

Frecuencia genotípica del virus del papiloma humano en población general de la frontera sur de México

Sergio Domínguez Arrevillaga,*
Roberto A Sánchez González,* Gerardo Becerra Victorio,**
Leticia del C Flores Alfaro,*** Ángel Lugo Trampe,***
Luis M Canseco Ávila,**** Karina del C Trujillo Murillo,****
Eleazar Serrano Guzmán,**** Marisol Espinoza Ruiz.****

Human papillomavirus genotypes in Mexican women from south of Mexico

Fecha de aceptación: diciembre 2010

Resumen

ANTECEDENTES. Los genotipos del virus del papiloma humano (VPH) 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 y 66 han sido implicados en el desarrollo del cáncer cervicouterino (CaCu). México y Centroamérica tienen una de las tasas de incidencia de CaCu más altas en el mundo, y Chiapas tiene una elevada tasa de mortalidad por esta enfermedad. El objetivo del estudio fue determinar la frecuencia de los genotipos del VPH en población general femenina residente en la frontera del estado de Chiapas con la República de Guatemala.

MATERIAL Y MÉTODOS. Se realizó un estudio prospectivo, descriptivo y transversal en población femenina que acudió a la realización del estudio de Papanicolau en el municipio de Frontera Comalapa, Chiapas. Se identificó el ADN del VPH mediante la técnica de PCR, usando iniciadores consenso. Las muestras positivas para el VPH fueron genotipificadas, empleando un estuche comercial que amplifica simultáneamente hasta 8 genotipos virales. Además, se obtuvieron variables socioeconómicas y demográficas.

RESULTADOS Y CONCLUSIONES. Se analizaron 225 muestras de las cuales: el 2.22% (n=5) estuvieron infectadas con el VPH; 3 de ellas fueron genotipificadas, identificándose los genotipos 11, 18 y 33. El 66% de la población estudiada no tenía la educación básica concluida. Se obtuvo la frecuencia de los genotipos de VPH y se analizaron variables socio-demográficas de la población estudiada.

Palabras clave: *virus de Papiloma Humano, frecuencia, frontera.*

Abstract

BACKGROUND. The genotypes of Human Papillomavirus (HPV) 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 and 66 have been implicated in the development of cervical cancer (CC). Mexico and Central America have one of the highest incidences of cervical cancer in the world, and Chiapas has the highest mortality rate in Mexico. The aim of this study was to determine the frequency of HPV genotypes in women living at the border state of Chiapas with the Republic of Guatemala.

MATERIAL AND METHODS. We performed a prospective, descriptive and cross sectional study in female population who attended the Pap study, in the municipality of Frontera Comalapa, Chiapas. Socio-economic variables were obtained. HPV DNA was identified by PCR. HPV-positive samples were genotyped, using a commercial kit that simultaneously amplifies up to 8 viral genotypes.

RESULTS AND CONCLUSIONS. 225 samples were examined, 5/225 (2.22%) were positive for HPV, 3 of these were genotyped identifying genotypes 11, 18, and 33. 66% of the study population had not completed basic education. We obtained the frequency of HPV genotypes and analyzed socio-demographic variables of the study population.

Keywords: *Human Papillomavirus, frequency, border line.*

*Hospital Regional de Alta Especialidad Ciudad Salud, Tapachula, Chiapas, México.

**Departamento de Microbiología y Patología CUCS, Universidad de Guadalajara.

***Centro Mesoamericano de Estudios en Salud Pública y Desastres (CEMESAD), UNACH, Tapachula, Chiapas.

****Facultad de Ciencias Químicas, UNACH, Tapachula, Chiapas.

Correspondencia: Dr. Luis Miguel Canseco Ávila
Hospital Regional de Alta Especialidad Ciudad Salud;
Carretera Puerto Madero S/N Km 15 200,
Colonia Los Toros, Puerto Madero Tapachula,
Chiapas, México. CP 30830.
Teléfono: (962) 62 01100, ext. 10122.
Correo electrónico: cansecoavila@gmail.com

