

**SEROTIPOS DE VPH EN PACIENTES CON LESION INTRAEPITELIAL CERVICAL DE ALTO GRADO, DIAGNOSTICADOS EN EL HOSPITAL DE II DIVISION DEL EJERCITO "LIBERTAD" DURANTE LOS AÑOS 2009 Y 2010**

**HPV SEROTYPES IN PATIENTS WITH HIGH GRADE CERVICAL INTRAEPITHELIAL INJURY, DIAGNOSED IN THE II DIVISION OF ARMY "LIBERTAD" HOSPITAL DURING YEARS 2009 AND 2010**

VERÓNICA CEVALLOS VALDEZ<sup>1</sup>, JOSELYNE ARMAS GONZÁLEZ<sup>1</sup>, FLAVIO MORENO ÁVILA<sup>2</sup>

Egresada de la Carrera de Medicina, Facultad de Ciencias Médicas Universidad Católica Santiago de Guayaquil, Ecuador.

<sup>2</sup>Médico Ginecólogo del Departamento de Ginecología y Obstetricia del HOSPITAL II DIVISION DEL EJERCITO "LIBERTAD", Guayaquil, Ecuador.

Los autores de esta investigación aseguramos que actualmente en el Ecuador no hay publicaciones similares a nuestra investigación, lo antes manifestado se confirma con el hecho de que al realizar una búsqueda en las bases de datos indexadas, no se reportan resultados de la búsqueda.

**Correspondencia:** Dr. Flavio Moreno. Departamento de Ginecología y Obstetricia Hospital HD-II-DE. Guayaquil, Ecuador. Teléfono: 593-4-2145625. E-mail: drmorenoavila@hotmail.com

## RESUMEN

**Objetivo:** Establecer los serotipos de VPH más frecuentes en pacientes con lesión intraepitelial de alto grado, diagnosticados en el Hospital de II División del Ejército.

**Método:** Estudio observacional, descriptivo y longitudinal donde se procesaron 23 muestras de pacientes que acudieron para extracción de ADN, diagnóstico y tipificación por técnicas moleculares PCR.

**Resultados:** La PCR permitió detectar el virus y su identificación. El 80.56 % de las muestras presentó VPH de alto riesgo tipos 16, 18, 31, 33, 51, 52, 58, 59 y 66 ; y el 19,44 % los tipos de VPH de bajo riesgo 6, 11 y 72.

**Conclusiones:** La técnica PCR estandarizada fue adecuada para el diagnóstico y la tipificación de VPH en muestras del área genital. En el estudio se encontró que el VPH 18 es el causante de la mayoría de las LIEAG. En la recurrencia postconización, a pesar de ser mínima, se encontraron los serotipos más agresivos, de los cuales predominó el VPH 16.

*Palabras clave: Infección por papilomavirus, displasia cervical, hospitales militares.*

## ABSTRACT

**Objective:** To establish the most frequent HPV serotypes in patients with high grade intraepithelial lesion, diagnosed at the II Division of Army Hospital.

**Methods:** Observational, descriptive and longitudinal research, where there will be processed 23 samples of patients attending for DNA extraction, diagnosis and classification using PCR molecular techniques.

**Results:** The PCR allowed the detection of the human papilloma virus and its identification. The 80.56% of the samples had high-risk HPV types 16, 18, 31, 33, 51, 52, 58, 59 and 66, and 19, 44% low-risk types 6, 11 and 72.

**Conclusions:** The standard PCR technique was adequate for diagnosis and typing of HPV in genital samples. The study found that HPV 18 is responsible for the majority of HSIL. In recurrence postconization, despite being low, serotypes were found more aggressive, of which HPV 16 predominated.

