientes con HPV31 podría tener mayor riesgo a desarrollar una lesión intraepitelial cervical grado 2 o más (CIN2+) en comparación con el 58% si fuese HPV16 ó 28% si fuese HPV18. La inclusión de genotipos de HPV AR diferentes a los HPV16 y 18, como los HPV31, 33, 45, 52, 56 y 58, en vacunas de segunda generación, actualmente en desarrollo (37), podrían prevenir casi el 90% de los cánceres invasores de cuello uterino a nivel mundial. También los genotipos HPV51, 52, 56 y 58 fueron frecuentes en algunas de las categorías citológicas de este estudio, coincidiendo con otros estudios venezolanos (21,22). El HPV52 ha sido detectado con frecuencia en casos de cáncer y CIN2/3 en pacientes venezolanas (21,22).

Por ello, debe investigarse la participación de estos otros genotipos oncogénicos de HPV en la carcinogénesis del cuello uterino de las pacientes de este medio, para determinar si es necesaria su inclusión o no en las futuras vacunas polivalentes de segunda generación (25,27,29). Así como si son de interés local para el manejo clínico conveniente de las pacientes y en el diseño de metodologías de detección de HPV.

En este estudio, de manera llamativa, se obtuvo un 18,9% de secuencias virales que no pudieron ser identificadas (HPVX), porcentaje mayor al informado por Aedo y col 2007, el cual fue igual

a 10% (38), quienes usaron el mismo método de genotipificación que en este estudio. Se deben realizar investigaciones futuras con técnicas moleculares como la secuenciación, que permitan identificar estos genotipos desconocidos de HPV a fin de establecer el verdadero patrón de infección por HPV en esta región. El 28,6% de las atipias en células glandulares (AGC) de cuello uterino incluidas en este estudio fue positivos para HPV.

El rango de infección por HPV en pacientes con AGC oscila entre 25,0% y 38,0% (39,40,41). La presencia de AGC es un hallazgo citológico infrecuente, pero su importancia clínica radica en que un elevado porcentaje de pacientes HPV positivas con este tipo de resultado citológico está asociado a un mayor riesgo de adenocarcinoma endocervical (40). Además, un porcentaje significativo de pacientes con AGC podría presentar una biopsia positiva para HSIL o cáncer invasor, así como neoplasia extrauterina (42,43,44). Por ello, en las recomendaciones para el manejo clínico de las pacientes con AGC se incluye específicamente la detección de HPV-AR, para identificar aquellas con un riesgo elevado de padecer una lesión significativa (24,45,46).

En el estudio de Namugenyi y col 2013 (40), quienes estudiaron 53 casos de AGC y 338 controles encontraron que el 13,2% era positivo para HPV-BR y el 20,8% para HPV-AR, mientras que en este estudio correspondió a 14,3% (HPV6 y HPV83) y 10,7%, (HPV16 y HPV52), respectivamente. En otro estudio que incluyó aproximadamente 10.000 citologías en base líquida, obtenidas de pacientes de un programa de pesquisa de cáncer cervical en Bélgica, hallaron positividad para HPV-AR en el 32,0% de las citologías cervicales con AGC (36). Aunque el número de casos con AGC de este estudio era bajo, se recomienda realizar estudios en este tipo de pacientes para establecer sus características y riesgos de desarrollar neoplasia. En este estudio, el HPV6 fue el genotipo de HPV-BR más frecuente (17,3%). Los HPV de bajo riesgo oncogénico son la causa más frecuente de una elevada proporción de verrugas genitales, cuyas citologías cervicales muestran compatibilidad con ASC-US/LSIL (14,47).

Los hallazgos de este estudio deben interpretarse con mesura debido a las siguientes limitaciones: en primer lugar, se estudió sólo una parte de la población, no siendo representativa de toda la región merideña, por lo

que sería necesario ampliar la cobertura, de manera que se pueda disponer de datos más precisos, tanto a nivel regional como nacional. En segundo lugar, no se dispuso de suficientes datos de seguimiento de la población estudiada para complementar la información. Y finalmente, la comparación de prevalencia y distribución de los genotipos de HPV en esta región con la global se vio afectada debido a que la metodología utilizada en este estudio fue diferente a la que se utiliza frecuentemente en las investigaciones, tanto nacionales como internacionales.

