

Genotipos del virus del papiloma humano en mujeres atendidas en consultas de patologías cervicouterinas en Camagüey

Human Papillomavirus Genotypes in Women Attending Cervix Pathology Consultations in Camagüey

Juan Carlos Piña Napal¹ <https://orcid.org/0000-0003-1813-4990>

Yudira Soto Brito^{2*} <https://orcid.org/0000-0003-2426-9517>

Reguald Tamayo Castro³ <https://orcid.org/0000-0003-4303-1811>

Gustavo Crespo Campos⁴ <https://orcid.org/0000-0003-0527-7394>

Adriel Mederos Matos⁴ <https://orcid.org/0000-0002-5557-0452>

Celeste Ramírez Cardentey¹ <https://orcid.org/0000-0002-7710-9114>

¹Universidad de Ciencias Médicas Carlos J. Finlay. Camagüey, Cuba.

²Instituto de Medicina Tropical Pedro Kourí (IPK). La Habana, Cuba.

³Hospital Provincial Docente Ginecobstétrico Ana Betancourt de Mora. Camagüey, Cuba.

⁴Hospital Provincial Oncológico Docente María Curie. Camagüey, Cuba.

*Autor para la correspondencia: yudira@ipk.sld.cu

RESUMEN

Introducción: Los virus del papiloma humano de alto riesgo oncogénico (VPH-AR) son los agentes causales del cáncer cervicouterino. La información acerca de la frecuencia de infección y los genotipos circulantes en mujeres con patologías de cuello uterino en la provincia de Camagüey es insuficiente.

Objetivos: Identificar y cuantificar los VPH-AR circulantes en mujeres de Camagüey, que son atendidas en consultas de patología de cuello.

Métodos: Se realizó un estudio analítico de corte transversal (enero 2019-diciembre 2022). Se incluyeron 78 mujeres con diagnóstico citológico de lesiones intraepiteliales cervicales y cáncer cervicouterino. Se colectaron muestras de tejido cervicouterino, mediante biopsia, para el diagnóstico histológico confirmatorio y la extracción de ADN. La detección, genotipado y cuantificación de VPH-AR se realizó por PCR en tiempo real.

Resultados: El diagnóstico histológico mostró un predominio de lesiones de bajo grado (39,7 %) y de cáncer cervicouterino (28,2 %). La infección por VPH-AR se detectó en el 64,1 % con predominio del VPH 16 (72 %), seguido de VPH 31 (20 %) y 58 (16 %). Se encontraron diferencias ($p < 0,0001$) entre las medianas de las cargas virales de los genotipos identificados, que fueron significativamente superiores para VPH 16 y 18. Los valores máximos estuvieron por encima de 10^3 copias/mL, independientemente del genotipo.

Conclusiones: Se identificaron seis genotipos de VPH-AR con demostrada implicación en el cáncer cervicouterino. Este resultado refuerza el valor de los estudios moleculares en la estrategia nacional para la prevención y control de este cáncer. Además, contribuye a evaluar la eficacia de las vacunas contra VPH que puedan emplearse en un futuro en la población cubana.

Palabras clave: virus del papiloma humano; PCR-tiempo real; genotipo, patologías de cuello uterino; Camagüey.

ABSTRACT

Introduction: High-risk oncogenic human papillomavirus (HR-HPV) are the causal agents of cervical cancer. Information regarding the frequency of infection and circulating genotypes in women with cervical pathologies in the province of Camagüey is insufficient.

Objectives: To identify and quantify circulating HR-HPV in women from Camagüey, who are attending cervix pathology consultations.

Methods: An analytical cross-sectional study was conducted from January 2019 to December 2022. It included 78 women with cytological diagnosis of cervical intraepithelial lesions and cervical cancer. Cervix tissue samples were collected via biopsy for confirmatory histological diagnosis and DNA extraction. HPV genotyping, detection, and quantification were performed by real-time PCR.

Results: Histological diagnosis revealed a predominance of low-grade lesions (39.7%) and cervical cancer (28.2%). HR-HPV infection was detected in 64.1%. HPV type 16 was the most prevalent (72%), followed by HPV type 31 (20%) and 58 (16%). Differences ($p < 0.0001$) were found between the viral loads medians of the identified genotypes, which were significantly higher for HPV types 16 and 18. Maximum values were above 10^3 copies/mL, irrespective of genotype.

Conclusions: Six HR-HPV genotypes with demonstrated involvement in cervical cancer were identified. This finding reinforces the importance of molecular studies in the national strategy for the prevention and control of this cancer. Additionally, it contributes to evaluating the effectiveness of HPV vaccines that may be used in the future in the Cuban population.

Keywords: Human papillomavirus; real-time PCR; genotype; cervix pathologies; Camagüey.

Recibido: 22/07/2023

Aceptado: 15/09/2023

Introducción

Los virus del papiloma humano (VPH) son causantes de la infección de transmisión sexual más frecuente en todo el mundo.⁽¹⁾ Estudios basados en evidencias epidemiológicas, clínicas y virológicas permiten demostrar que la infección por el virus del papiloma humano de alto riesgo oncogénico es la causa del cáncer cervicouterino (CaCU).⁽²⁾

Hasta la fecha se describen aproximadamente 120 genotipos de VPH que, de acuerdo con su potencialidad para inducir la carcinogénesis, se clasifican en genotipos de alto riesgo oncogénico (VPH-AR) y de bajo riesgo oncogénico (VPH-BR). El grupo de VPH-AR comprende entre 15 y 19 genotipos que se relacionan, en mayor o menor proporción, con la etiología del CaCU. Prácticamente todos los casos de CaCU y sus lesiones precursoras inmediatas surgen de infecciones cervicales persistentes ocasionadas por genotipos de VPH-AR.⁽³⁾ Los más frecuentes son los VPH 16, 18, 31, 33, 45, 52 y 58, aunque aproximadamente el 70 % de los casos de CaCU se producen por los VPH 16 y 18.⁽⁴⁾

El CaCU es considerado el cuarto cáncer más frecuente en mujeres de todo el mundo, con 604 127 casos nuevos cada año. De este número elevado de casos nuevos diagnosticados mueren unas 341 831 mujeres, que representa el 56,6 %. Es de destacar que cerca del 90 % de estos ocurren en países de bajos y medianos ingresos. En la región de las Américas y el Caribe en el año 2020 se presentaron unos 59 439 casos nuevos y murieron por esta causa 31 582 mujeres, para el 53,1 % del total de los casos nuevos.^(5,6,7)

En Cuba el número de pacientes diagnosticadas con CaCU ha tenido una tendencia al aumento en el transcurso de los últimos años. En el año 2018 se diagnosticaron 1 024 casos nuevos⁽⁸⁾ y en 2020 unos 1 187; de los cuales fallecieron 715, lo que representa un 60,2 %. Este dato indica que esos valores se mantienen elevados.⁽⁹⁾

Los reportes de casos nuevos de CaCU en la provincia de Camagüey muestran que esta provincia se ha mantenido como una de las de mayor incidencia de la enfermedad en Cuba. Los registros del número de casos nuevos por año en Camagüey, aunque con una leve tendencia a la disminución, aún se mantienen

entre los mayores del país. Según comunicación personal de la Dra. Niobel Robles Martínez, responsable del Registro Provincial de Cáncer de Camagüey (5 de diciembre del 2022) y de acuerdo con los datos del Departamento de Estadística de la Dirección Provincial de Salud, se reportaron en la provincia 146 casos para el 2016, 142 para el 2018 y 128 para el 2021.

