

ARTÍCULOS ORIGINALES

Infeción por virus del papiloma humano en una muestra de mujeres jóvenes con citología normal

María Mercedes Bravo¹, Olga Medina¹, Diana Melgarejo¹, Martha Lucía Serrano¹

¹Instituto Nacional de Cancerología, E.S.E., Bogotá, D.C., Colombia, Laboratorio de Inmunología

Resumen

Introducción: En Colombia, el cáncer de cuello uterino es la primera causa de muerte por cáncer de mujeres en edad reproductiva. El VPH se considera un factor etiológico necesario pero no suficiente, ya que sólo una minoría de las infecciones progresan a cáncer, lo cual señala la existencia de otros cofactores requeridos para la transformación.

Objetivos: Determinar factores asociados a la infección por VPH en una muestra de 218 mujeres jóvenes de Bogotá con citología normal.

Materiales y métodos: La presencia de VPH en cepillado cervical se determinó mediante PCR GP5+/GP6+ y se recolectó información sobre factores asociados a infección.

Resultados: La prevalencia de la infección por VPH fue de 17,4%. Se encontró un mayor riesgo de infección en mujeres que han tenido más de cinco compañeros sexuales (OR = 3,21; IC 95% 1,01-10,17), que no tienen compañero sexual habitual (OR = 2,65; IC 95% 1,16-6,03) y cuya pareja no usa condón (OR = 2,8; IC 95% 1,12-7,03). En cuanto al número de embarazos a término, se encontró que las mujeres con hijos tenían menor riesgo de infección y que el riesgo era menor entre mayor fuera el número de hijos. No se observaron asociaciones significativas con respecto a las otras variables analizadas.

Conclusiones: Los resultados muestran una alta prevalencia de infección por VPH en mujeres jóvenes con citología normal, similar a las reportadas en otros países. Se encontró asociación de la infección con factores sexuales como el número de compañeros sexuales, la carencia de compañero sexual habitual, la carencia de hijos y el no uso de condón.

Palabras clave: VPH, citología, Colombia, factores de riesgo.

Correspondencia:

María Mercedes Bravo, Laboratorio de Inmunología, Instituto Nacional de Cancerología E.S.E.

Av. 1 No. 9-85, Bogotá, D. C., Colombia.

Teléfono: 3340959

mbravo@incancerologia.gov.co

Recibido: 24/11/03; aceptado: 30/04/04

Human Papillomavirus infection in a sample of young women with normal PAP smear

Abstract

Introduction: Cancer of the cervix has the highest mortality rates due to cancer among Colombian women in reproductive age. Human papillomavirus infection is a necessary but not sufficient etiologic factor in the development of cervical cancer: only a minority of infections progress towards cancer. There are other cofactors required for malignant transformation.

Objective: To establish the prevalence of HPV infection among 218 Colombian women aged 18-36, with normal cervical cytology results and to analyze some risk factors for infection.

Materials and methods: HPV DNA was detected in cervical scrapes by general primers GP5+/GP6+ based PCR. Information about factors associated to infection was obtained by personal interviews.

Results: HPV prevalence was 17.4%. Higher risk of infection was associated to having had more than five sexual partners (OR = 3.21; CI 95% 1.01-10.17), not having a regular sexual partner (OR = 2.65; CI 95% 1.16-6.03), and no use of condom by sexual partners (OR = 2.54; CI 95% 1.0-7.03). Women with children had lower risk than nulliparous women, and risk decreased as the number of pregnancies increased. We have not found a significant association between HPV infection and the other factors analyzed.

Conclusion: As observed in other countries, we found a high prevalence of HPV infection in young women with normal cytology results. We have found a higher risk of infection related to sexual factors such as number of sexual partners, regular sexual partner, parity, and partner's condom use.

Key words: HPV, Colombia, cytology, risk factors.