*Keywords: human papillomavirus infection, cervical dysplasia, military hospitals.*

## **INTRODUCCION**

El virus papiloma humano (VPH) es el agente causal de la neoplasia intraepitelial cervical, así como de los carcinomas de cuello uterino. Existen más de 130 tipos de este virus, de los cuales aproximadamente 40 se relacionan con infección del tracto genital, habiéndose identificado más de 15 tipos de virus de alto riesgo, cuya distribución varía ampliamente según las regiones geográficas.<sup>(1)</sup>

El cáncer de cérvix es la segunda causa más común de cáncer en mujeres a nivel mundial. Anualmente se reportan 529.000 nuevos casos y 274.000 muertes por esta enfermedad; estudios previos han reportado que el 83% de todos los cánceres del mundo se encuentran en países subdesarrollados.<sup>(2-4)</sup> Estadísticas de otros países latinoamericanos muestran que el VPH 16 y VPH 18 son los serotipos más prevalentes, asociados a cáncer cervical; causan el 70% del cáncer invasivo, 41 al 67% de lesión intraepitelial de alto grado (LIEAG), y del 16 al 32% de lesión intraepitelial de bajo grado (LIEBG). Otros serotipos oncogénicos comunes (52, 31, 33 y 45), son causantes del 30% de cáncer cervical, siendo VPH 45 el tercero más común, luego de VPH 16 y VPH 18, usualmente se asocia al adenocarcinoma y cáncer invasivo<sup>(1,5,6)</sup>.

En la mayoría de los casos, las infecciones por VPH son subclínicas (fase latente) y es difícil detectarlas por examen citológico e histopatológico, por esta razón los métodos moleculares como la reacción de la cadena de polimerasa (PCR) son recomendados para tamizaje, puesto que es la única técnica que presenta mayor sensibilidad y especificidad en el diagnóstico de VPH, detectando el ADN del virus e identificando los tipos de alto y bajo riesgo. <sup>(7)</sup>

Es importante tener conocimiento de los serotipos más comunes del Virus Papiloma Humano en el Ecuador, para poder determinar si las vacunas Cervarix y Gardasil, disponibles en nuestro medio, son las apropiadas contra este agente viral; sin embargo, debido al alto costo que conlleva la tipificación del virus en nuestro país, este tipo de investigaciones se ha visto limitada. Por este motivo se decidió analizar la estadística de los pacientes con diagnóstico de lesión intraepitelial de alto grado del Hospital de II División del Ejército “Libertad”, para tener una referencia de los serotipos de VPH más comunes en la población militar y sus familiares. Para este estudio se incluyó a los pacientes comprendidos entre el 1 de enero del 2009 hasta el 31 de diciembre del 2010.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

Se trata de un estudio observacional, descriptivo y longitudinal en el cual se incluyó a todas las pacientes diagnosticadas con lesión intraepitelial cervical de alto grado, atendidas en el servicio de Ginecología y Obstetricia del Hospital de la II División del Ejército “Libertad”, desde el 1 de enero del 2009 hasta el 31 de diciembre del 2010.

Se utilizó datos proporcionados por el Departamento de Estadística del Hospital de II División del Ejército “Libertad”, previo a la realización de solicitud por escrito dirigida al Director del hospital, Coronel Doctor Luis Silva Andrade. La identificación de las carpetas se realizó a través de las tablas de registro diario de pacientes que tuvieron como código de diagnóstico “B 97” y “N 87” del CIE -10, los cuales corresponden a Infección por Virus del Papiloma Humano y Displasia Cervical, respectivamente, en los que consta un reporte de biopsia con diagnóstico de lesión intraepitelial de alto grado.

Se incluyeron a pacientes que se les haya realizado la colposcopia, obteniendo resultados de lesiones compatibles con infección por Virus Papiloma Humano; pacientes con resultados de biopsia que indique lesión intraepitelial de alto grado; luego se efectuó la tipificación por PCR de todas las muestras positivas para VPH en el laboratorio de Biología Molecular del Instituto de Oncología

SOLCA en Guayaquil y aquellos que se hayan realizado tratamiento quirúrgico (conización) en el Hospital de II División del Ejército "Libertad".

Se excluyeron a pacientes en los que se realizó diagnóstico de carcinoma microinvasor o de mayor grado, que hayan recibido tratamiento previo antineoplásico o inmunomoduladores, y pacientes embarazadas.