Además, hubo una alta proporción de HPVX, no identificados, impidiendo el establecimiento más exacto de la prevalencia de genotipos específicos de HPV. En base a estas limitaciones, recomendamos ampliar la población estudiada, identificar el genotipo viral específico en los casos positivos para HPVX y determinar la prevalencia general de esta infección incluyendo casos y controles. De ser posible, realizar seguimiento a los casos con ACE por biopsia, que permitan correlacionar la oncogenicidad del genotipo viral detectado con la presencia de lesiones en cuello uterino clínicamente significativas. Los hallazgos de este

estudio permiten concluir que en esta región, la infección por HPV oncogénico es elevada en pacientes con anomalías en células epiteliales del cuello uterino. El HPV31 es un genotipo oncogénico bastante frecuente en pacientes con citologías anormales, además de los genotipos HPV16, 18 y 56, por lo que antes de implementar cualquier estrategia de prevención del cáncer de cuello uterino, como un programa de vacunación nacional, es necesario establecer las características epidemiológicas de la infección por HPV en la población venezolana, utilizando protocolos moleculares estandarizados para su detección y genotipificación, para caracterizar con mayor exactitud a la población y determinar el impacto de las vacunas existentes y de segunda generación, en la población venezolana.

Agradecimientos

Las autoras manifiestan su agradecimiento al FONACIT por el financiamiento parcial de este proyecto: FONACIT N° 2005000180 y al personal Asistencial y Técnico de la Cátedra de Citología de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis-ULA, y muy especialmente a los profesores Militza Quintero Vega y Jhon Cruz Gómez de LABIOMEX, Facultad de Medicina, Universidad de Los Andes, quienes se encargaron de la detección y genotipificación de HPV en las muestras cervicales incluidas en este estudio.

Conflicto de intereses

Los autores declaran la inexistencia de conflictos de intereses.

R eferencias

1. Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin DM. 2008. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN. *Int J Cancer*.127:2893-2917.
2. Capote Negrín L. 2013. Perfil epidemiológico y control del cáncer en Venezuela. *Gac Med Caracas*.121:43-52.
3. Solomon D, Nayar R. 2004. The Bethesda System for reporting cervical cytology. Springer. Definitions, Criteria, and Explanatory Notes. Springer. ISBN 978-0-387-40358-8.
4. Smith JS, Lindsay L, Hoots B, Keys J, Franceschi S, Winer R, et al. 2007. Human papillomavirus type distribution in invasive cervical cancer and high-grade cervical lesions: a meta-analysis update. *Int J Cancer*. 121:621-632.
5. de Sanjose S, Quint WG, Alemany L, Geraets DT, Klaustermeier JE, Lloveras B, et al. 2010. Retrospective International Survey and HPV Time Trends Study Group. Human papillomavirus genotype attribution in invasive cervical cancer: a retrospective cross-sectional worldwide study. *Lancet Oncol*. 1048-1056.
6. Alemany L, Pérez C, Tous S, Llombart-Bosch A, Lloveras B, Lerma E, et al. 2011. Spanish study group RIS HPV TT. Human papillomavirus genotype distribution in cervical cancer cases in

Spain. Implications for prevention. *Gynecol Oncol.* 124:512-517.

7. Alemany L, de Sanjosé S, Tous S, Quint W, Vallejos C, Shin HR, et al. 2014. RIS HPV T1 Study Group. Time trends of human papillomavirus types in invasive cervical cancer, from 1940 to 2007. *Int J Cancer.* 135:88-95.

8. Muñoz N, Bosch FX, de Sanjosé S, Herrero R, Castellsagué X, Shah KV, et al. 2003. International Agency for Research on Cancer Multicenter Cervical Cancer Study Group. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *N Engl J Med.* 348:518-527.

9. de Villiers EM, Fauquet C, Broker TR, Bernard HU, zur Hausen H. 2004. Classification of papillomaviruses. *Virology.* 324:17-27.

10. de Villiers EM. Cross-roads in the classification of papillomaviruses. 2013. *Virology.* 445:2-10.

11. Nobre RJ, Cruz E, Real O, de Almeida LP, Martins TC. 2010. Characterization of common and rare human papillomaviruses in Portuguese women by the polymerase chain reaction, restriction fragment length polymorphism and sequencing. *J Med Virol.* 82:1024-1032.

12. Tricco AC, Ng CH, Gilca V, Anonychuk A, Pham B, Berliner S. 2011. Canadian oncogenic human papillomavirus cervical infection prevalence: systematic review and meta-analysis. *BMC Infect Dis.* 11:235-246.

13. Martín P, Kilany L, García D, López-García AM, Martín-Azaña MJ, Abaira V, et al. 2011. Human papillomavirus genotype distribution in Madrid and correlation with cytological data. *BMC Infect Dis.* 11:316-320.

14. Bzhalava D, Guan P, Franceschi S, Dillner J, Clifford G. 2013. A systematic review of the prevalence of mucosal and cutaneous human papillomavirus types. *Virology.* 445:224-231.