La identificación de los genotipos de VPH de alto riesgo oncogénico asociados al CaCU y sus lesiones precursoras es esencial en cada región geográfica, con el fin de establecer las estrategias adecuadas para la pesquisa y la prevención de la infección. Para ello se han desarrollado varios métodos de detección molecular de ADN, con o sin amplificación. Los métodos de amplificación del ADN de fragmentos del genoma viral son los más empleados, fundamentalmente los basados en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés) en tiempo real (PCR-TR), que además permiten la cuantificación del agente infeccioso.⁽¹⁰⁾

En un estudio publicado en el 2020, que investigó la circulación de VPH en tres provincias de Cuba, La Habana, Villa Clara y Holguín, se analizaron 500 mujeres con edades entre los 16 y 67 años. Los autores encontraron diferencias entre provincias para los genotipos circulantes y las variables relacionadas con la infección.⁽¹¹⁾ Los resultados demuestran las diferencias en la circulación de VPH-AR entre las provincias de Cuba.

Existen pocos antecedentes sobre estos datos en la población femenina de la provincia de Camagüey,⁽¹²⁾ por lo que la presente investigación tuvo como objetivos identificar los genotipos de VPH-AR en mujeres camagüeyanas que asisten a consultas de patología de cuello uterino, para definir su asociación con la presencia de lesiones precursoras y CaCU, así como el valor de la carga viral como marcador diagnóstico.

Métodos

Diseño del estudio

Se realizó un estudio analítico de corte transversal desde enero de 2019 hasta diciembre de 2022, dirigido por la Universidad de Ciencias Médicas de Camagüey. Se estudiaron pacientes femeninas atendidas en consultas de patología de cuello uterino de dos instituciones de la provincia de Camagüey, el Hospital Provincial Docente Ginecobstétrico Ana Betancourt de Mora y el Hospital Oncológico Docente María Curie. Las pacientes se remitieron a dichas consultas desde su área de salud para la confirmación histológica de los diagnósticos citológicos sugestivos de lesiones intraepiteliales cervicales de diferente grado o CaCU. La investigación se realizó en coordinación y con la asesoría del Laboratorio de Infecciones de Transmisión Sexual del Departamento de Virología del Instituto de Medicina Tropical Pedro Kourí (IPK) de La Habana.

Muestras clínicas

Las muestras clínicas consistieron en fragmentos de tejido cervicouterino obtenidos por biopsia. La toma de estas se realizó en el momento del examen físico para la confirmación del resultado de la citología, mediante el diagnóstico histológico. Se extrajeron dos fragmentos de tejido; uno para el diagnóstico histológico confirmatorio de las lesiones, mediante un estudio anatomopatológico y otro para la extracción de ADN y la detección de VPH. Los fragmentos de tejido para el estudio histológico se procesaron según el procedimiento estándar descrito previamente⁽¹³⁾ y los destinados a la detección viral se conservaron a -20 °C en tubos de 1,5 mL (Eppendorf, Alemania) con solución para preservación de tejidos obtenidos por biopsias (DNA/RNA Shield, *Zymo Research*, EE.UU) y se trasladaron, manteniendo la cadena de frío, hacia el IPK de La Habana para su procesamiento y estudio virológico.

Estudio histológico

La clasificación histológica de las muestras se realizó mediante el sistema de Richart⁽¹⁴⁾ y su versión actualizada para la unificación de criterios con el sistema

de clasificación citológica de Bethesda.⁽¹⁵⁾ Mediante estos sistemas, las lesiones cervicales se clasificaron en: negativas para células neoplásicas, infección con VPH y neoplasia intraepitelial cervical de grado 1 (NIC 1), que constituyen las lesiones de bajo grado (LBG); neoplasia intraepitelial cervical grado 2 (NIC 2) y neoplasia intraepitelial cervical grado 3 (NIC 3), que se consideran lesiones de alto grado (LAG). Los casos con carcinoma *in situ* (CIS) y carcinoma infiltrante (CIN) se clasificaron en CaCU.

Extracción de ADN

Para la extracción del ADN de las muestras de tejido se utilizó el estuche comercial QIAamp DNA Mini Kit (QIAGEN, Hilden, Alemania), según las recomendaciones del fabricante.⁽¹⁶⁾

Detección, genotipado y cuantificación de la carga viral de VPH

Para la detección y genotipado de VPH en las muestras estudiadas se identificaron los genotipos de VPH-AR de mayor relevancia clínica (16, 18, 31, 33, 45, 52 y 58), según el criterio de la Agencia Internacional de Investigaciones del Cáncer (IARC), por su contribución al desarrollo del CaCU a escala global.⁽¹⁷⁾ Para ello se utilizó una PCR-TR mediante el método TaqMan o sonda de hidrólisis que permitió la cuantificación de la carga viral sobre la plataforma Light Cycler1.5 (*Roche Diagnostics*, Indianapolis, IN, EE.UU.), con una sensibilidad de 10 copias de genoma viral por mL de muestra clínica. Este sistema se publicó por Schmitz y otros en 2009 y se adaptó por Soto y otros en 2011.^(18,19)

Se utilizaron 5 µL del ADN extraído de cada muestra clínica y se añadieron a una mezcla formada por: 8 µL de agua, 4 µL de mezcla universal de PCR (*Roche Diagnostics*, Alemania), 10 pmol de los oligonucleótidos y entre 1-5 pmol de cada sonda, para un volumen final de 20 µL.^(18,19) Los cebadores y sondas para cada tipo de VPH y para el control interno de la β-globina humana (*Biomers net*, Alemania), así como las condiciones de amplificación se describieron previamente.^(18,19) En este caso las sondas se marcaron exclusivamente con los fluorocromos BHQ-1a-6-FAM y TAMRA-6-FAM (BHQ: Black Hole Quencher; FAM: 6-Fam).⁽¹⁹⁾

Análisis de la información

Los datos sociodemográficos, clínicoepidemiológicos y virológicos se colectaron y almacenaron en una base de datos de Microsoft Excel, versión 15.0. Los análisis se realizaron mediante la estadística descriptiva y se basaron en el cálculo de frecuencias absolutas y relativas.