Posterior a la revisión de las historias clínicas, se llenaron manualmente formularios para cada paciente donde se incluyeron las variables a estudiar. Con los datos de los formularios se procedió a elaborar una base de datos en Microsoft Excel 2010, la cual incluye las siguientes variables: Edad en años, adicionalmente se realizó separación de las pacientes en menores de 35 años y mayores o iguales a 35 años, considerando a los menores de 35 años como pacientes en edad; resultado de la biopsia (cono) realizado en el Departamento de Histopatología del Hospital de II División del Ejército "Libertad"; resultado de tipificación de VPH por PCR de muestra endocervical realizado en SOLCA Guayaquil, recurrencia de infección luego de un año de conización.

Los datos se recolectaron en la hoja de datos de Excel donde se determinaron medidas de tendencia central y dispersión. Para el análisis estadístico se utilizó el programa MedCalc, para crear una base de datos que permitiera la elaboración de tablas de diferencias de proporciones de subtipos de VPH, en pacientes que hayan tenido recurrencia de enfermedad postconización y p significancia.

## **RESULTADOS**

Inicialmente se recolectó información de 34 pacientes, sin embargo, al ajustar los criterios de inclusión y exclusión, la muestra quedó establecida en 23 pacientes; la edad promedio de la muestra fue  $40.35 \pm 11.24$  (39.11 – 44.34) con una moda de 40 años. El 65.22%(15) de la muestra corresponde a pacientes mayores o iguales a 35 años, y el 34.78%(8) restante corresponde a menores de esa edad.

Al analizar el resultado de la biopsia se determinó que la mayor parte de estos pacientes presentó Neoplasia Intraepitelial Cervical grado II (NIC II), alcanzando el 86.96%(20) de las muestras estudiadas, NIC III 8.70% (2) y sólo el 4.35% (1) de la muestra reportó carcinoma in situ. (Ver tabla1).

Los serotipos de VPH detectados por PCR extraído de muestras de cérvix en pacientes con LIEAG, fueron 6, 11, 16, 18, 31, 33, 51, 52, 58, 59, 66 y 72, encabezando la lista el VPH 18, representando el 19.44% (7) de la muestra, el cual se encuentra seguido en frecuencia por el serotipo 31, alcanzando el 16.67 % (6) de los resultados. (Ver grafico 1)

De los serotipos encontrados según el diagnóstico histopatológico, se puede observar que en NIC II el más frecuente fue el VPH 18 en un 16.1%(5), en NIC III el VPH 33 en un 50%(2) y, en cáncer in situ los VPH 16, 18 y 31 en un 33% (1). (Ver gráfico 2)

Al establecer diferencias entre las edades, se encontró que en pacientes menores de 35 años, el serotipo más frecuente fue el 31, correspondiendo al 27.3% (3); de forma similar con las mujeres mayores o de 35 años, en las cuales el serotipo con mayor frecuencia fue el 18 siendo el 21.4% (6). (Ver grafico 3 y 4).

Según resultados histopatológicos, se pudo observar que las pacientes menores de 35 años presentaron NIC II en un 100%(8), mientras que las pacientes mayores o de 35 años predominó el NIC II en un 80%(12), NIC III 13%(2) y apenas Cáncer in situ el 7%(1).(Ver grafico 5)

Se encontró que el 13.05%(3) de pacientes presentó recurrencia con LIEBG, la tercera parte de este grupo se vió relacionada con la aparición de márgenes positivos de los resultados de biopsia postconización por bisturí frío, en contraste con aquellas que no lo presentaron, correspondiendo al 86.95%(20) de las pacientes.

Los serotipos relacionados con recurrencia de la enfermedad fueron el 16 en un 33.35%(2), 18 con 16.66%(1), 31 con 16.66%(1), 33 con 16.66%(1) y 11 con 16.66%(1) (Ver gráficos 6 y 7).