Introducción

Las infecciones por el virus del papiloma humano (VPH) se encuentran distribuidas en todas las poblaciones alrededor del mundo. No tienen incidencia estacional, es una de las infecciones más frecuentes de las transmitidas sexualmente, y los genotipos 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 y 66 han sido implicados en el desarrollo del cáncer cervicouterino (CaCu).^{1,2} Alrededor del mundo se reporta que los genotipos 16 y 18 están más implicados en el desarrollo de CaCu.³ En México, las frecuencias reportadas de infección por VPH son heterogéneas y oscilan entre 14.4% y 51.7%.⁴⁻⁷ El VPH ha sido detectado en prácticamente la totalidad de los casos de CaCu invasor.⁸ México y Centroamérica tienen una de las tasas de incidencia de CaCu más altas en el mundo.^{7,9} En México, la tasa de mortalidad por CaCu es de 9.9 por cada 100,000 habitantes, y Chiapas tiene una de las tasas estandarizadas de mortalidad más altas del país.¹⁰ La mayoría de los sujetos infectados cursa sin manifestar clínicamente la enfermedad, debido a una eficiente respuesta inmune del hospedero. Sin embargo, pudieran presentarse lesiones benignas.

El VPH es un virus de ADN de la familia *Papillomaviridae*, cuyo genoma codifica 8 genes tempranos y 2 genes tardíos. Los genes tempranos 6 y 7 interfieren con las funciones celulares que normalmente impiden el crecimiento excesivo, ya que inactivan proteínas supresoras del crecimiento celular.^{1,11} Hay más de 200 tipos identificados y alrededor de 40 que afectan la región anogenital. Invaden, generalmente, el epitelio escamoso de la piel y mucosas, generan engrosamiento de estrato basal espinoso, y en un promedio de 3 a 4 meses se curan de manera espontánea, pero pueden generar recurrencia.¹²

En el nivel mundial, los genotipos 16 y 18 del VPH son los más prevalentes, seguidos por los genotipos 45, 31 y 33. En población de América Latina, los genotipos 16, 18, 31, 33, 51 y 52 han sido identificados con mayor frecuencia en población general.¹³⁻¹⁶

Existen reportes de que algunos factores de riesgo asociados al desarrollo de CaCu también se relacionan con el riesgo de adquirir la infección por VPH, dado que esta última es una condición necesaria, pero no suficiente, para desarrollar CaCu. Entre dichos factores de riesgo se encuentran: edad, inicio temprano de la vida sexual, factores socio-demográficos.¹⁷

Las poblaciones fronterizas son regiones en las que existe un intenso flujo migratorio que con frecuencia comparten estilos de vida y factores de riesgo.¹⁸ Un caso muy particular es el de la frontera sur de México, donde los flujos migratorios con Guatemala han registrado históricamente una dinámica intensa, con un pobre control de tránsito migratorio, así como de enfermedades e infecciones, sobre todo por la participación de trabajadores guatemaltecos que cruzan la frontera terrestre para concurrir en mercados laborales chiapanecos.¹⁹

Las pruebas para ADN de VPH, por Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), han sido utilizadas junto con citología en el diagnóstico cervicovaginal y cánceres cervicales para mejorar la sensibilidad y el valor predictivo negativo. De hecho, el diagnóstico por PCR VPH está recomendado

para pacientes con anomalías citológicas, basado en las nuevas directrices del Colegio Americano de Obstetras y Ginecólogos.²⁰⁻²²

Con base en lo anterior, el objetivo del estudio fue determinar la frecuencia de los genotipos del VPH y estudiar variables socio-demográficas asociadas, en población general femenina residente en la frontera del estado de Chiapas con la República de Guatemala.

Material y métodos

Pacientes

Se realizó un estudio prospectivo, descriptivo y transversal en población femenina que acudió a un hospital de la Secretaría de Salud para la realización del estudio de Papanicolau (Pap), en el municipio de Frontera Comalapa, Chiapas, entre septiembre y diciembre de 2009. Este municipio cuenta con una población de 57 580 habitantes (INEGI, 2005), cuya ubicación geográfica es 15° 39' N y 92° 09' W, y limita al este con la República de Guatemala.

Se obtuvo consentimiento informado de las participantes en el estudio. Al momento de realizar la toma de muestra para el estudio de Pap se extrajo una muestra adicional de cepillado endocervical para el estudio de genotipificación del VPH. Ésta se colocó en el medio de transporte hc2 DNA COLLECTION DEVICE (DIGENE, Gaithersburg, USA). Una vez obtenida la muestra endocervical, se realizó extracción de ADN total y se almacenó a -20°C para su posterior análisis. Además, se les realizó una encuesta, con la finalidad de obtener variables socioeconómicas como: religión, escolaridad, ocupación, edad de inicio de la vida sexual, número de parejas sexuales y conocimiento del CaCu, para poder relacionarlo con los resultados de los pacientes.