Para determinar la relación entre el valor de la carga viral de los genotipos de VPH de mayor relevancia clínica y otras variables estudiadas se utilizó el paquete estadístico *Graph Pad Prism*, versión 3.0. Se emplearon las pruebas no paramétricas de Kruskal-Wallis y Mann Whitney para la comparación de las medianas de las cargas virales, considerando significativos los valores de dichos estadígrafos mayores que 1 y el valor de $p < 0,05$.

Aspectos éticos

En todos los casos se obtuvo el consentimiento informado de las pacientes para participar en la investigación, la cual se desarrolló según las normas actualizadas de la Declaración de Helsinki y las guías éticas internacionales para estudios biomédicos en sujetos humanos (CIOMS).^(20,21) La investigación, como parte de un proyecto de investigación, se aprobó por la comisión de ética del IPK con código CEI-IPK 2320.

Resultados

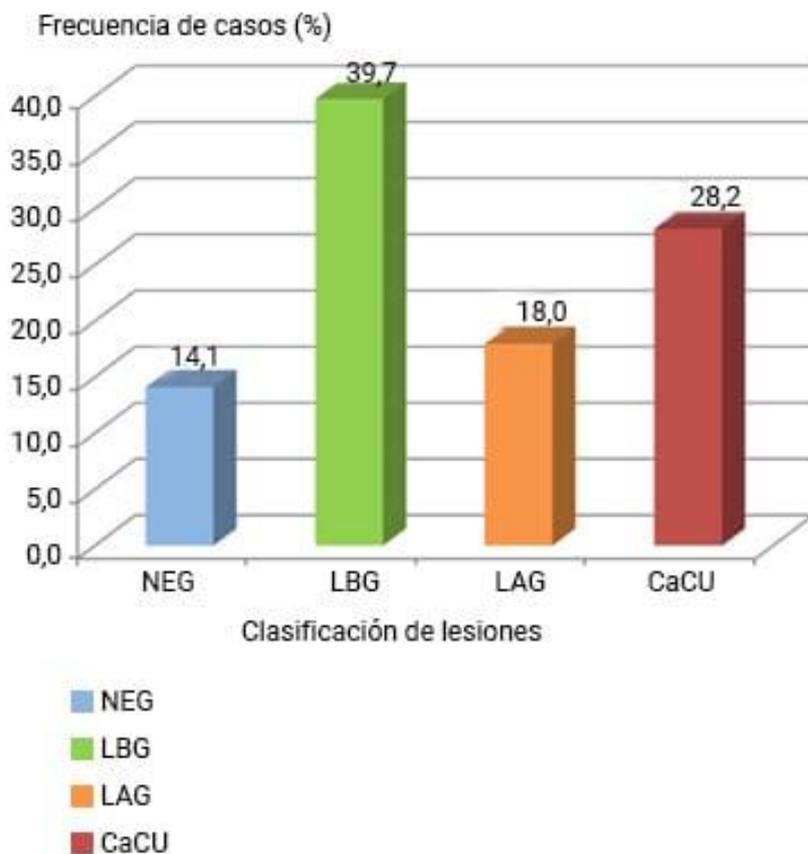
Características de la población estudiada

Se estudiaron 78 pacientes de la provincia de Camagüey con una mediana para la edad de 43 años; de ellas el 56,4 % (44/78) con un nivel de escolaridad correspondiente al preuniversitario, el 39,7 % (31/78) amas de casa y el 52,5 % (41/78) con estado civil casada. El 48,7 % (38/78) de las mujeres incluidas en el estudio inició las relaciones sexuales antes de los 16 años; mientras que el 34,6 % (27/78) refirió más de dos parejas sexuales en el último año.

En cuanto al uso de métodos anticonceptivos, el 46,2 % (36/78) en algún momento de su vida sexualmente activa utilizó un dispositivo intrauterino (DIU), el 14,1 % (11/78) refirió el consumo de contraceptivos orales y solo una paciente refirió uso del condón (1,3 %). Los trastornos menstruales se presentaron en el 16,6 % (13/78) de las mujeres estudiadas y, de ellas, el 61,5 % (8/13) refirió la metrorragia como síntoma más frecuente. Con respecto a los hábitos tóxicos, el 35,9 % (28/78) refirió el consumo de cigarrillos por encima de una cajetilla diaria y solo dos mujeres declararon consumo diario de alcohol (2,5 %).

Estudio histológico

Mediante el estudio histológico se identificaron lesiones en el 85,9 % de las mujeres (67/78). De las 78 pacientes investigadas, 11 fueron negativas por el estudio histológico confirmatorio, 31 se diagnosticaron con LBG (17 muestras con signos de infección por VPH y 14 con NIC 1); se identificaron 14 con LAG (12 NIC 2 y 2 NIC 3) y 22 con CaCU (17 CIS y 5 CIN) (fig. 1).



Leyenda: NEG: negativas para células neoplásicas; LBG: lesiones de bajo grado que incluyen hallazgos de infección con virus del papiloma humano y neoplasia intraepitelial cervical de grado 1 (NIC 1); LAG: lesiones de alto grado que incluyen las neoplasias intraepiteliales cervicales de grado 2 (NIC 2) y neoplasias intraepiteliales cervicales de grado 3 (NIC 3); CaCU: carcinomas *in situ* y carcinomas infiltrantes de cuello uterino.

Fuente: Elaboración propia.

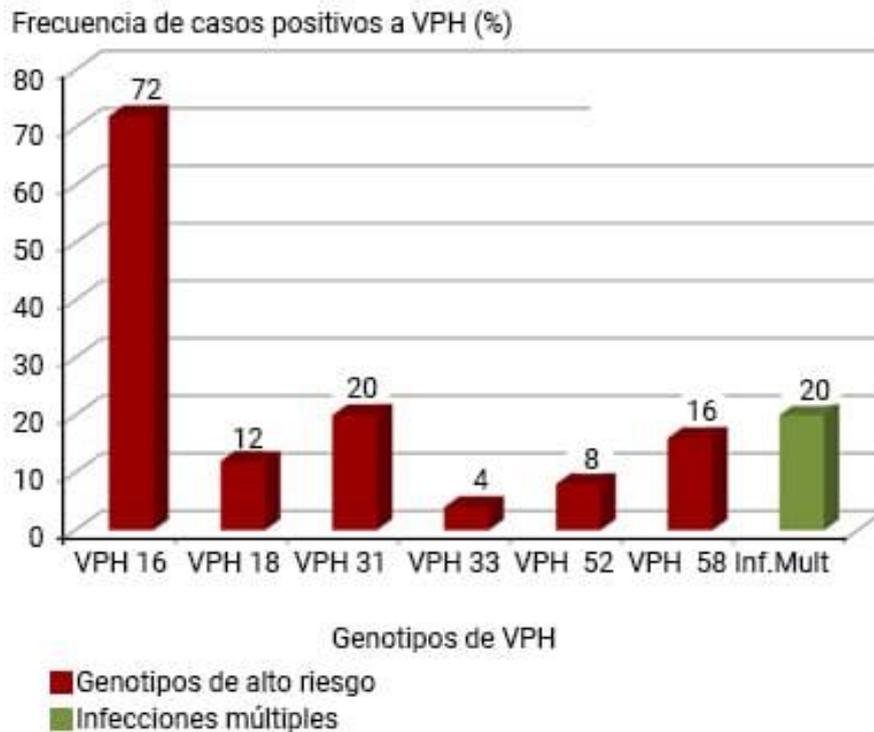
Fig. 1 – Resultados del estudio histológico en mujeres que asisten a consulta de patología de cuello uterino en dos instituciones de la provincia de Camagüey (enero 2019-diciembre 2022).