15. Human papillomavirus testing for triage of women with cytologic evidence of low-grade squamous intraepithelial lesions: baseline data from a randomized trial. The Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance/Low-Grade Squamous Intraepithelial Lesions Triage Study (ALTS) Group. *J Natl Cancer Inst* 2000;92(5):397-402.

16. Halfon P, Lindemann ML, Raimondo A, Ravet S, Camus C, Khiri H, et al. 2013. HPV genotype distribution according to severity of cervical neoplasia using the Digene HPV genotyping LQ test. *Arch Virol.* 158:1143-1149.

17. Correnti M, Cavazza ME, Herrera O, Rodríguez A. 2010. Presence of human papillomavirus infection determined by hybrid capture assay in cervical lesions in a Venezuelan population. *Invest Clin.* 51: 27-35.

18. Somogyi L, Malpica Gracián CC, Alvarado B, García M. 2010. Virus del papiloma humano (VPH) detección y tipificación en la consulta privada. *Rev Obstet Ginecol Venez.* 70:160-166.

19. López M, Guillén M, Quintero M, Cruz J, Puig J, Toro de Méndez M. 2012. Infección por virus papiloma humano en pacientes con células escamosas atípicas de un programa de pesquisa de cáncer cervical. *Rev Obstet Ginecol Venez.* 72: 19-27.

20. Rivas E, Verlezza S, Flores M. Distribución genotipo-específico del virus papiloma humano entre hombres y mujeres de Caracas, Venezuela. 2012. *Rev Obstet Ginecol Venez.* 72:171-176.

21. Correnti M, Medina F, Cavazza ME, Rennola A, Avila M, Fernández A. 2011. Human papillomavirus (HPV) type distribution in cervical carcinoma, low-grade, and high-grade squamous intraepithelial lesions in Venezuelan women. *Gynecol Oncol.* 121(3):527-531.

22. Sánchez-Lander J, Cortiñas P, Loureiro CL, Pujol FH, Medina F, Capote-Negrín L, et al. 2012. Human papillomavirus in invasive cervical cancer and cervical intraepithelial neoplasia 2 and 3 in Venezuela: a cross-sectional study. *Cancer Epidemiol.* 36: e284-e287.

23. Bernard HU, Chan S, Manos M, Ong CH, Villa L, Delius H, et al. 1994. Identification and assessment of known and novel human papillomaviruses by polymerase chain reaction amplification, restriction fragment length polymorphisms, nucleotide sequence, and phylogenetic algorithms. *J Infect Dis.* 170:1077-1085.