Introducción

El cáncer de cuello uterino es el segundo cáncer más frecuente entre las mujeres en el mundo y en Colombia es la primera causa de muerte por cáncer de la mujer en edad reproductiva (1,2). El virus del papiloma humano (VPH) se considera un factor etiológico necesario pero no suficiente de la carcinogénesis cervical, ya que la infección por VPH es muy común, principalmente en las mujeres jóvenes, y en la mayoría de los casos se resuelve espontáneamente (3). El hecho de que sólo una minoría de infecciones persistentes por VPH progresen a cáncer señala la existencia de otros cofactores que deben estar presentes para que se dé la transformación (4). Los principales factores de riesgo postulados para el cáncer cervical coinciden con los de la infección por VPH y se relacionan con la conducta sexual; otros factores asociados son los demográficos, los métodos de planificación (5,6), el estado inmunológico (7) y el tabaquismo (8), los cuales varían según las poblaciones analizadas.

En este trabajo se pretende determinar la prevalencia de la infección por VPH en una muestra de mujeres

jóvenes que asistieron a control citológico a la Liga Colombiana de Lucha contra el Cáncer (seccional Bogotá) y que tuvieron citología negativa para neoplasia y establecer si existe asociación entre la presencia del virus y los factores de riesgo asociados a esta infección en otras poblaciones.

Materiales y métodos

Población

Se recolectaron muestras de 250 mujeres procedentes de Bogotá, en un rango de edad entre 18 y 36 años, que asistieron a control por citología cervicouterina (CCU) a la Liga de Lucha contra el Cáncer (seccional Bogotá) entre marzo y junio de 1999 y que aceptaron voluntariamente participar mediante la firma de un consentimiento informado. De cada una se obtuvo una muestra de cepillado cervical y a todas se les realizó una encuesta para la recolección de datos demográficos.

cos, reproductivos, sexuales y relativos a métodos de planificación y tabaquismo. En el estudio se incluyeron sólo aquellas con resultado citológico negativo para cambios neoplásicos de acuerdo con el sistema Bethesda de clasificación de las CCU (9).

El material cervical se recolectó en un tubo con 5 ml de PBS 10 mM pH 8,3 y timerosal al 0,5%. Las muestras se centrifugaron a 3.000 g por 10 minutos y el precipitado celular obtenido se resuspendió en 1 ml de *buffer* Tris-HCl 10 mM pH 8,3 y se almacenó a -70 °C. Para la PCR se tomó una alícuota de 100 µl de la suspensión celular, se llevó a ebullición por 10 minutos, se centrifugó a 13.000 g por 20 segundos y se tomaron 10 µl para la amplificación (19).

Detección de vph

Para establecer la calidad del ADN de las muestras recolectadas se hizo una amplificación del fragmento de 102 pb del gen beta-globina con los iniciadores PCO3/PCO4 (10). Las muestras negativas para PCR de beta-globina se consideraron inadecuadas y se excluyeron del estudio. La detección del VPH se realizó mediante PCR utilizando los iniciadores GP5+/GP6+, según la metodología descrita por Roda-Husman (11). El amplímero generado corresponde a aproximadamente 142 pb del gen que codifica para la proteína L1 de la cápside viral.

Como control positivo de la reacción se utilizó ADN de la línea celular de cáncer de cuello uterino SiHa que contiene de 1 a 5 copias del VPH16 (22) y como controles negativos de la PCR se incluyeron blancos con agua destilada en lugar de muestra cada diez tubos. El análisis de los productos de amplificación se realizó mediante electroforesis en geles de poliacrilamida al 12,5% y tinción de plata, y la muestra se consideró positiva al evidenciar una banda de alrededor de 142 pb.

Método estadístico

Para el análisis estadístico se empleó el programa estadístico SPSS. Cada mujer se clasificó como positiva o negativa para infección por VPH de acuerdo a si se detectaba o no ADN de VPH en su cepillado cervical. Se calcularon las razones de disparidad (OR) crudas y los intervalos de confianza (IC) del 95% mediante análisis univariado, considerando la infección por VPH como la variable dependiente y varios factores de riesgo conocidos o hipotéticos para cáncer cervical como variables independientes. Las variables analizadas fueron edad, escolaridad, edad de inicio de las relaciones sexuales,

número de compañeros sexuales, número de compañeros sexuales habituales, número de embarazos a término, cesárea, uso de anticonceptivos orales, uso de condón y tabaquismo.