Detección y genotipado de VPH

Del total pacientes investigadas (78), se identificaron 50 positivas (64,1 %) para, al menos, uno de los genotipos de VPH-AR estudiados mediante la PCR-TR.

Dentro de las 50 muestras positivas a VPH, el tipo viral más frecuente fue el VPH 16 que se detectó en 36 pacientes (72 %), seguido por VPH 31 en 10 (20 %) y el

VPH 58 en 8 (16 %). Además, se identificaron infecciones múltiples en 10 pacientes (20 %) (fig. 2).



Leyenda: VPH: virus del papiloma humano; Inf. Mult.: Infecciones múltiples.

Fuente: Elaboración propia.

Fig. 2 – Frecuencia de casos positivos a los diferentes genotipos de virus del papiloma humano de alto riesgo oncogénico identificados mediante PCR en tiempo real en mujeres que asisten a consulta de patología de cuello uterino en dos instituciones de la provincia de Camagüey (enero 2019-diciembre 2022).

La distribución por genotipo entre las muestras positivas a VPH (50/78), según el estudio histológico, se muestra en la tabla. Se puede observar que el genotipo 16 es el más frecuente en las lesiones cervicales, mientras que en las tres muestras con histología negativa la distribución de genotipos es heterogénea y uno de los casos tiene infección múltiple con VPH 18, 31 y 58.

Tabla - Genotipos de virus del papiloma humano identificados en las muestras, según el diagnóstico histológico confirmatorio en pacientes camagüeyanas que asisten a consulta de patologías de cuello uterino (enero 2019-diciembre 2022)

Genotipos de VPH	Negativa n = 11 VPH + n = 3 (27,3 %)	LBG n = 31 VPH + n = 15 (48,4 %)	LAG n = 14 VPH + n = 10 (71,4 %)	CCU n = 22 VPH + n = 22 (100 %)	Total n = 78 VPH + n = 50 (64,1 %)
16	1	11	5	19	36
18	1	2	1	2	8
31	2	3	3	2	10
33	0	2	0	0	2
52	0	2	1	1	4
58	1	1	3	3	8
Inf. Múlt.	1	3	2	4	10

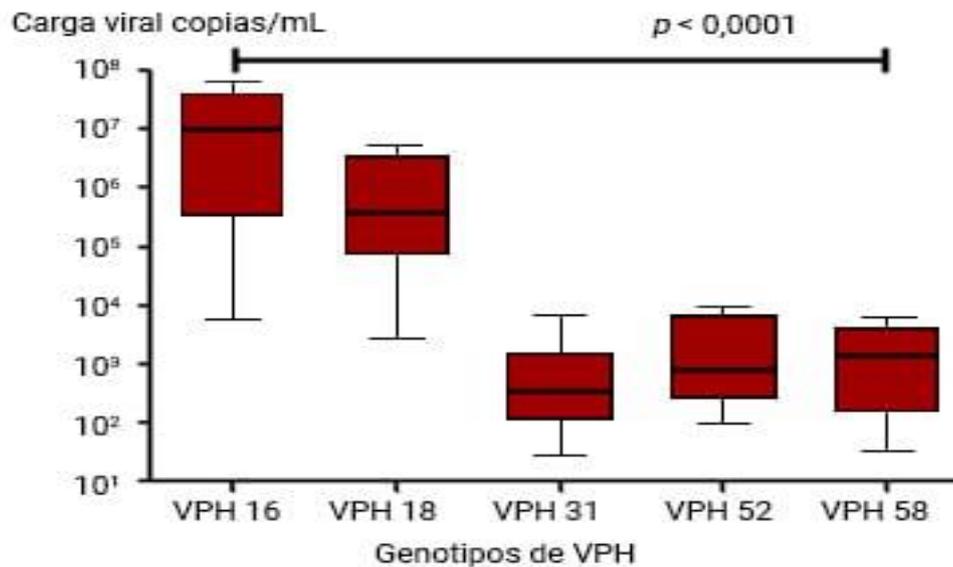
Leyenda: VPH: virus del papiloma humano; Inf. Múlt.: Infecciones múltiples; *La sumatoria de los porcentajes de casos positivos por genotipo no coincide con la n de positivos y sobrepasa el 100 % debido a la presencia de infecciones múltiples.

Fuente: Elaboración propia.

Cuantificación de la carga viral

Se encontraron diferencias significativas ($p < 0,0001$) entre las medianas de las cargas virales de los diferentes genotipos identificados en las muestras clínicas. En la figura 3 se visualiza que la carga viral de VPH 16 fue superior al del resto de los genotipos, al alcanzar aproximadamente ocho órdenes de magnitud. Cuando se analizaron las diferencias entre los valores de las medianas de las cargas virales del VPH 16, que fue el más frecuente y el de mayores valores de carga viral, contra los otros genotipos de alto riesgo, no se encontraron diferencias significativas ($p = 0,0624$) entre los valores de VPH 16 y VPH 18. Sin embargo, la carga viral de VPH

16 fue significativamente superior a la de los genotipos 31, 52 y 58 (fig. 4). Aunque las cargas virales de los genotipos 31, 52 y 58 fueron significativamente inferiores a las de los VPH 16 y 18, los valores máximos estuvieron por encima de 10^3 copias/mL.