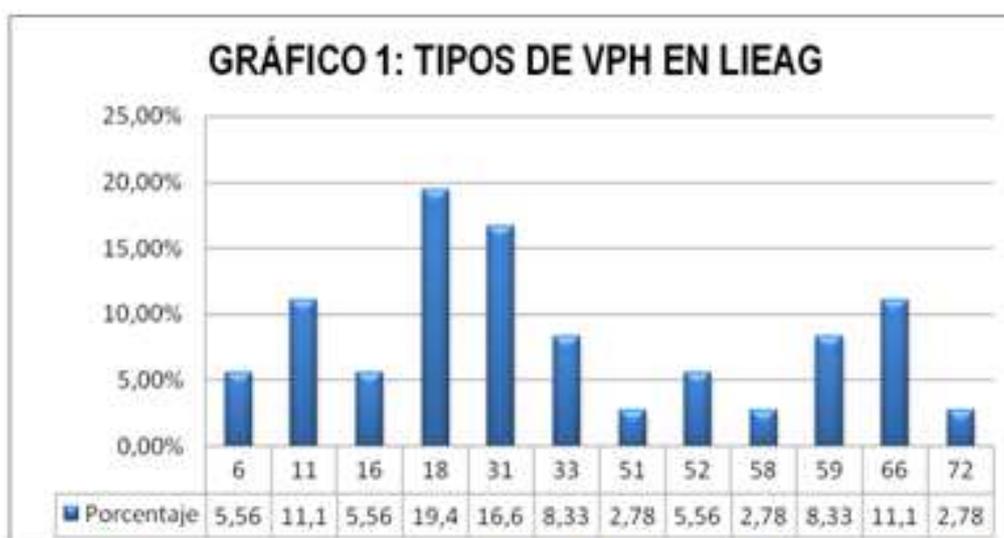
Se evaluó además la diferencia de proporciones de los serotipos entre las pacientes menores y mayores de 35 años, encontrándose los resultados en la tabla 2.

## TABLAS Y FIGURAS

**Tabla 1:** Resultados de biopsia en pacientes con LIEA

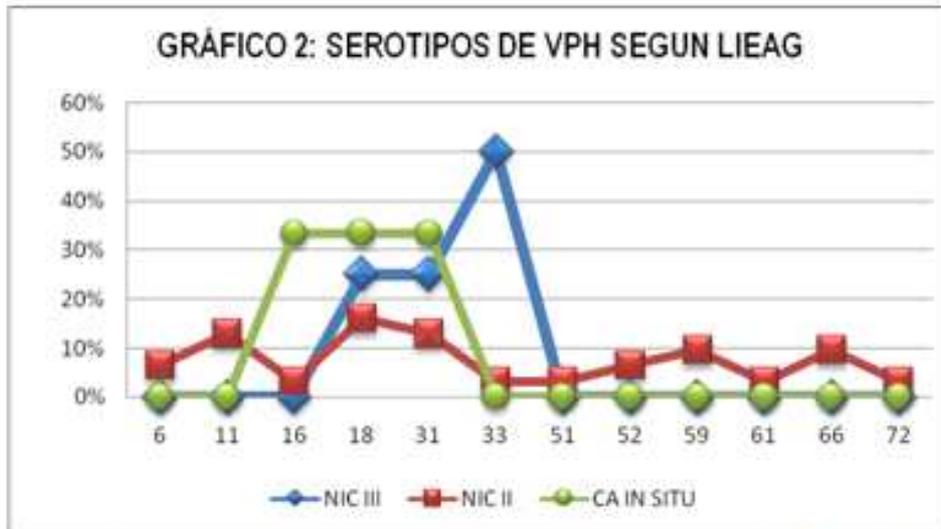
RESULTADO DE BIOPSIA	CANTIDAD	PORCENTAJE
NIC II	20	86.96%
NIC I	2	8.70%
Ca in situ	1	4.35%
Total	23	100.00%