Resultados

De las 250 mujeres enroladas en el estudio se excluyeron 18 por resultado citológico diferente al normal según la clasificación de Bethesda y 14 por presentar un ADN inadecuado para el análisis. Las características de la población analizada se muestran en la tabla 1. La mayoría de mujeres se ubican en el rango de edad de 30-34 años y su nivel de escolaridad es la secundaria. En cuanto a los factores sexuales, el 84,4% tiene un compañero sexual habitual, un 16,5% inició relaciones sexuales antes de los 16 años y un 8% ha tenido más de cinco compañeros sexuales. La mayoría no usa anticonceptivos hormonales, no usa condón, no fuma y tiene entre uno y dos hijos.

De las 218 mujeres analizadas, 38 (17,4%) fueron positivas. En la tabla 1 se presenta el análisis univariado para los factores de riesgo de infección por VPH. Como factores estadísticamente significativos asociados a la infección se encontraron: número de compañeros sexuales, número de compañeros sexuales habituales, número de embarazos a término y uso de condón. Las mujeres con más de cinco compañeros sexuales presentaron un riesgo 3,21 veces mayor de infección (IC 95% 1,01-10,17) que aquellas con menos de dos. Las mujeres sin compañero sexual habitual presentaron un riesgo 2,65 veces mayor de infección (IC 95% 1,16-6,03) que las que sí lo tenían. Se encontró una mayor probabilidad de infección en las mujeres cuya pareja no usaba condón (OR = 2,54; IC 95% 1,0-76,4) que en aquellas cuya pareja sí lo usaba. En cuanto al número de embarazos a término, se encontró que las mujeres nulíparas presentaban más riesgo que las que tenían hijos y que el riesgo se reducía a mayor número de hijos. No se observaron asociaciones significativas con respecto a las otras variables analizadas.

Discusión

La asociación etiológica entre el VPH y el cáncer de cuello uterino hace importante conocer la prevalencia de la infección y los factores de riesgo asociados a ésta. En este estudio, en mujeres menores de 36 años con CCU normal se encontró una prevalencia de infección

Características	% (Total n = 218)	% VPH (+) (n = 38)	OR (IC 95%)
<i>Edad (años)</i>			
< 25	13,8	33,3	3,25 (0,89-11,9)
25-29	27,5	16,6	1,15 (0,32-4,08)
30-34	45	15,3	1,17 (0,35-3,85)
> 34	13,8	13,3	1
<i>Escolaridad</i>			
Primaria	20,7	11,1	1
Secundaria	47,2	15,5	1,47 (0,5-4,3)
Universitaria	32,1	24,2	2,57 (0,87-7,54)
<i>Edad de IRS</i>			
< 16	16,5	25	1,13 (0,44-2,93)
16-19	51,8	12,4	0,47 (0,21-1,04)
>19	31,7	21,7	1
<i>Número de embarazos a término</i>			
Nulípara	27,5	22	1
1-2	59,6	11,2	0,38 (0,18-0,79)
3	12,8	16,8	0,18 (0,04-0,84)
<i>Cesárea</i>			
No	80,7	7,1	1
Sí	19,3	19,9	3,23 (0,94-11,05)
<i>Número de cs</i>			
< 2	40,8	13,5	1
2-5	50,9	18	1,41 (0,65-3,07)
> 5	8,3	33,3	3,21 (1,01-10,17)
<i>cs habitual</i>			
Sí	84,4	14,7	1
No	15,6	32,4	2,65 (1,16-6,03)
<i>Uso de anticonceptivos orales</i>			
Alguna vez	33,9	13,5	1
Nunca	66,1	19,4	1,54 (0,71-3,38)
<i>Uso de condón</i>			
Sí	29,4	9,4	1
No	70,6	20,8	2,54 (1,00-6,40)
<i>Tabaquismo</i>			
Sí	23,9	21,20	1,38 (0,63-3,02)
No	76,1	16,30	1

OR: razón de disparidad; IC: intervalo de confianza; IRS: inicio de relaciones sexuales; cs: compañeros sexuales.