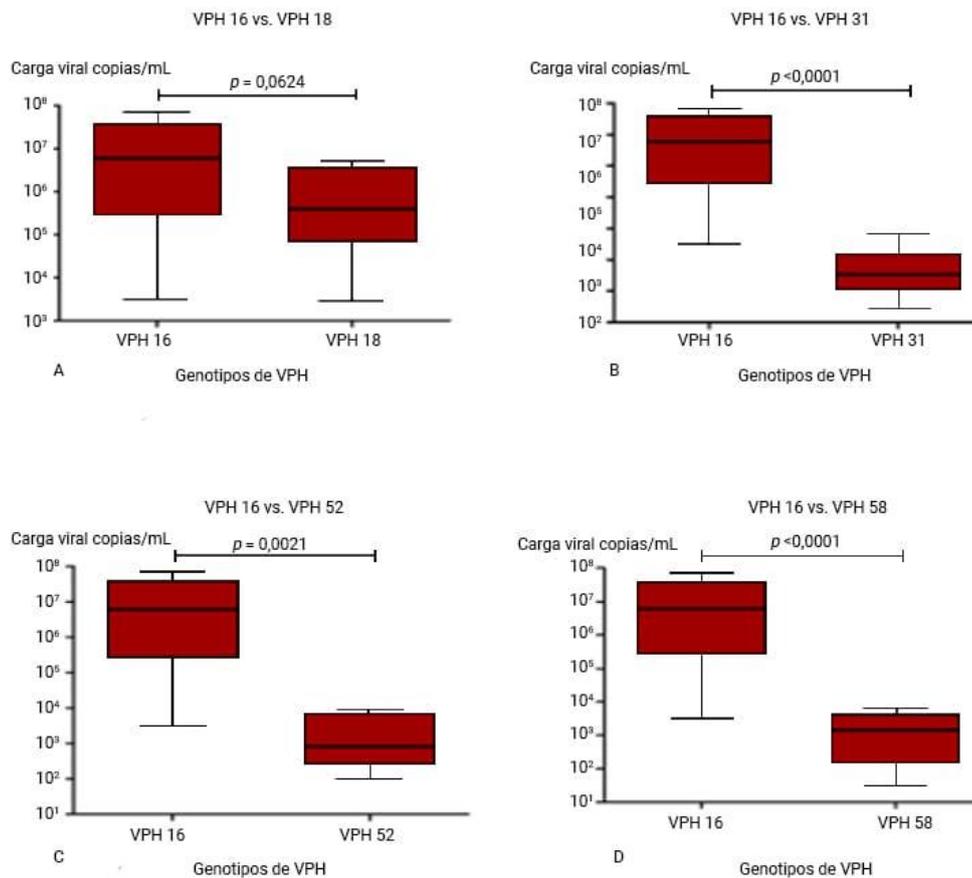


Leyenda: VPH: virus del papiloma humano.

Nota al pie: Se observan diferencias significativas ($p < 0,0001$) entre las medianas de las cargas virales de los diferentes genotipos identificados, de acuerdo con la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis, con un valor de 41,26 para dicho estadígrafo y un nivel de significación del 95 %.

Fuente: Elaboración propia.

Fig. 3 – Valores de carga viral de los genotipos del virus del papiloma humano de alto riesgo oncogénico detectados en mujeres que asisten a consulta de patología de cuello uterino en dos instituciones de la provincia de Camagüey (enero 2019-diciembre 2022).



Legenda: VPH: virus del papiloma humano; vs.: *versus*.

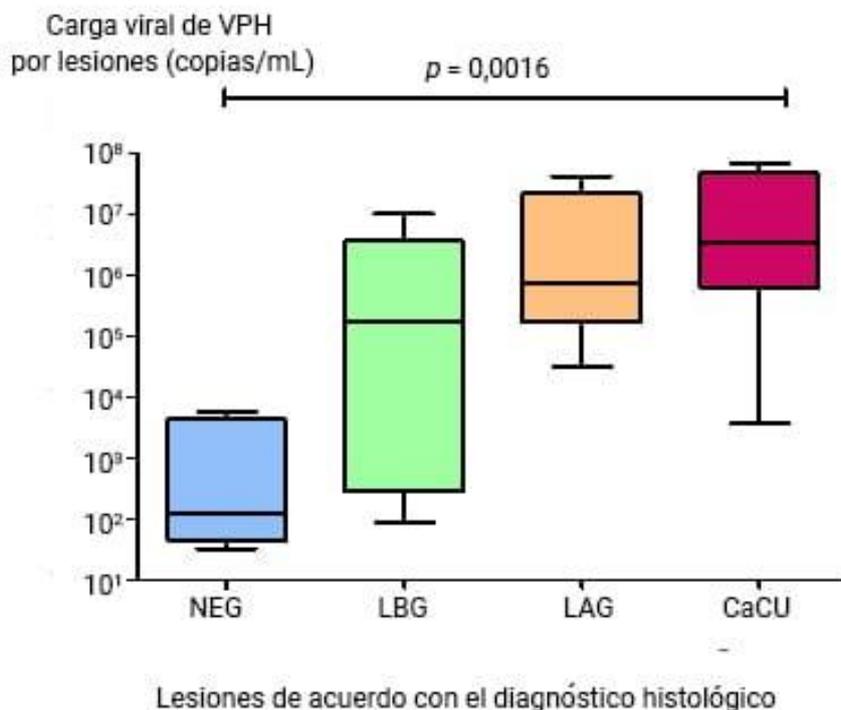
Nota al pie: Los datos se corresponden con la prueba no paramétrica de Mann-Whitney y un nivel de significación del 95 %.

A) No se observan diferencias significativas ($p = 0,0624$) entre las medianas de las cargas virales de los VPH 16 y 18, estadígrafo U = 50,00. Se encontraron diferencias significativas entre las medianas de las cargas virales de VPH 16 y los otros VPH-AR, identificados en las muestras clínicas. B) VPH 16 *versus* VPH 31, $p < 0,0001$ estadígrafo U = 3,000. C) VPH 16 *versus* VPH 52, $p = 0,0021$ estadígrafo U = 3,000. D) VPH 16 *versus* VPH 58, $p < 0,0001$ estadígrafo U = 4,000.

Fuente: Elaboración propia.

Fig. 4 – Comparación entre los valores de carga viral del virus del papiloma humano de alto riesgo oncogénico tipo 16 (VPH 16) y otros genotipos oncogénicos de VPH, detectados en mujeres que asisten a consulta de patología de cuello uterino en dos instituciones de la provincia de Camagüey (enero 2019-diciembre 2022).

Al evaluar las diferencias entre las cargas virales, de acuerdo con los tipos de lesiones identificadas por el diagnóstico histológico se obtuvieron diferencias significativas ($p = 0,0016$). Los valores de las cargas virales se incrementaron con el grado de las lesiones, de manera que fueron superiores en los casos diagnosticados con CaCU (fig. 5).



Leyenda: NEG: negativas para células neoplásicas; LBG: lesiones de bajo grado que incluyen hallazgos de infección con VPH y neoplasia intraepitelial cervical de grado 1 (NIC 1); LAG: lesiones de alto grado que incluyen las neoplasias intraepiteliales cervicales de grado 2 (NIC 2) y neoplasias intraepiteliales cervicales de grado 3 (NIC 3); CaCU: carcinomas *in situ* y carcinomas infiltrantes de cuello uterino.

Nota al pie: Los datos se corresponden con el resultado del diagnóstico histológico, según la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis, con un valor de 41,26 para dicho estadígrafo y un nivel de significación del 95 %.

Fuente: Elaboración propia.

Fig. 5 – Comparación entre los valores de carga viral del virus del papiloma humano de alto riesgo oncogénico, detectados en mujeres que asisten a consulta de patología de cuello uterino en dos instituciones de la provincia de Camagüey (enero 2019-diciembre 2022).