Extracción de ADN

La extracción de ADN total se realizó con el estuche comercial QIAamp DNA® (QIAGEN®, Valencia, CA USA), de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Para determinar la eficiencia de la extracción de ADN se amplificó por PCR un fragmento del gen de β -globina, y se verificó por electroforesis en un gel de agarosa al 0.8%.

Detección del VPH

La detección cualitativa del VPH se hizo por PCR, empleando los iniciadores consenso MY09 5 μ -CGT CCM ARR GGA WAC TGA TC-3 μ y MY11 5 μ -GCM CAG GGW CAT AAY AAT GG-3, que amplifican un fragmento de 450 pb del gen L1 de los VPH, empleando como control positivo ADN genómico de la línea celular HeLa. La PCR se realizó en un volumen de 25 μ l, conteniendo Buffer ADN pol Taq 1X, Primer MYB09 0.5 μ M, Primer MYB11 0.5 μ M, MgCl₂ 2.5 mM, 0.2 mM de dNTP, Taq gold 0.1 U/ μ l, H₂O y la muestra de ADN. Las condiciones de amplificación utilizadas fueron: 5 minutos de pre-desnaturalización a 94°C, seguido de 40 ciclos: 94°C por 30 seg, 55°C por 30 seg, y 72°C por 30 seg, y una extensión final de 15 minutos a 72°C. Las muestras positivas se sometieron a genotipificación del VPH, mientras que

las muestras negativas se analizaron nuevamente con los iniciadores GP5+ 5' -TT GTT ACT GTG GTA GAT ACT AC-3' y GP6+ 5' -GAA AAA TAA ACT GTA AAT CAT ATT C-3', para descartar negatividad del VPH.²³ La amplificación se realizó con las siguientes condiciones de reacción: Buffer ADN pol Taq 1X, Primer GP5+ 0.5 μ M, Primer GP6+ 0.5 μ M, MgCl₂ 2.5 mM, 0.2 mM de dNTP, Taq gold 0.1 U/ μ L, H₂O, y la muestra de ADN y el programa de amplificación: 5 minutos de pre-desnaturalización a 94°C, seguido de 40 ciclos: 94°C por 30 seg, 59°C por 30 seg, y 72°C por 30 seg, y una extensión final de 15 minutos a 72°C. El corrimiento electroforético se realizó en geles de agarosa al 2%. Las muestras doble negativas (MY/GP) fueron descartadas.

Genotipificación del VPH

Las muestras positivas para el VPH fueron genotipificadas, empleando el estuche comercial HPV2 MPCR Amplification/Detection de la marca Maxim Biotech (San Francisco, CA, USA), para la amplificación simultánea de hasta 8 genotipos virales. Las condiciones de amplificación empleadas fueron las descritas por el fabricante. Los productos de PCR se sometieron a electroforesis en geles de agarosa al 2.5%.

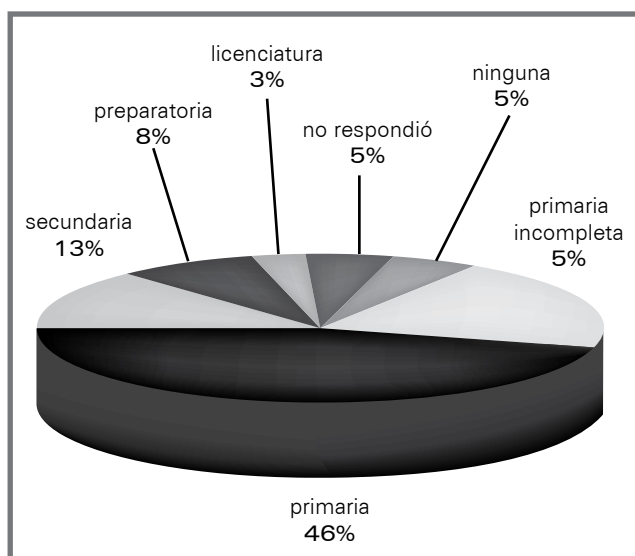
Resultados

Se capturaron 225 mujeres del municipio de Frontera Comalapa, Chiapas, México, con una media de edad de 38.8 \pm 11.6 años (con un rango de edad entre 21 y 70 años).