**Fuente:** Departamento de Histopatología HG II DE Libertad.



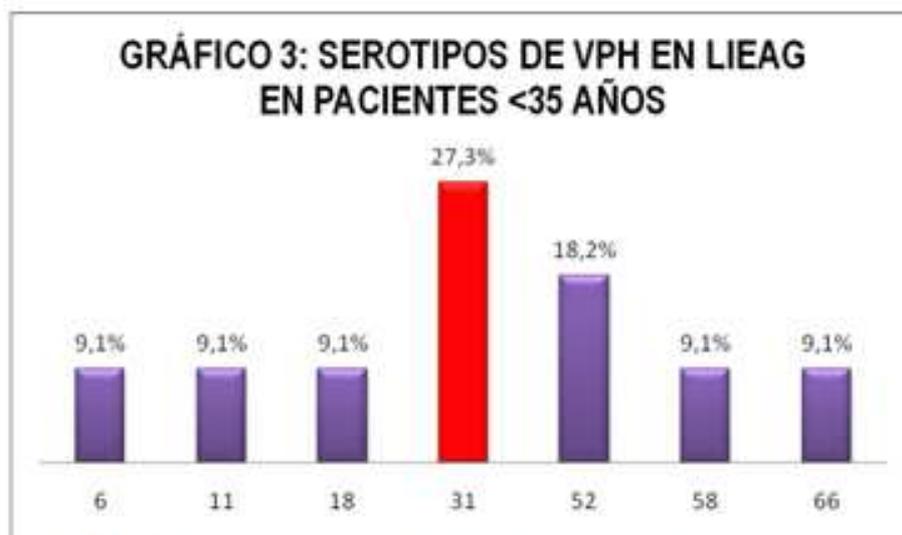
Detección de VPH por medio de PCR extraído en la muestra de cérvix en pacientes con diagnóstico de LIEAG. Especificando el tipo de VPH y su frecuencia en porcentaje.

**Fuente:** Departamento de estadística HOSPITAL DE II DIVISION DEL EJERCITO. Obtenidos por el laboratorio de Biología Molecular del Instituto de Oncología SOLCA en Guayaquil.



Serotipo de VPH determinado por PCR y su frecuencia en porcentaje acorde al tipo de LIEAG por diagnóstico histopatológico.

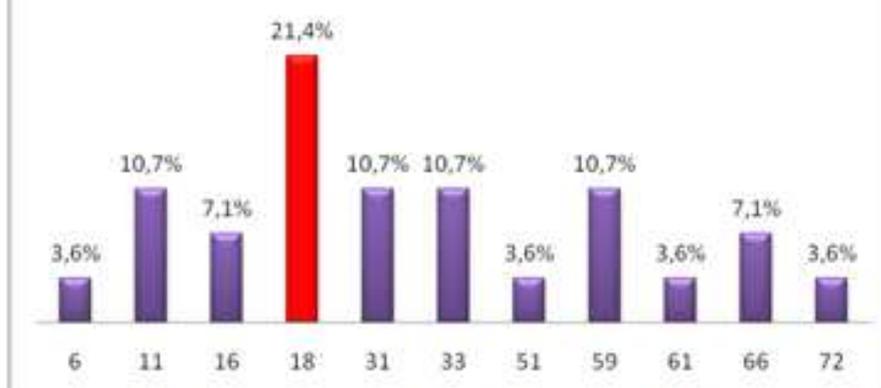
Fuente: Departamento de estadística HOSPITAL DE II DIVISION DEL EJERCITO, obtenidos por el laboratorio de Biología Molecular del Instituto de Oncología SOLCA en Guayaquil y del Departamento de Histopatología HG II DE Libertad



Serotipos de VPH y su frecuencia en porcentaje determinado por PCR de muestra de cérvix tomado en pacientes menores a 35 años de edad con LIEAG.