Discusión

En la presente investigación se estudiaron 78 muestras con lesiones de cuello uterino, obtenidas de pacientes atendidas en consultas de patología de cuello en la provincia de Camagüey. A pesar de que la mayor parte de las pacientes incluidas en el estudio llegaron a dichas consultas por remisión del área de salud y tenían

resultados de citologías cervicovaginales con lesiones de alto grado, el 14,1 % tuvo un resultado negativo en la biopsia confirmatoria y en el 39,7 % se identificaron lesiones de bajo grado. Este aspecto evidencia las limitaciones fundamentales de la citología cervicovaginal, como son: la pobre reproducibilidad y la baja sensibilidad, no mayor del 70 % en el mejor de los escenarios.⁽²²⁾ Sin embargo, a pesar de sus limitaciones esta prueba ha tenido una contribución importante en la detección precoz y en la disminución de la incidencia y mortalidad por CaCU en muchos países.⁽²³⁾

No obstante, los mejores resultados en la detección precoz del CaCU se obtienen al incluir en la pesquisa los estudios moleculares para la detección de VPH-AR, particularmente la PCR-TR. Estos son métodos más sensibles y específicos que permiten detectar la presencia del ADN viral, identificar el genotipo viral, así como determinar el estado de integración del genoma del virus al de la célula hospedera y la carga viral.⁽²⁴⁾

En Cuba se han realizado varios estudios moleculares para la detección del VPH en mujeres con lesiones precursoras y CaCU. Uno de los trabajos publicados, que aplicó el PCR a punto final y genotipado con cebadores específicos para 20 tipos virales, incluyó 45 pacientes; 44 pacientes de La Habana y una paciente de provincia de Las Tunas. En dicho trabajo, Ríos y otros, en 2010, detectaron los VPH-AR 16, 18, 31, 39, 45, 51, y el más frecuente fue el genotipo 16 (63,41 %), superior a la media mundial en ese año.⁽²⁵⁾ Esos resultados coinciden con los obtenidos en el presente trabajo, donde el VPH 16 fue el más frecuente (67,9 %), aunque también se detectaron los VPH-AR 31, 58, 18, 52 y 33.

El sistema de PCR-TR empleado en la presente investigación solo incluye los siete genotipos de VPH-AR de mayor relevancia clínica en la etiología del CaCU (VPH 16, 18, 31, 33, 45, 52 y 58);⁽¹⁷⁾ por lo tanto, no se puede descartar la presencia de otros genotipos menos frecuentes en algunas de las muestras de las pacientes estudiadas. Sin embargo, el VPH 45 incluido en la técnica utilizada no se identificó en ningún caso. Dicho genotipo se ha detectado en otros estudios realizados en la población cubana, aunque con una frecuencia baja. Entre esos, Soto y otros en el año 1998 identificaron los VPH-AR 16, 18, 31 y 33 en pacientes atendidas en la

consulta de patología de cuello del Hospital Ginecobstétrico “Eusebio Hernández” de La Habana.⁽²⁶⁾ En el año 2014 se publicó otro estudio por Soto y otros con 322 mujeres de La Habana mayores de 30 años, atendidas en consultas de patología de cuello. Los genotipos más frecuentes fueron VPH 16, 18, 31, 58, 33 y 45, en ese orden; el VPH 16 se detectó en el 61,8 % de los casos.⁽²⁷⁾ Como se evidencia en dichos estudios, el VPH 16 predomina en mujeres con patología de cuello, residentes de La Habana. En la presente investigación también el VPH-AR 16 predominó, pero no el VPH 18, pues los otros dos genotipos más prevalentes fueron el 31 y el 58.

Se obtuvieron resultados similares en un estudio desarrollado en el año 2016 por Soto y otros, el cual incluyó 519 mujeres que asistieron a la realización de la prueba citológica de rutina en cuatro municipios de La Habana (La Lisa, Marianao, Playa y Plaza). Se confirmó la presencia de los genotipos VPH-AR 16, 18, 31, 35, 52 y 58. Los más frecuentes nuevamente fueron los genotipos VPH-AR 16, 31 y 18, en ese orden.⁽²⁸⁾

En el estudio más reciente publicado por el grupo de Soto y otros en el año 2020, donde se incluyeron 500 mujeres de La Habana, Villa Clara y Holguín, se identificaron 16 genotipos de VPH-AR (16, 18, 31, 33, 35, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68, 70, 82, 85); el más frecuente fue el VPH 16, seguido en orden de frecuencia, por los genotipos de VPH-AR 31, 33, 53, 61 y 66. Aunque el VPH 16 también fue el más frecuente en dicho estudio, se detectó solo en el 23 % de las mujeres, frecuencia notablemente inferior a la obtenida en el presente trabajo. Esta diferencia se justifica por el hecho de que las mujeres incluidas en el estudio de 2020 no tenían historia anterior de citologías positivas, ni lesiones cervicales. Con respecto al genotipado, fue mucho más amplio, ya que se realizó mediante la técnica de microarreglos para 35 tipos virales; por lo que pudieron detectar genotipos de alto riesgo no detectados con anterioridad en el país.⁽¹¹⁾

Existe muy poca información acerca de los VPH circulantes en mujeres de Camagüey, asociados al CaCU. En el año 2016 se publicó un artículo en el cual se estudiaron 22 pacientes con esta neoplasia e identificaron los genotipos de VPH-AR 16 y 31, mediante la secuenciación nucleotídica.⁽¹²⁾ En esa ocasión no se

descartó la existencia de otros genotipos menos frecuentes en las mujeres camagüeyanas con CaCU, lo cual motivó el desarrollo del presente estudio con una mayor cantidad de pacientes que asisten a consultas de patología de cuello uterino en la provincia.

La presente investigación incluyó un número mayor de pacientes y se detectaron nuevamente los genotipos VPH-AR 16 y 31; sin embargo, por primera vez se identifican cuatro genotipos más (VPH-AR 18, 33, 52 y 58), lo que evidencia la baja frecuencia del VPH 18 y demuestra la presencia de los VPH 33, 52 y 58, que pudieran ser los que reemplazarían a los VPH 16 y 18, en caso de incluir en el Programa Nacional de Inmunización una vacuna bivalente contra estos dos genotipos.

El valor de la carga viral de los VPH-AR se reconoce como un marcador de severidad y progresión neoplásica. El incremento de la carga viral de los VPH-AR se asocia con una mayor severidad de las lesiones y un riesgo incrementado de progresión al CaCU.⁽²⁹⁾ En la presente investigación se obtuvieron valores de carga viral significativamente superiores para las mujeres infectadas con VPH 16 y en las tenían lesiones de alto grado, siendo particularmente superiores en las que tenían diagnóstico de CaCU. Estos hallazgos refuerzan el papel del VPH 16 en la etiología del CaCU en las pacientes estudiadas, teniendo en cuenta, además, la presencia del VPH 18, que aunque se detectó en frecuencia bastante baja, no mostró diferencias estadísticas en los valores de carga viral con respecto al genotipo 16.