De la población estudiada, solamente 5 (2.22%) mujeres resultaron positivas para la amplificación con los iniciadores MY09/MY11, de las cuales sólo a 3 (1.3%) se lograron genotipificar con el estuche comercial HPV2 MPCR Amplification/Detection, identificándose los genotipos 11, 18, y 33 del VPH.

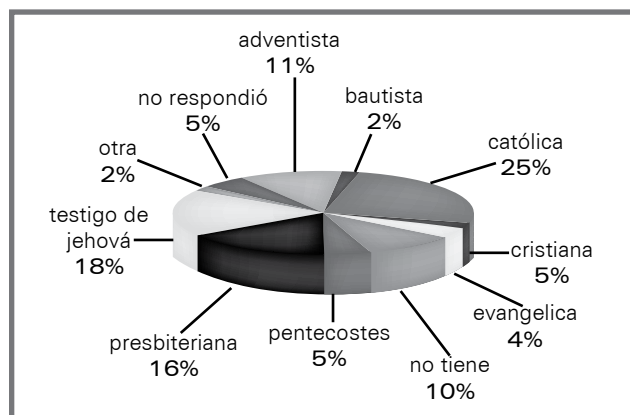
Gráfica 1

Nivel de escolaridad de la población estudiada



Gráfica 2

Religiones profesadas en la población estudiada



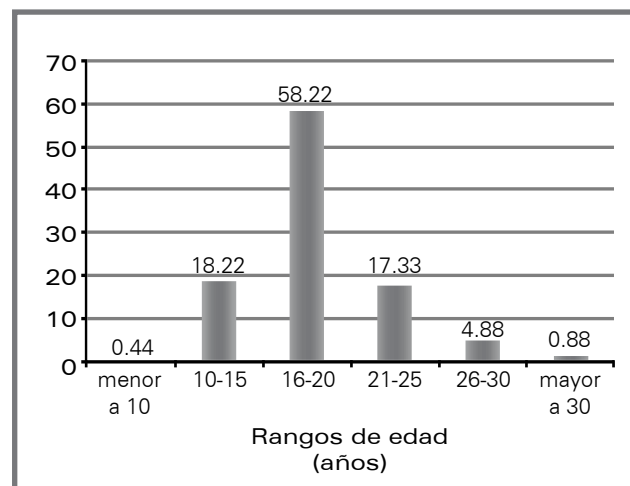
El nivel de escolaridad de la población estudiada fue de 46% con estudios de educación primaria terminada, y solamente 3% con estudios de licenciatura (gráfica 1). La religión profesada en la población estudiada fue variable, como se muestra en la gráfica 2. El 85% de la población analizada refirió dedicarse exclusivamente al hogar.

El pico máximo de inicio de vida sexual se ubicó entre los 16-20 años, con un 58.22% (131 mujeres) (gráfica 3). El 88% (198), había tenido más de un embarazo, siendo 3 embarazos la cantidad más frecuente (20%). El 63% (141) refirió haber usado algún método anticonceptivo a partir de que dieron inicio a su vida sexual. Además, 145 mujeres (64.4%) refirieron tener una sola pareja sexual, y 2 mujeres (0.88%) refirieron hasta 4 parejas sexuales.

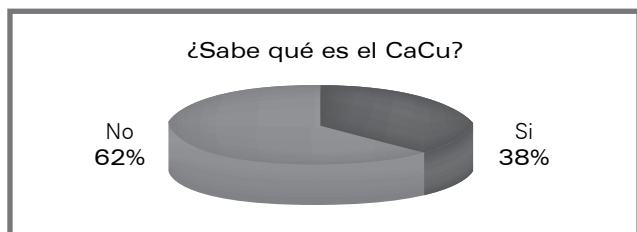
En el caso de la pregunta si tenían conocimiento de lo que era el cáncer cervicouterino, 62% de las mujeres manifestó desconocimiento de esta enfermedad (gráfica 4). El 89% de las encuestadas refirieron haberse realizado el Pap al menos una vez, y solo 4% manifiesta ser fumadora.