Fuente: Departamento de estadística HOSPITAL DE II DIVISION DEL EJERCITO, obtenidos por el laboratorio de Biología Molecular del Instituto de Oncología SOLCA en Guayaquil y del Departamento de Histopatología HG II DE Libertad

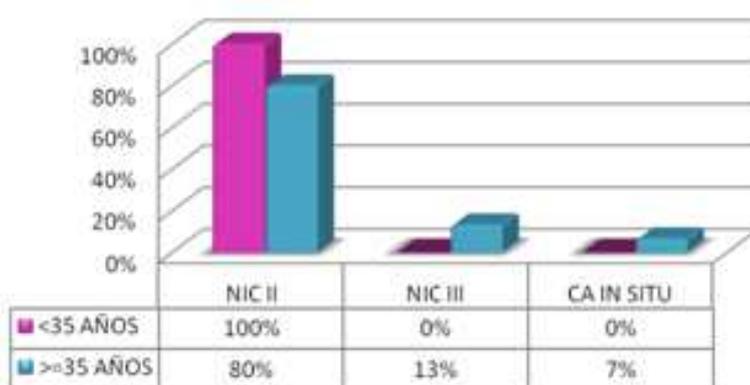
**GRÁFICO 4: SEROTIPOS DE VPH EN LIEAG EN PACIENTES >=35 AÑOS**



Serotipo de VPH y su frecuencia en porcentaje determinado por PCR de muestra de cérvix tomado en pacientes mayores o igual a 35 años de edad con LIEAG.

Fuente: Departamento de estadística HOSPITAL DE II DIVISION DEL EJERCITO, obtenidos por el laboratorio de Biología Molecular del Instituto de Oncología SOLCA en Guayaquil y del Departamento de Histopatología HG II DE Libertad

**GRÁFICO 5: RESULTADOS DE BIOPSIA SEGÚN GRUPO ETÁREO**



Resultados según su grupo etáreo y su frecuencia en porcentaje acorde al tipo de LIEAG por diagnóstico histopatológico.

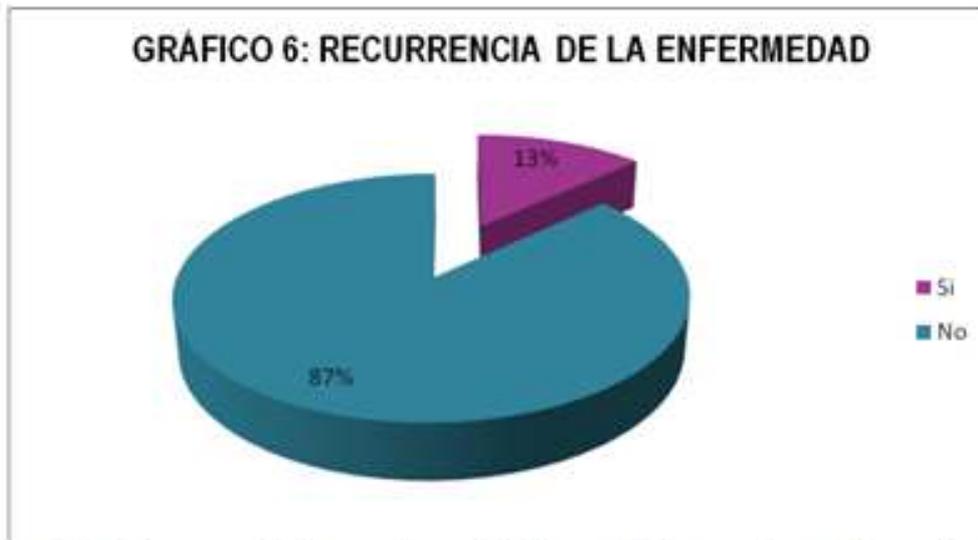
Fuente: Departamento de estadística HOSPITAL DE II DIVISION DEL EJERCITO, obtenidos por el Departamento de Histopatología HG II DE Libertad

**Tabla 2:** Relación de los serotipos en pacientes < y ≥35 años

	Diferencia de proporciones (IC 95%)	p
Serotipo 16	1.72% (24.76% - 38.83%)	0.678
Serotipo 31	3.80% (35.072% - 32.97%)	0.823
Serotipo 11	4.280% (28.39%- 32.00%)	0.8097
Serotipo 18	9.08 % (28.011%-33.934%)	0.9044

Comparación de proporciones relacionados con la edad considerando significativo  $p < 0.05$

Fuente: Datos ingresados en software SPSS



Recurrencia de lesiones cervicales causadas por VPH en pacientes que fueron diagnosticadas por LIEAG

a) año de haberse realizado conización.