Este tipo de ensayo molecular cuantitativo por PCR-TR, además de garantizar el genotipado, permite la cuantificación relativa de la carga viral, por lo que se emplea actualmente como un marcador diagnóstico para la evaluación clínica. La asociación entre la presencia de genotipos de alto potencial oncogénico, como VPH 16 y 18, y la cuantificación de la carga viral, constituyen herramientas valiosas para el monitoreo de la progresión de la enfermedad, así como para definir conductas, tratamientos y el seguimiento de las pacientes con LAG y CaCU.⁽²⁹⁾

En los últimos años los datos indican un ligero incremento de la mortalidad por CaCU en Cuba, lo cual señala la necesidad de perfeccionamiento en la pesquisa para la detección precoz de esta enfermedad, que debe incluir la detección

molecular de los VPH-AR circulantes en la población. Además, se evidencia la necesidad de la introducción de una vacuna profiláctica contra los VPH-AR más frecuentes, en función de lograr la reducción sustancial del CaCU.

Los resultados obtenidos en el presente trabajo tienen como principal limitación el número pequeño de mujeres estudiadas, ya que el estudio incluyó pacientes atendidas en las únicas dos instituciones de la provincia de Camagüey que tienen servicio especializado de patología de cuello uterino. No siempre se confirmaron los casos mediante histología, por problemas logísticos; por lo que solo se incluyeron pacientes con diagnóstico histológico realizado. Sin embargo, la presente investigación aporta datos novedosos sobre la epidemiología molecular del VPH en la provincia de Camagüey y refuerza la necesidad de los estudios moleculares en la estrategia nacional para la prevención y control del CaCU. Además, contribuye a evaluar la eficacia de las vacunas contra VPH que puedan emplearse en un futuro en la población cubana.

Agradecimientos

Los autores desean agradecer a la Lic. en Enfermería Adelaida Pérez Brígido, a la Dra. Mabel Reymond Hernández, al Hospital Provincial Docente Ginecobstétrico Ana Betancourt de Mora de Camagüey, Cuba.

Referencias bibliográficas

1. zur Hausen H. Papillomaviruses in the causation of human cancers –a brief historical account. *Virology*. 2009 [acceso 26/12/2021];384(2):260-5. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0042682208007721>
2. Forman D, de Martel C, Lacey CJ, Soerjomataram I, Lortet-Tieulent J, Bruni L, *et al*. Global burden of human papillomavirus and related diseases. *Vaccine*. 2019

[acceso 26/12/2021];30(Suppl 5):F12-23. Disponible en:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0264410X12010808>

3. de Villiers EM. Cross-roads in the classification of papillomaviruses. *Virology*. 2013 [acceso 26/12/2021];445(1-2):2-10. Disponible en:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0042682213002456?via%3DiHub>

4. Paz-Zulueta M, Álvarez-Paredes L, Rodríguez Díaz JC, Paras-Bravo P, Andrada Becerra ME, Rodríguez Ingelmo JM, *et al*. Prevalence of high-risk HPV genotypes, categorized by their quadrivalent and nine-valent HPV vaccination coverage, and the genotype association with high-grade lesions. *BMC Cáncer*. 2018 [acceso 27/12/2021];18(1):112. Disponible en:
<https://bmccancer.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12885-018-4033-2>

5. Organización Mundial de la Salud, actualizado 20 Ene 2022 [acceso 01/06/2022]. Cáncer cervicouterino. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/factsheets/detail/cervical-cancer>

6. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, *et al*. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cáncer J Clin*. 2021 [acceso 02/06/2022];71(3):209-49. Disponible en:
<https://www.acsjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.3322/caac.21660>

7. International Agency for Research on Cancer. World Health Organization. World, Globocan 2020. Number of new cases in 2020, both sexes, all ages. 2021 [acceso 02/06/2022]. Disponible en:
<https://www.gco.iarc.fr/today/data/factsheets/populations/900-world-factsheets.pdf>

8. Anuario Estadístico de Salud 2018. La Habana: Dirección Nacional de Registros Médicos y Estadísticas de Salud y el Centro Nacional de Información de Ciencias Médicas. Casos positivos de cáncer cérvico-uterino en mujeres examinadas por el programa según etapa clínica. 1990, 2000-2018; 2018 [acceso 03/06/2022].

Disponible en: [https://files.sld.cu/bvscuba/files/2019/04/Anuario-Electr%
c3%b3nico-Espa%
c3%b1ol-2018-ed-2019-compressed.pdf](https://files.sld.cu/bvscuba/files/2019/04/Anuario-Electr%c3%b3nico-Espa%c3%b1ol-2018-ed-2019-compressed.pdf)

9. International Agency for Research on Cancer. World Health Organization. Cuba, Globocan 2020. Number of new cases in 2020, both sexes, all ages. 2021 [acceso 04/06/2022]. Disponible en:

<https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/populations/192-cuba-fact-sheets.pdf>

10. Molet L, Girlich D, Bonnin RA, Proust A, Bouligand J, Bachelerie F, *et al.* Identification by high-throughput sequencing of HPV variants and quasispecies that are untypeable by linear reverse blotting assay in cervical specimens. Papillomavirus research (Amsterdam, Netherlands). 2019 [acceso 08/07/2022];8:100169. Disponible en:

<https://www.mdpi.com/2076-2607/9/4/729/htm>

11. Guilarte-García E, Soto-Brito Y, Kourí-Cardellá V, Limia-León CM, Sánchez-Álvarez ML, Rodríguez-Díaz AE, *et al.* Circulation of Human Papillomavirus and *Chlamydia trachomatis* in Cuban Women. MEDICC Review. 2020 [acceso 08/07/2022];22(1):17-27. Disponible en:

<https://mediccreview.org/wp-content/uploads/2020/02/MR-January2020-Guilarte-Circulation-Human-Papillomavirus.pdf>

12. Piña Napal JC, Crespo Campos G, Fando Calzado R, Casanova Corona G, Curbelo Toledo M, Guerra Rodríguez MM. Identificación molecular de genotipos de papilomavirus humanos en pacientes con cáncer de cuello uterino. Arch Med Camaguey. 2016 [acceso 17/07/2022];20(3): 288-298. Disponible en:

<https://revistaamc.sld.cu/index.php/amc/article/view/4324/2426>

13. Spitalnik PF. Histology laboratory manual 2016–2017. College of Physicians and Surgeons: New York: Columbia University. 2016 [acceso 17/07/2022].