Gráfica 3

Rangos de edad de inicio de la vida sexual



Gráfica 4
Conocimiento sobre el CaCu



Discusión

El resultado global presentó 5 mujeres positivas al VPH. De éstas, 3 fueron genotipificadas. El estuche empleado para genotipificación tiene la limitante de poder identificar únicamente 8 genotipos del VPH de los más frecuentes. Sin embargo, la técnica de PCR también tiene limitantes relacionadas con las bajas concentraciones de ADN viral disponible para poder amplificar.²⁴

La mayoría de las pacientes estudiadas no tiene terminada la secundaria. Un nivel educativo bajo influye en el riesgo de adquirir enfermedades de transmisión sexual, debido a que los programas educativos en México abordan la educación sexual en la secundaria. Cuatro (1.77%) de las 5 mujeres que resultaron positivas para VPH, no tenían la secundaria terminada.²⁵ El inicio de la vida sexual y el nú-

mero de parejas sexuales son factores importantes para la infección y el desarrollo de la enfermedad. En el estudio, 3 mujeres (1.33%) que resultaron positivas empezaron su vida sexual a los 16 años, siendo menores de edad, y 2 (0.88%) de ellas tenían más de una pareja sexual, lo que aumenta su riesgo de adquirir ITS.^{25,26} Tres de las mujeres que dieron positivo para VPH manifestaron el uso de anti-conceptivos orales, factor que aún no se determina como riesgo para la infección por VPH.⁴

Los parámetros socioeconómicos son una herramienta muy importante para conocer el nivel de exposición de una población en especial.²⁷ La población estudiada, al igual que la mayoría de las localidades chiapanecas, tiene un nivel socioeconómico bajo, por lo que es una zona de riesgo para la transmisión de enfermedades²⁸ infecciosas y de transmisión sexual. Esto, sumado a la proximidad del municipio a la frontera con el país de Guatemala, genera un importante flujo migratorio y eleva los factores de riesgo comparado con otras localidades similares no fronterizas.²⁹

En el estudio presentado, se analizaron variables socioeconómicas además de la presencia de infección por VPH en una localidad ubicada en la frontera sur de México colindante con Guatemala, seleccionada por su alto flujo migratorio. Un estudio longitudinal o una cohorte en este tipo de localidades es difícil debido a la alta movilidad de los pobladores. Aun así, sería importante evaluar el efecto de algún factor de riesgo. Por ejemplo, el inicio de una vida sexual temprana y la adquisición de VPH, y el desarrollo de cáncer cervicouterino en este tipo de población flotante.

Referencias

1. De Villiers E, Fauquet C, Broker T, Bernard H, Zur Hausen H. "Classification of papillomaviruses". *Virology* 2004; 324: 17-27.
2. Bernard H. "The clinical importance of the nomenclature, evolution and taxonomy of human papillomaviruses". *J Clin Virol* 2005; 32: S1-S6.
3. Bosch FX, Manos MM, Muñoz N, Sherman M, Jansen AM, *et al.* "International Biological Study of Cervical Cancer (IBSCC) Study group. Prevalence of human papillomavirus in cervical cancer: a worldwide perspective". *J Natl Cancer Inst* 1995; 87: 796-802.
4. Lazcano Ponce E, Herrero R, Muñoz N, Cruz A, Keerti VS, *et al.* "Epidemiology of hpv infection among mexican women with normal cervical cytology". *Int J Cancer* 2001; 91, 412-420.
5. Velázquez Márquez N, Paredes Tello MA, Pérez Terrón H, Santos López G, Reyes-Leyva J, *et al.* "Prevalence of human papillomavirus genotypes in women from a rural region of Puebla, Mexico". *Int J Infect Dis* 2009; 13(6): 690-695.
6. Hernández Girón C, Smith JS, Lorincz A, Arreola Cháidez E, Lazcano E, *et al.* "The prevalence of high-risk HPV infection in pregnant women from Morelos, Mexico". *Salud Pública Mex* 2005; 47: 423-429.
7. Canal Canche J, Rosado López I, Suárez NG, Colli Acosta G, Conde-Ferrández L, *et al.* "High prevalence and low E6 genetic variability of human papillomavirus 58 in women with cervical cancer and precursor lesions in Southeast Mexico". *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2010; 105(2): 144-148.
8. Walboomers JMM, Jacobs MV, Manos M, Bosch FX, Kummer JA, *et al.* "Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide". *J Pathol* 1999; 189: 12-19.
9. Parkin M, Pisani P, Ferlay J. "Estimates of the worldwide incidence of 25 major cancers in 1990". *Int J Cancer* 1999; 80: 827-841.
10. Palacio-Mejía LS, Lazcano-Ponce E, Allen-Leigh B, Hernández-Ávila M. "Regional differences in breast and cervical cancer mortality in Mexico between 1979-2006". *Salud Pública Mex* 2009; 51 suppl 2: S208-S219.
11. Schiffman M, Castle PE, Jerónimo J, Rodríguez A, Wacholder S. "Human papillomavirus and cervical cancer". *The Lancet* 2007; 370: 890-907.
12. Sterling JC. "Human papillomaviruses and skin cancer". *J Clin Virol.* 2005; Mar; 32 Suppl 1:S67-S71.
13. Ferreccio C, Corvalán A, Margozzini P, Viviani P, González C, *et al.* "Baseline assessment of prevalence and geographical distribution of HPV types in Chile using self-collected vaginal samples". *BMC Public Health* 2008; 8: 78.
14. Sijvarger CC, González JV, Prieto A, Messmer AG, Mallimaci MC, *et al.* "Epidemiología de la infección cervical por virus papiloma humano en Ushuaia, Argentina". *Rev Argent Microbiol* 2006; 38: 19-24.
15. Tábor N, Bakkers JMJE, Quint WGV, Massuger LFAG,