Fuente: Departamento de estadística HOSPITAL DE II DIVISION DEL EJERCITO, obtenidos por Departamento de Histopatología HG II DE Libertad



Serotipos de VPH determinados por PCR en pacientes que presentaron lesiones cervicales un año posterior a realizarse conización luego de tener diagnóstico histopatológico de LIEAG.

Fuente: Departamento de estadística HOSPITAL DE II DIVISION DEL EJERCITO, obtenidos por el laboratorio de Biología Molecular del Instituto de Oncología SOLCA en Guayaquil y Departamento de Histopatología HG II DE Libertad.

## DISCUSIÓN

El cáncer cérvico uterino es uno de los problemas más grandes de salud pública en América Latina. En el Ecuador, el cáncer uterino es la primera causa de muerte.<sup>(1,5,8)</sup>

La tasa de incidencia del carcinoma invasor del cuello uterino aumenta considerablemente a partir de los 40-44 años, llegando a tener cifras tan altas como 18/100.000 mujeres a la edad de los 65 años, de acuerdo al Registro Nacional de Tumores de Quito. Según el Ministerio de Salud Pública las estadísticas realizadas en el 2006 son de 17/100.000 mujeres, que al año fueron 724, por lo tanto serían 2 mujeres diarias que fallecen por cáncer cérvico uterino, lo cual es un dato alarmante, razón importante para continuar con la prevención primaria y secundaria.<sup>(9-11)</sup>

Actualmente se plantea que existe una fuerte asociación entre la forma invasiva del cáncer cervicouterino y los virus del papiloma humano, los que en la actualidad suman ya cerca de 130 tipos, de los cuales 40 afectan al tracto genital. Se clasifican de alto o bajo riesgo, según su repercusión en

el grado de invasión. <sup>(2,12,13)</sup> Los VPH 6 y 11 son capaces de producir condiloma acuminado de comportamiento benigno y autolimitado, llamados de bajo riesgo, y raramente se asocian a cáncer; en cambio otros, como los VPH 16, 18, 31, 58 y 66, son de fácil reconocimiento clínico y de alto poder oncogénico, sobre todo en el cérvix. El VPH-16 tiene mayor proporción en el cáncer escamoso, mientras que el VPH-18 se encuentra más relacionado con el adenocarcinoma. <sup>(7,14)</sup>

En el presente estudio se encontró mayor frecuencia de los subtipos 18, 31 y 16, sin embargo también se detectó la presencia de los subtipos 33, 51, 52, 58, 59 y 66, los cuales se consideran de alto riesgo por su relación con el desarrollo de lesiones intraepiteliales de alto grado, y contra los cuales ninguna vacuna profiláctica brinda protección. Aunque su presencia es en bajo porcentaje, se deben considerar como subtipos virales importantes debido a que han sido detectados en la población. La ampliación del estudio a un número más grande de participantes permitirá poner en evidencia la existencia en la población de otros tipos virales.

El alto costo de los exámenes para determinar el serotipo de VPH, es un factor limitante para el tamaño y procesamiento de las muestras, lo que originó una baja potencia estadística en el cálculo de los riesgos de infección por el VPH, dando como resultado la ausencia de diferencias significativas, cuando en realidad sí existen. Sin embargo, este estudio podría ampliarse o seguir desarrollándose con la intención de lograr el objetivo propuesto: La erradicación de las lesiones precursoras del cáncer cervical y la detección de cánceres invasores en la población ecuatoriana.

## **CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES**

El Virus del Papiloma Humano representa la infección de transmisión sexual más frecuente, detectándose VPH de alto riesgo en prácticamente el 100% de los casos de carcinoma escamoso de cérvix.