Disponible en: <https://www.studocu.com/hu/document/pecsi-tudományegyetem/organizational-behavior/histology-lab-manual/1422448>

14. Richart RM. Screening. The next century. Cáncer. 1995 [acceso 17/07/2022];76(10 Suppl):1919-27. Disponible en:

<https://acsjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1002/1097->

[0142%2819951115%2976%3A10%2B%3C1919%3A%3AAID-CNCR2820761308%3E3.0.CO%3B2-9](https://doi.org/10.2526/revista.2024.76.e1130)

15. Nayar R, Wilbur DC. The Bethesda System for Reporting Cervical Cytology. [acceso 17/07/2022]. Disponible en: <https://www.morawa.at/annot/564C42696D677C7C393738333331393131303734357C7C504446.pdf?sq=2>

16. QIAamp® DNA Mini and Blood Mini Handbook. [acceso 17/07/2022]. Disponible en: <https://www.qiagen.com/ie/listpages/ez1-cards/qiaamp-dna-mini-kit/>

17. Joura EA, Ault KA, Bosch FX, Brown D, Cuzick J, Ferris D, *et al.* Attribution of 12 high-risk human papillomavirus genotypes to infection and cervical disease. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2014 [acceso 08/09/2022];23(10):1997-2008. Disponible en: <https://cebp.aacrjournals.org/content/cebp/23/10/1997.full.pdf>

18. Schmitz M, Scheungraber C, Herrmann J, Teller K, Gajda M, Runnebaum IB, *et al.* Quantitative multiplex PCR assay for the detection of the seven clinically most relevant high-risk HPV types. *J Clin Virol.* 2009 [acceso 15/09/2022];44(4):302-7. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1386653209000389?via%3Dihub>

19. Soto Y, Kourí V, Martínez PA, Correa C, Torres G, Goicolea A, *et al.* Standardization of a real-time based polymerase chain reaction system for the quantification of human papillomavirus of high oncogenic risk. *Vaccimonitor.* 2012 [acceso 15/09/2022];21(1):30-7. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/vac/v21n1/vac07112.pdf>

20. World Medical Association. Declaration of Helsinki: ethical principles for medical research involving human subjects. *JAMA.* 2018 [acceso 15/09/2022];310(20):2191-94. Disponible en: <https://jamanetwork.com/journals/jama/fullarticle/1760318?applied=scweb>

21. Van Delden J, Van der Graaf R. Revised CIOMS International Ethical Guidelines for Health-Related Research Involving Humans. *JAMA.* 2016 [acceso

15/09/2022];317(2):135-6. Disponible en:

<https://jamanetwork.com/journals/jama/article-abstract/2592245>

22. Nicole G, Campos PE, Castle TC, Wright Jr, Kim JJ. Cervical Cancer Screening in Low-Resource Settings: A cost-Effectiveness Framework for Valuing Tradeoffs between Test Performance and Program Coverage. *Int J Cancer*. 2015 nov [acceso 15/09/2022];137(9):2208-19. Disponible en:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4910518/pdf/nihms790431.pdf>

23. Gervais F, Yiling Jiang KD, LARGERON N. Systematic review of cost-effectiveness analyses for combinations of prevention strategies against human papillomavirus (HPV) infection: a general trend. *BMC Public Health*. 2017 [acceso 16/09/2022];17:283. Disponible en:

https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5371248/pdf/12889_2017_Article_4076.pdf

24. Teixeira JC, Vale DB, Discacciati MG, Campos CS, Bragança JF, Zeferino LC. Cervical Cancer Screening with DNA-HPV Testing and Precancerous Lesions Detection: A Brazilian Population-based Demonstration Study. *Rev Bras Ginecol Obstet*. 2023 [acceso 16/09/2022];45(1):21-30. Disponible en:

<https://www.scielo.br/j/rbgo/a/gdPL6vMf6rM8FJWGs784mzf/?format=pdf&lang=en>

25. Ríos Hernández MA, Hernández Menéndez M, Aguilar Vela de Oro FO, Silveira Pablos M. Tipos de papilomavirus humanos más frecuentes en muestras cubanas de cáncer cervical. *Rev Cubana Obstet Ginecol*. 2010 [acceso 05/10/2022];36(2):104-11. Disponible en:

<http://scielo.sld.cu/pdf/gin/v36n2/gin09210.pdf>

26. Soto Y, Muné M, Goicolea A, Morales E, Santoyo JM, Valdés O, *et al*. Aplicación de la técnica de reacción en cadena de la polimerasa para la detección de secuencias de Papillomavirus humano. *Rev Cubana Med Trop*. 1998 [acceso 05/10/2022];50(3):191-8. Disponible en:

<http://scielo.sld.cu/pdf/mtr/v50n3/mtr04398.pdf>

27. Soto Y, Torres G, Kouri V, Limia CM, Goicolea A, Capo V, *et al.* Molecular Epidemiology of Human Papillomavirus Infections in Cervical Samples From Cuban Women Older Than 30 Years. *J Low Genit Tract Dis.* 2014 [acceso 05/10/2022];18(3):210-17. Disponible en: https://journals.lww.com/jlgttd/Abstract/2014/07000/Molecular_Epidemiology_of_Human_Papillomavirus.2.aspx
28. Soto Y, Limia CM, Kouri V, Goicolea A, Capo de Paz V, Mune M. Papilomavirus humanos y otros factores asociados al desarrollo de lesiones cervicouterinas en mujeres cubanas. *Panorama Cuba y Salud* 2016 [acceso 02/12/2022];11(1):24-33. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/4773/477355397005.pdf>
29. Zhou Y, Shi X, Liu J, Zhang L. Correlation between human papillomavirus viral load and cervical lesions classification: A review of current research. *Frontiers in medicine.* 2023 [acceso 02/12/2022];10:1111269. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9988912/pdf/fmed-10-1111269.pdf>

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no tienen conflicto de intereses.

Contribuciones de los autores

Conceptualización: Juan Carlos Piña Napal, Yudira Soto Brito.

Curación de datos: Juan Carlos Piña Napal, Yudira Soto Brito, Reguald Tamayo Castro, Gustavo Crespo Campos, Adriel Mederos Matos, Celeste Ramírez Cardentey.

Análisis formal: Juan Carlos Piña Napal, Yudira Soto Brito, Reguald Tamayo Castro, Gustavo Crespo Campos, Adriel Mederos Matos, Celeste Ramirez Cardentey.

Supervisión: Yudira Soto Brito, Reguald Tamayo Castro.

Visualización: Celeste Ramírez Cardentey.

Recursos: Reguald Tamayo Castro, Gustavo Crespo Campos

Investigación: Juan Carlos Piña Napal, Yudira Soto Brito, Reguald Tamayo Castro, Gustavo Crespo Campos, Adriel Mederos Matos. Celeste Ramírez Cardentey.

Metodología: Juan Carlos Piña Napal, Yudira Soto Brito.

Redacción – borrador original: Juan Carlos Piña Napal, Yudira Soto Brito

Redacción – revisión y edición: Juan Carlos Piña Napal, Yudira Soto Brito

Financiación

Ministerio de Salud Pública de Cuba.