- Matute JA, *et al.* "Human papillomavirus infection in Honduran women with normal cytology". *Cancer Causes Control* 2009; 20:1663-1670.
16. López Revilla R, Martínez Contreras LA, Sánchez Garza M. "Prevalence of high-risk human papillomavirus types in Mexican women with cervical intraepithelial neoplasia and invasive carcinoma". *Infectious Agents and Cancer* 2008; 3: 3.
 17. Flores YN, Bishai DM, Shah KV, Lazcano-Ponce E, Lörin-cz A, *et al.* "Risk factors for cervical cancer among HPV positive women in Mexico". *Salud Pública Mex* 2008; 50(1): 49-58.
 18. Organización Panamericana de la Salud. Estrategia de Cooperación con México de la OPS/OMS para el periodo 2005-2009. México, DF: OPS/ OMS. 2005; 45-50.
 19. Grupo Guatemala-México Migración y desarrollo. Los flujos migratorios. 2010.[http://mexicoguatemala.col-mex.mx/index.php?option=com_content&view=article&id=60&Itemid=62]
 20. The American College of Obstetricians and Gynecologists: ACOG Education Pamphlet AP161. [http://www.acog.org/publications/patient_education/bp161.cfm].
 21. Van Doorn LJ, Molijn A, Kleter B, Quint W, Colau B. "Highly Effective Detection of Human Papillomavirus 16 and 18 DNA by a Testing Algorithm Combining Broad-Spectrum and Type-Specific PCR". *J Clin Microbiol* 2006; 44(9): 3292-3298.
 22. Fontaine V, Mascaux C, Weyn C, Bernis A, Celio N, *et al.* "Evaluation of Combined General Primer-Mediated PCR Sequencing and Type-Specific PCR Strategies for Determination of Human Papillomavirus Genotypes in Cervical Cell Specimens". *J Clin Microbiol* 2007; 45(3): 928-934.
 23. De Roda-Husman AM, Walboomers JMM, van den Brule AJC, Meijer CJLM, Snijders PJF. "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: 1057-1062.
 24. Fuessel AL, He Q, Rady PL, *et al.* "Nested PCR with the PGMY09/11 and GP5 (+)/6(+) primer sets improves detection of HPV DNA in cervical samples". *J Virol Methods* 2004; 122(1): 87-89.
 25. Tirado Gómez LL, Mohar Betancourt A, López Cervantes M, García Carrancá A, Franco-Marina F, *et al.* "Factores de riesgo de cáncer cervicouterino invasor en mujeres mexicanas". *Salud Pública Mex* 2005; 47: 342-350.
 26. Atalah E, Urteaga C, Rebolledo A, Villegas RA, Medina E, *et al.* "Diet, smoking and reproductive history as risk factor for cervical cancer". *Rev Med Chil* 2001; 129: 597-603.
 27. Faggiano F, Partanen T, Kogevinas M, Boffetta P. "Socioeconomic differences in cancer incidence and mortality". *IARC Sci Publ* 1997; 138: 65-176.
 28. Palacio-Mejía LS, Rangel-Gómez G, Hernández-Avila M, Lazcano-Ponce E. "Cervical cancer, a disease of poverty: Mortality differences between urban and rural areas in Mexico". *Salud Publica Mex* 2003; 45 suppl 3: S315-S325.
 29. Cruz-Piñero R. "Mexican border cities and migration flows". The James A. Baker III, Institute for public policy 2009: 3-29.