Tabla 1. Características de la población analizada y análisis de factores de riesgo para infección por VPH

por VPH de 17,4%, lo cual está de acuerdo con la mayoría de estudios en este rango de edad tanto a nivel mundial (12-15) como en Colombia (16), por lo que las diferencias de tasas de cáncer cervical entre diferentes regiones geográficas no parecen relacionarse con diferencias de prevalencia.

Dentro de los factores analizados se encontró que haber tenido más de cinco compañeros sexuales, no tener un compañero sexual habitual, no haber tenido hijos y no usar condón se asocian con un mayor riesgo de infección por VPH. El número de compañeros sexuales

y no tener un compañero sexual habitual son factores sexuales de riesgo de infección documentados en diferentes poblaciones (12,16,17).

En cuanto al efecto protector, encontrado en este trabajo, del uso del condón, existe controversia en la bibliografía, donde es posible hallar trabajos que no encuentran protección alguna de este tipo ante la infección por VPH (18-20) y otros estudios que parecen indicar que sí hay un efecto protector (21-23). Esto puede obedecer, más que a un efecto protector dado en sí por el condón –que debería verse en la mayoría de estu-

dios-, a factores asociados al uso del condón en ciertas poblaciones, incluido el nivel socioeconómico, ya que se sabe que la prevalencia de la infección es mayor en los estratos bajos (24,25) y funciona como indicador indirecto de la conducta sexual.

Se ha encontrado que el número de embarazos a término es un factor protector contra la infección por VPH en mujeres jóvenes (12). Esto puede parecer contradictorio con la relación inversa con el cáncer de cuello uterino, en la que se ha encontrado mayor riesgo en mujeres VPH-positivas con más de cinco hijos (26). Sin embargo, el número de embarazos a término en mujeres jóvenes puede reflejar más su conducta sexual.

En conclusión, nuestros resultados muestran una prevalencia de infección por VPH similar a la observada en países con bajas tasas de cáncer cervical. Se encontró asociación de la infección con factores relacionados directa o indirectamente con la conducta sexual de las mujeres.

Agradecimientos

Dr. Edwin Hoyos (Liga Colombiana de Lucha contra el Cáncer, seccional Bogotá).

Referencias

1. Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Estimating the world cancer burden: Globocan 2000. *Int J Cancer* 2001; 94(2):153-156.
2. Medina M. Atlas de mortalidad por cáncer en Colombia 1990, 1, Instituto Nacional de Cancerología; Santafé de Bogotá: Nuevas ediciones; 1994: 76-77.
3. Walboomers JM, Jacobs MV, Manos MM, Bosch FX, Kummer JA, Shah KV et al. Human papilloma virus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol* 1999; 189(1): 12-9.
4. Holowaty P, Miller AB, Rohan T, To T. Natural history of dysplasia of the uterine cervix. *J Natl Cancer Inst* 1999; 91(3): 252-8.
5. Munoz N, Franceschi S, Bosetti C, Moreno V, Herrero R, Smith JS et al. Role of parity and human papillomavirus in cervical cancer: The IARC multicentric case-control study. *Lancet* 2002; 359(9312):1093-101.
6. Moreno V, Bosch FX, Munoz N, Meijer CJ, Shah KV, Walboomers JM et al. Effect of oral contraceptives on risk of cervical cancer in women with human papilloma virus infection: The IARC multicentric case-control study. *Lancet* 2002; 359(9312):1085-92.
7. Scott M, Nakagawa M, Moscicki AB. Cell-mediated immune response to human papillomavirus infection. *Clin Diagn Lab Immunol* 2001; 8(2): 209-20.
8. Castellsague X, Bosch FX, Munoz N. Environmental co-factors in HPV carcinogenesis. *Virus Res* 2002; 89(2):191-9.
9. Solomon D, Davey D, Kurman R, Moriarty A, O'Connor D, Prey M et al. The 2001 Bethesda System: terminology for reporting results of cervical cytology. *JAMA* 2002; 287(16): 2114-9.
10. Saiki RK, Scharf S, Faloona F, Mullis KB, Horn GT, Erlich HA et al. Enzymatic amplification of beta-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. *Science* 1985; 230(4732):1350-4.
11. Roda Husman AM, Walboomers JM, Van den Brule AJC, Meijer CJ, Snijders PJ. The use of general primers GP5 and GP6 elongated at their 3' ends with adjacent highly conserved sequences improves human papillomavirus detection by PCR. *J Gen Virol* 1995; 76 (Pt 4):1057-62.
12. Lazcano-Ponce E, Herrero R, Munoz N, Cruz A, Shah KV, Alonso P et al. Epidemiology of HPV infection among Mexican women with normal cervical cytology. *Int J Cancer* 2001; 91(3): 412-20.
13. Jacobs MV, Walboomers JM, Snijders PJ, Voorhorst FJ, Verheijen RH, Franssen-Daalmeijer N et al. Distribution of 37 mucosotropic HPV types in women with cytologically normal cervical smears: The age-related patterns for high-risk and low-risk types. *Int J Cancer* 2000 JI; 87(2): 221-7.