24. Saslow D, Solomon D, Lawson HW, Killackey M, Kulasingam SL, Cain J, et al. 2012. ACS-ASCCP-ASCP Cervical Cancer Guideline Committee. American Cancer Society, American Society for Colposcopy and Cervical Pathology, and American Society for Clinical Pathology. screening guidelines for the prevention and early detection of cervical cancer. *CA Cancer J Clin.* 62:147-172
25. Ciapponi A, Bardach A, Glujovsky D, Gibbons L, Picconi MA. 2011. Type-specific HPV prevalence in cervical cancer and high-grade lesions in Latin America and the Caribbean: systematic review and meta-analysis. *PLoS One.* 6:e25493.
26. Gage JC, Schiffman M, Solomon D, Wheeler CM, Gravitt PE, Castle PE, et al. 2013. Risk of precancer determined by HPV genotype combinations in women with minor cytologic abnormalities. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 22:1095-1101.
27. Lee EH, Um TH, Chi HS, Hong YJ, Cha YJ. 2012. Prevalence and distribution of human papillomavirus infection in Korean women as determined by restriction fragment mass polymorphism assay. *J Korean Med Sci.* 27:1091-1097.
28. Argyri E, Papaspyridakos S, Tsimplaki E, Michala L, Myriokefalitaki E, Papassideri I, et al. 2013. A cross sectional study of HPV type prevalence according to age and cytology. *BMC Infect Dis.* 13:53. doi:10.1186/1471-2334-13-53.
29. Dursun P, Ayhan A, Mutlu L, Çağlar M, Haberal A, Güngör T, et al. 2013. HPV types in Turkey: multicenter hospital based evaluation of 6388 patients in Turkish gynecologic oncology group centers. *Turk Patoloji Derg.* 29:210-216.
30. Zhou H, Mody DR, Schwartz MR, Coffey DM, Smith D, Zwain OA, et al. 2014. Genotype-specific prevalence and distribution of human papillomavirus genotypes in underserved Latino women with abnormal Papanicolaou tests. *J Am Soc Cytopathol* 3:42-48.
31. de Jonge M, Busecke G, Heinecke A, Bettendorf O. 2013. Human papillomavirus genotype distribution in cytologically screened women from northwest Germany. *Acta Cytol.* 57(6):591-598.
32. Vidal A, Murphy S, Hernandez B, Vasquez B, Bartlett J, Onoko O, et al. 2011. Distribution of HPV genotypes in cervical intraepithelial lesions and cervical cancer in Tanzanian women. *Infectious Agents and Cancer.* 6:20.
33. Clifford GM, Gallus S, Herrero R, Muñoz N, Snijders PJ, Vaccarella S, et al. 2005. IARC HPV Prevalence Surveys Study Group. Worldwide distribution of human papillomavirus types in cytologically normal women in the International Agency for Research on Cancer HPV prevalence surveys: a pooled analysis. *Lancet.* 366:991-998.
34. de Sanjosé S, Diaz M, Castellsagué X, Clifford G, Bruni L, Muñoz N, et al. 2007. Worldwide prevalence and genotype distribution of cervical human papillomavirus DNA in women with normal cytology: a meta-analysis. *Lancet Infect Dis.* 7:453-459.
35. Simonella LM, Lewis H, Smith M, Neal H, Bromhead C, Canfell K. 2013. Type-specific oncogenic human papillomavirus infection in high grade cervical disease in New Zealand. *BMC Infect Dis.* 13:114-123.
36. Arbyn M, Benoy I, Simoens C, Bogers J, Beutels P, Depuydt C. 2009. Prevacination distribution of human papillomavirus types in women attending at cervical cancer screening in Belgium. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 18:321-230.
37. Serrano B, Alemany L, Tous S, Bruni L, Clifford GM, Weiss T, et al. 2012. Potential impact of a nine-valent vaccine in human papillomavirus related cervical disease. *Infect Agent Cancer.* 7:38-48.
38. Aedo S, Melo A, García P, Guzmán P, Capurro I, Roa JC. 2007. Detección y tipificación de virus papiloma humano en lesiones preneoplásicas del cuello uterino mediante PCR-RFLP. *Rev Méd Chile.* 135:167-173.
39. Derchain SF, Rabelo-Santos SH, Sarian LO, Zeferino LC, de Oliveira Zambeli ER, do Amaral Westin MC, et al. Human papillomavirus DNA detection and histological findings in women referred for atypical glandular cells or adenocarcinoma in situ in their Pap smears. *Gynecol*

Oncol. 95:618-623.

40. Katki HA, Schiffman M, Castle PE, Fetterman B, Poitras NE, Lorey T, et al. 2013. Five-year risks of CIN 3+ and cervical cancer among women with HPV-positive and HPV-negative high-grade Pap results. *J Low Genit Tract Dis.* 17:S50-S55.
41. Namugenyi SB, Balsan MJ, Glick SN, Jordan JA. 2013. Prevalence and genotype distribution of human papillomavirus in cytology specimens containing atypical glandular cells: a case-control study. *J Clin Virol.* 58:432-436.
42. Kim SS, Suh DS, Kim KH, Yoon MS, Choi KU. 2013. Clinicopathological significance of atypical glandular cells on Pap smear. *Obstet Gynecol Sci.* 56:76-83.
43. Türkmen IÇ, Başsüllü N, Korkmaz P, Güneç B, Baykal CM, Güdücü N, et al. 2013. Patients with epithelial cell abnormality in PAP smears: correlation of results with follow-up smears and cervical biopsies. *Turk Patoloji Derg.* 29(3):179-184.
44. Shoji T, Takatori E, Takeuchi S, Yoshizaki A, Uesugi N, Sugai T, et al. 2014. Clinical significance of atypical glandular cells in the Bethesda system 2001: a comparison with the histopathological diagnosis of surgically resected specimens. *Cancer Invest.* 32:105-109.
45. Zeferino LC, Rabelo-Santos SH, Villa LL, Sarian LO, Costa MC, do Amaral Westin MC, et al. 2011. Value of HPV-DNA test in women with cytological diagnosis of atypical glandular cells (AGC). *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 159:160-164.
46. Massad LS, Einstein MH, Huh WK, Katki HA, Kinney WK, Schiffman M, et al. 2013. 2012 ASCCP Consensus Guidelines Conference. 2012 updated consensus guidelines for the management of abnormal cervical cancer screening tests and cancer precursors. *Obstet Gynecol.* 121:829-846.
47. Petry KU, Luyten A, Justus A, Iftner A, Strehlke S, Schulze-Rath R, et al. 2012. Prevalence of low-risk HPV types and genital warts in women born 1988/89 or 1983/84 -results of WOLVES, a population-based epidemiological study in Wolfsburg, Germany. *BMC Infect Dis.* 12:367-375.