La detección y tipificación del VPH es más eficiente mediante la técnica de PCR, detectando los virus de alto riesgo y la infección en etapa más temprana, complementando de esta manera el estado

citológico, y es así que en el presente estudio se logró encontrar que los subtipos virales más comunes son 18, 31, 66 y 11, encontrándose a los subtipos 31 y 52 con mayor frecuencia en mujeres menores de 35 años, y el subtipo 18 en mujeres mayores o iguales a 35 años.

Se recomienda incrementar el número de los casos en estudio a fin de que los resultados puedan ser extrapolables e incorporar la PCR como parte del protocolo ginecológico. Implementar la PCR como método complementario de los programas de despistaje del cáncer de cuello uterino en pacientes con factores de riesgo, para lo cual es necesario dar a conocer las bondades de esta técnica a los profesionales de la salud.

## **BIBLIOGRAFÍA**

- 1.- Tornesello ML, Buonaguro L, Izzo S, et al. A pilot study on the distribution of humanpapillomavirusgenotypes and HPV-16 variants in cervical neoplastic lesions from Ecuadorian women. *J Med Virol.* 2008;80(11):1959-65.
- 2.- Parkin DM, Bray F. Chapter 2: The burden of HPV- related cancers, *Vaccine* 2006: 24(3): s11-25.  
Disponible en: <http://www.sciencedirect.com>
- 3.- Ayres AR, Silva GA. Cervical HPV infection in Brazil: systematic review. *Rev Saude Publica.* 2010;44(5):963-74. Disponible en: <http://www.scielosp.org>
- 4.- Lerma Puertas E, Otal Salaverri C, Ríos Martín JJ, et al. Human papillomavirus detection by PCR assay in a large series of high-grade squamous intraepithelial lesions with cytohistological correlation and follow-up. *Acta Cytol.* 2011; 55(5):426-32. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>

- 5.- Bosch FX, Burchell AN, Schiffman M, et al. Epidemiology and natural history of human papillomavirus infections and typespecific implications in cervical neoplasia. *Vaccine*. 2008; 26Suppl 10:K1-16. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0264410X08006749>
- 6.- Correnti M, Medina F, Cavazza ME, et al. Human papillomavirus (HPV) type distribution in cervical carcinoma, low-grade, and high-grade squamous intraepithelial lesions in Venezuelan women. *Gynecol Oncol*. 2011; 121(3): 527-31. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/>
- 7.- WuCH, LeeMF, Chang MC, HoSC. Detection of human papilloma virus in cervical lesions of patients from Taiwan by the polymerase chain reaction. *Sex Transm Dis* 2005; 21:309-314.
- 8.- Boccardo E, Villa LL. Viral origins of human cancer. *Curr Med Chem* 2007; 14(24): 2526-39
- 9.- Dra. Carmen Martínez S. *Gineco-Obstetra / Colposcopista* 2008. Disponible en: <http://www.medicosecuador.com/espanol/articulos/541.htm>
- 10.- Insinga RP, Liaw KL, Johnson LG, et al. A systematic review of the prevalence and attribution of human papillomavirus types among cervical, vaginal, and vulvar precancers and cancers in the United States. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2008;17(7):1611-22.
- 11.- Widdice LE, Kahn JA. Using the new HPV vaccines in clinical practice. *Cleve Clin J Med*. 2006;73(10):929-35.
- 12.- Alvarado D, Mantilla D, Gonzalez M. Lesión intraepitelial de bajo grado en endocérnix: conducta. *Rev Obstet Ginecol Venez*. 2009;69(1):41-47

13.- Matsumoto K, Oki A, Furuta R, et al. Predicting the progression of cervical precursor lesions by human papillomavirus genotyping: a prospective cohort study. *Int J Cancer*. 2011;128(12):2898-910.

14.- Castellanos M. Cáncer cervicouterino y el VPH. Opciones de detección. *Rev FAc Med UNAM*. 2003;46(2):63-66.