14. Sellors JW, Mahony JB, Kaczorowski J, Lytwyn A, Bangura H, Chong S et al. Prevalence and predictors of human papillomavirus infection in women in Ontario, Canada. Survey of HPV in Ontario Women (SHOW) Group. *CMAJ* 2000; 163(5): 503-8.
15. Herrero R, Hildesheim A, Bratti C, Sherman ME, Hutchinson M, Morales J et al. Population-based study of human papillomavirus infection and cervical neoplasia in rural Costa Rica. *J Natl Cancer Inst* 2000; 92(6): 464-74.
16. Molano M, Posso H, Weiderpass E, Van den Brule AJC, Ronderos M, Franceschi S et al. Prevalence and determinants of HPV infection among Colombian women with normal cytology. *Br J Cancer* 2002; 87(3): 324-33.
17. Burk RD, Ho GY, Beardsley L, Lempa M, Peters M, Bierman R. Sexual behavior and partner characteristics are the predominant risk factors for genital human papillomavirus infection in young women. *J Infect Dis* 1996; 174(4): 679-89.
18. Manhart LE, Koutsky LA. Do condoms prevent genital HPV infection, external genital warts, or cervical neoplasia? A meta-analysis. *Sex Transm Dis* 2002; 29(11): 725-35.
19. Herrero R, Brinton LA, Reeves WC, Brenes MM, Tenorio F, De Britton RC et al. Risk factors for invasive carcinoma of the uterine cervix in Latin America. *Bull Pan Am Health Organ* 1990; 24(3): 263-283.
20. Winer RL, Lee SK, Hughes JP, Adam DE, Kiviat NB, Koutsky LA. Genital human papillomavirus infection: Incidence and risk factors in a cohort of female university students. *Am J Epidemiol* 2003; 157(3): 218-26.
21. Koutsky L. Epidemiology of genital human papillomavirus infection. *Am J Med* 1997; 102(5A):3-8.
22. Juarez-Figueroa LA, Wheeler CM, Uribe-Salas FJ, Conde-Glez CJ, Zampilpa-Mejia LG, Garcia-Cisneros S et al. Human papilloma virus: A highly prevalent sexually transmitted disease agent among female sex workers from Mexico City. *Sex Transm Dis* 2001; 28(3): 125-30.
23. Kjaer SK, Svare EI, Worm AM, Walboomers JM, Meijer CJ, Van den Brule AJC. Human papilloma virus infection in Danish female sex workers. Decreasing prevalence with age despite continuously high sexual activity. *Sex Transm Dis* 2000; 27(8): 438-45.
24. De Sanjose S, Bosch FX, Munoz N, Shah K. Social differences in sexual behaviour and cervical cancer. *IARC Sci Publ* 1997; 138: 309-17.
25. De Sanjose S, Bosch FX, Munoz N, Tafur L, Gili M, Izarzugaza I et al. Socioeconomic differences in cervical cancer: Two case-control studies in Colombia and Spain. *Am J Public Health* 1996; 86(11): 1532-8.
26. Munoz N, Franceschi S, Bosetti C, Moreno V, Herrero R, Smith JS et al. Role of parity and human papilloma virus in cervical cancer: The IARC multicentric case-control study. *Lancet* 2002; 359(9312): 1093-101.